



## ***Azospirillum brasilense* associado a adubação nitrogenada em pastos de *Urochloa humidicola* cultivada na savana amazônica**

*Azospirillum brasilense* associated with nitrogen fertilization in *Urochloa humidicola* pastures cultivated in the Amazonian savanna

José Wilker Leal Castro<sup>1</sup> , Jalison Lopes<sup>2</sup> , Eduardo Medeiros Severo<sup>3</sup> , Vicente Batista de Souza Júnior<sup>1</sup> , João Luiz Lopes Monteiro Neto<sup>2</sup> , Naiara Caixeta da Silva<sup>1</sup> , Wilton Ladeira da Silva\*<sup>1</sup> 

1 Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil 

2 Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, Roraima, Brasil 

3 Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil 

\*autor correspondente: wiltonladeira@ufg.br

Recebido: 08 de novembro de 2024. Aceito: 22 de julho de 2025. Publicado: 13 de agosto de 2025. Editor: Rondineli P. Barbero

**Resumo:** O objetivo com este estudo foi avaliar os efeitos do *Azospirillum brasilense* associado ao uso da adubação nitrogenada sobre as variáveis estruturais, morfogênicas, produtivas e químicas de *Urochloa humidicola* cultivada na savana Amazônica. Os tratamentos foram constituídos de cinco doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>) associadas a inoculação ou não de *Azospirillum brasilense*, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições. Foram avaliadas as composições morfológicas dos pastos, as características morfogenéticas e estruturais, e a composição química da forragem. O uso de *Azospirillum brasilense*, isolado ou em associação com a adubação nitrogenada, não foi determinante para o aumento de rendimento de produção da pastagem. No entanto, a adubação nitrogenada proporcionou ganhos lineares em produção, principalmente no aumento dos componentes folha e colmo, e redução na proporção de material morto nos pastos, bem como aumentou linearmente as proporções de FDN, FDA e PB da forragem. O uso de *A. brasilense* não altera a produção e a composição química da forragem, enquanto a adubação nitrogenada favorece o manejo de pastos com *U. humidicola* cultivados em solo da savana Amazônica.

**Palavras-chave:** Quicuio-da-Amazônia; braquiária; bactéria diazotrófica; morfogênese; pastagens tropicais.

**Abstract:** The objective of this study was to assess the impact of *Azospirillum brasilense* in conjunction with nitrogen fertilization on structural, morphogenetic, yield-related, and chemical characteristics of *Urochloa humidicola* cultivated in the Amazon savannah. Treatments consisted of five nitrogen application rates (0, 50, 100, 150, and 200 kg ha<sup>-1</sup>), both with and without *A. brasilense* inoculation. The experiment was laid out in a completely randomized design with a 5x2 factorial arrangement, including four replications. The morphological composition of the pastures, morphogenetic and structural characteristics and chemical composition of the forage were evaluated. The utilization of *A. brasilense*, either alone or combined with nitrogen fertilization, did not influence the enhancement of forage yield. However, nitrogen fertilisation led to consistent increases in production, primarily through an increase in leaf and culm components and a reduction in the proportion of dead material in pastures. It also led to a linear increase in the proportions



of NDF, ADF and CP in the forage. The use of *A. brasiliense* does not alter the production and chemical composition of the forage, while nitrogen fertilization favors the management of pastures with *U. humidicola* grown in Amazonian savanna soil.

**Key-words:** Amazonian quicuio grass; Brachiaria; diazotrophic bacteria; morphogenesis; tropical pastures.

## 1. Introdução

A expansão da pecuária na savana amazônica é uma tendência crescente, no entanto, a abordagem predominante continua sendo o pastejo extensivo em pastagens nativas, o que leva a um crescimento animal abaixo do ótimo, redução nos índices de produção e degradação do solo<sup>(1)</sup>. Dentre as diversas espécies forrageiras que se desenvolvem na Amazônia, a *Urochloa humidicola* destaca-se por sua notável adaptabilidade a inundações temporárias, períodos prolongados de seca e solos ácidos com baixa fertilidade natural<sup>(2)</sup>. Essas características edafoclimáticas estão alinhadas às condições das vastas áreas de savana predominantes na região amazônica. Nos últimos anos, estudos têm apresentado resultados promissores com a introdução de culturas agrícolas nesses ambientes<sup>(3, 4, 5)</sup>. Entretanto, a pesquisa voltada ao manejo de pastagens cultivadas nessas regiões ainda é limitada.

No contexto do manejo de pastagens, o aumento da fertilidade do solo é o aspecto mais relevante, pois a produtividade e o desempenho estrutural das plantas no campo, assim como o potencial de degradação do solo causado pelo pastejo, dependem significativamente dessa variável<sup>(6)</sup>. Nesse cenário, a adubação nitrogenada é a prática que exerce o impacto mais pronunciado sobre a produção de forragem, melhorando os atributos estruturais, morfogenéticos, produtivos e químicos das plantas<sup>(7, 8)</sup>, os quais são influenciados pela multifuncionalidade fisiológica desse nutriente<sup>(9)</sup>.

O uso de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) tem ganhado destaque devido à sua eficácia em diferentes tipos de pastagens. Dado o custo elevado da produção de pastagens na região da savana amazônica, há uma busca crescente por alternativas que reduzam a dependência de fertilizantes específicos<sup>(10, 11)</sup>. No entanto, fatores como temperaturas elevadas — acima de 35°C, por exemplo, em estudos com leguminosas<sup>(12)</sup> —, baixa umidade do solo em determinadas épocas do ano e valores baixos de pH do solo — abaixo de 5,0, conforme observado em ensaios com leguminosas<sup>(13)</sup> —, bem como a disponibilidade de outros nutrientes, podem afetar negativamente a atividade das bactérias fixadoras de nitrogênio e a formação de nódulos radiculares. Assim, considerando as condições edafoclimáticas da savana amazônica, torna-se essencial analisar como esses fatores influenciam o desempenho das BFN associadas às gramíneas, já que a maioria dos estudos existentes se concentram principalmente nas associações com leguminosas.

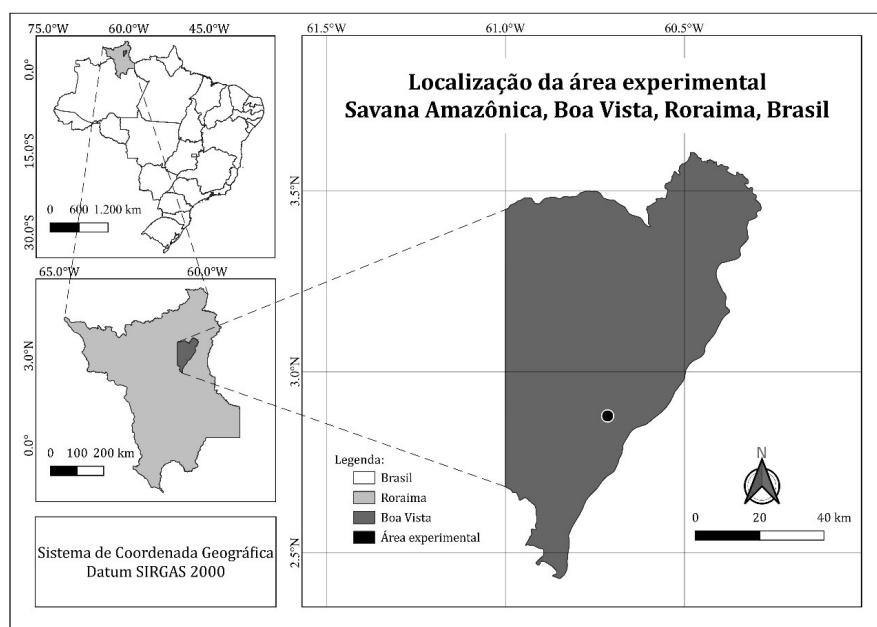
Entre as BFN reconhecidas, destacam-se aquelas do gênero *Azospirillum*, devido à sua contribuição na produção de fitormônios e enzimas solubilizadoras de fosfato. Além disso, essas bactérias reduzem a necessidade de nitrogênio ao potencializar seus efeitos e melhoria da resiliência das plantas a estresses bióticos e abióticos<sup>(10, 14)</sup>. É importante destacar, no entanto, que podem ocorrer interações negativas entre a adubação nitrogenada e as BFN, especialmente quando altas concentrações de nitrogênio são aplicadas ao solo. Isso pode suprimir a atividade da enzima nitrogenase, essencial para a fixação biológica do nitrogênio, reduzindo assim a formação de nódulos radiculares. Esse fenômeno ocorre porque as plantas, ao receberem nitrogênio via fertilizantes, diminuem sua necessidade de estabelecer relações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio, reduzindo a produção de sinais químicos que atraem os rizóbios<sup>(15)</sup>.

Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o impacto da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum brasiliense* em pastagens de *U. humidicola* cultivadas na savana amazônica.

## 2. Material e métodos

### 2.1 Local experimental e dados climáticos

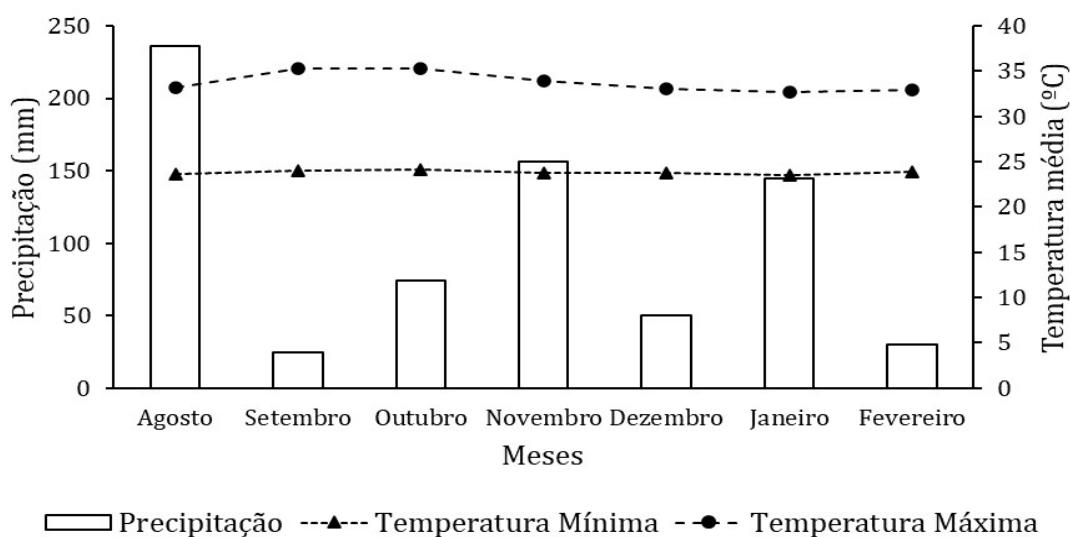
A pesquisa foi conduzida na porção central da savana amazônica, no município de Boa Vista, Roraima, Brasil ( $2^{\circ}52'15.49''N$  e  $60^{\circ}42'39.89''O$ , a 90 m de altitude), no período de agosto de 2020 a fevereiro de 2021 (Figura 1).



**Figura 1.** Área do estudo no estado de Roraima, norte da Amazônia brasileira.

A savana amazônica é caracterizada por uma paisagem predominantemente plana a suavemente ondulada, com vegetação de savana gramínea-lenhosa<sup>(5)</sup>. As espécies arbóreas predominantes na área são o caimbé (*Curatella americana* L.), o murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.), a paricarana (*Bowdichia virgiliooides* Kunth), a sucuba (*Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood) e o buriti (*Mauritia flexuosa* L.)<sup>(16)</sup>.

Climaticamente a região enquadra-se na classificação Aw de Köppen, com estação chuvosa de abril a setembro e estação seca de outubro a março. A precipitação média anual é de 1.657 mm<sup>(17)</sup>. As informações sobre precipitação, temperaturas máximas e mínimas estão apresentadas na Figura 2. Os dados foram obtidos manualmente a partir de uma estação meteorológica instalada no local.



**Figura 2.** Precipitação total (mm) e temperatura média máxima e mínima diária (°C) em cada mês do período do estudo (agosto a fevereiro de 2020) na savana amazônica, Boa Vista, Roraima, Brasil.

O solo é classificado como Latossolo Amarelo distrófico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos<sup>(18)</sup>, ou Xanthic Haplustox de acordo com a Soil Taxonomy<sup>(19)</sup>. As características físico-químicas na camada de 0-20 cm estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas do solo da área experimental.

pH	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	K	P	V	Argila	Silte	Areia
				cmolc dm <sup>-3</sup>			mg dm <sup>-3</sup>			%	
4.40	0.48	0.12	0.56	4.00	4.66	0.06	2.4	14	21	5	74

pH: CaCl<sub>2</sub>; cálcio (Ca); magnésio (Mg); alumínio (Al); hidrogênio mais alumínio (H+Al); capacidade de troca catiônica (CTC); potássio (K); fósforo (P: extração por Mehlich<sup>1</sup>); saturação por bases (V).

## 2.2 Tratamentos e delineamento experimental

A área de estudo consistiu em uma pastagem de *U. humidicola* cv. Comum que havia sido estabelecida cinco anos antes. A pastagem foi dividida em 40 unidades experimentais de 12 m<sup>2</sup> cada. O manejo envolveu o corte da pastagem quando as parcelas atingiam altura de 20 cm, com toda a parcela sendo cortada, e deixando uma altura de resíduo de 10 cm. Após um período de sete meses de coleta de dados, o período de rebrotaç $\mathbf{\acute{o}}$  (PR) e o número total de cortes (NC) em cada parcela foram calculados.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, organizado em um arranjo fatorial 2×5 com quatro repetições. O primeiro fator abrangeu dois níveis de inoculação (com e sem inoculante), enquanto o segundo fator compreendeu cinco doses de nitrogênio (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>). Esses tratamentos foram aplicados à pastagem de *U. humidicola* cv. Comum. O inoculante líquido (Azototal<sup>®</sup>) utilizado continha uma cultura pura de *A. brasiliense* (cepas AbV5 e AbV6), incluindo água (solvente/suporte), extrato de levedura, cloreto de amônio (fonte de nitrogênio e vitaminas), glicerol e ácido málico (fontes de carbono), fosfato de potássio, sulfato de magnésio, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, EDTA férreo, sulfato de cobre, sulfato de zinco, ácido bórico, molibdato de sódio e sulfato de manganês como fontes minerais.

O inoculante foi administrado conforme recomendado pelo fabricante (Biotrop) para aplicação em pastagens já estabelecidas. A dosagem de Azototal utilizada foi equivalente a 300 mL/ha, aplicada com um pulverizador manual, sendo o produto pulverizado diretamente sobre as lâminas foliares. A aplicação foi realizada após o corte inicial para padronizar as condições das plantas no início do experimento.

As doses de nitrogênio foram aplicadas usando ureia como fonte, distribuídas em aplicações divididas para minimizar as perdas de nutrientes. Especificamente, 50 kg ha<sup>-1</sup> de N foram aplicados a cada 15 dias, começando em julho. Assim, as taxas de 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup> foram divididas em uma, duas, três e quatro aplicações, respectivamente. Como resultado, todos os tratamentos receberam doses pré-estabelecidas e as avaliações começaram somente após a aplicação final em agosto.

Para aumentar a saturação de base para 50 %, foi realizada a calagem, aplicando-se 2,01 t ha<sup>-1</sup> de calcário na superfície sem revolvimento do solo, conforme determinado pelo método de saturação de base. A fertilização com fósforo e potássio foi realizada devido à baixa disponibilidade no solo. A fertilização com potássio envolveu 50 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (usando cloreto de potássio), enquanto a fertilização com fosfato utilizou 30 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (superfosfato triplo), seguindo as recomendações de Werner *et al.*<sup>(20)</sup> para níveis muito baixos de fósforo e potássio no solo e considerando que *U. humidicola* possui baixas necessidades nutricionais.

### 2.3 Avaliações da forragem

As variáveis analisadas foram categorizadas em quatro grupos: variáveis estruturais (NP - número de perfilhos, AP - altura da planta antes da colheita, IAF - índice de área foliar e NFV - número de folhas vivas); variáveis morfogenéticas (TApF - taxa de aparecimento das folhas, TAIF - taxa de alongamento das folhas, FIL - filocrono, TSeF - taxa de senescência das folhas, DVF – duração de vida das folhas e TAIC - taxa de alongamento do colmo); variáveis de produção com base na matéria seca (F - porcentagem de folhas, C - porcentagem de colmos, MM - porcentagem de material morto e AcFd - acúmulo de forragem diário); e variáveis químicas da forragem com base na matéria seca (FDN – fibra em detergente neutro, FDA - fibra em detergente ácido e PB - proteína bruta).

A determinação do NP envolveu a contagem do número total de perfilhos em dois quadrados de 0,25 m<sup>2</sup> posicionados aleatoriamente dentro de cada unidade experimental. A contagem foi realizada a cada corte das parcelas. A AP foi medida usando réguas graduadas em centímetros em 12 pontos por parcela. O IAF foi avaliado usando um analisador de dossel (LAI 2000, LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA) antes do corte. Em cada parcela, foi feita uma leitura acima e cinco leituras na base do dossel, posicionando a barra com o sensor de leitura logo acima do solo, sempre entre 9h e 11h.

As variáveis morfogenéticas e estruturais foram avaliadas selecionando três perfilhos por parcela e avaliando-os duas vezes por semana durante o período de rebrotação pós-corte. Durante essas avaliações, foram feitas medições de vários parâmetros, incluindo o comprimento das lâminas foliares em expansão, totalmente expandidas e senescentes, bem como o comprimento combinado da bainha e do colmo, conhecido como pseudocolmo. A cada corte da parcela, três novos perfilhos foram selecionados em cada unidade experimental para avaliações contínuas. Posteriormente, utilizando essas variáveis iniciais, foram calculadas as seguintes variáveis:

TApF (folhas perfilho<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>): relação entre o total de folhas surgidas no perfilho e o período de rebrotação;

TAIF (cm perfilho<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>): diferença entre o comprimento final e o comprimento inicial das folhas do perfilho dividido pelo número de dias de rebrotação;

FIL (dias folha<sup>-1</sup>): período de rebrotação dividido pelo número total de folhas no perfilho;

TSef (cm perfilho<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>): relação entre o comprimento médio de folhas senescentes por perfilho e o número de dias do período de rebrotação;

DVF (dias): intervalo correspondente da expansão foliar completa até a morte da folha;

TAIC (cm perfilho<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>): relação entre o comprimento do pseudocolmo e o período de rebrotação;

NFV (folhas perfilho<sup>-1</sup>): o número médio de folhas expandidas não senescentes por perfilho.

As variáveis de produção (F, C, MM e AcFd) foram determinadas através da coleta de forragem acima dos 10 cm de resíduo. Da forragem total foram coletadas subamostras de cada parcela, pesadas e separadas em componentes morfológicos de lâmina foliar, colmo + bainhas e material morto. Posteriormente as amostras foram parcialmente secas em estufa a 55°C por 72 horas para determinar seu respectivo conteúdo de amostra seca ao ar e posteriores cálculos.

Para a análise da composição química da forragem, foram coletadas aproximadamente 500 g de amostras de forragem acima dos 10 cm de resíduo. Essas amostras foram então colocadas em estufa a 55 °C por 72 h e depois moídas usando um moinho Wiley equipado com peneira de 1 mm. Os componentes químicos da forragem foram analisados de acordo com as metodologias de Silva e Queiroz <sup>(21)</sup>, sendo avaliados a matéria seca (MS), proteína bruta (PB, MS%), fibra detergente neutra (FDN, MS%) e fibra detergente ácida (FDA, MS%).

#### 2.4 Análise estatística

Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F ( $P<0,05$ ), considerando o delineamento inteiramente casualizado, organizado como um arranjo fatorial 2 (com e sem inoculante - I) x 5 (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de doses de nitrogênio - N) com quatro repetições. Os ciclos de corte foram tratados como medidas repetidas ao longo do tempo e as doses de nitrogênio, inoculante e interações foram consideradas como efeitos fixos. Quando apenas um efeito principal significativo foi verificado para o fator inoculação, as médias foram comparadas pelo teste F ( $P<0,05$ ) e, quando um efeito principal significativo foi observado para N ( $P<0,05$ ), contrastes ortogonais polinomiais foram usados para testar os efeitos lineares, quadráticos, cúbicos e quárticos. Os dados foram analisados usando o procedimento PROC MIXED do software SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2). O modelo matemático proposto foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + (inoculante - I)_i + (doses de nitrogênio - N)_j + (I \times N)_{ij} + \epsilon_{ij} \quad (1)$$

onde  $Y_{ij}$  = é a variável dependente,  $\mu$  é o valor médio geral e  $\epsilon_{ij}$  é o termo do erro associado à unidade experimental.

### 3. Resultados

Não houve interação entre I e N ( $P>0,05$ ) para as variáveis período de rebrotação (PR) e número total de cortes (NC) nas parcelas. Apenas a adubação alterou essas duas variáveis, onde as parcelas obtiveram os seguintes NC e PR (dias) em sete meses, respectivamente: 0 kg N ha<sup>-1</sup> = 3,71 e 57,00; 50 kg N ha<sup>-1</sup> = 4,00 e 51,90; 100 kg N ha<sup>-1</sup> = 4,95 e 42,50; 150 kg N ha<sup>-1</sup> = 5,70 e 36,70; e 200 kg N ha<sup>-1</sup> = 6,27 e 33,50.

Foi observada interação (I×N) ( $P \leq 0,05$ ) apenas para TApF e TAIC (Tabela 2), indicando que o impacto do N dependeu dos níveis de inoculação de *A. brasiliense*. O NFV não foi afetado ( $P > 0,05$ ) pelo uso de inoculante ou doses de N nas condições edafoclimáticas da savana amazônica. Outras variáveis apresentaram respostas significativas ( $P \leq 0,05$ ) apenas às doses de N, sugerindo que a inoculação com *A. brasiliense* sem adubação com N não altera significativamente os aspectos morfológicos ou produtivos em *U. humidicola* cv. Comum cultivada em solo de savana.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância aplicada às variáveis estruturais, morfogenéticas, de produção e composição química da *Urochloa humidicola* cv. Common submetida a *Azospirillum brasiliense* (cepas AbV5 e AbV6) sob inoculação e doses de nitrogênio em solo de savana amazônica.

Variável	Valor de P		
	Inoculante (I)	Dose de N (N)	Interação I×N
Estrutural	NP	0,7968	<0,0001
	AP	0,4172	0,4351
	IAF	0,1171	0,0039
	NFV	0,7537	0,3348
Morfogenética	TApF	0,8402	<0,0001
	TAIF	0,9759	<0,0001
	FIL	0,2999	<0,0001
	TSeF	0,0705	0,0250
	DVF	0,3361	<0,0001
	TAIC	0,3130	0,0007
Produção	F	0,4674	0,0426
	C	0,3412	0,0005
	MM	0,0764	<0,0001
	AcFd	0,2185	<0,0001
Composição química	FDN	0,4986	0,0037
	FDA	0,5689	0,0171
	PB	0,3851	<0,0001

NP – número de perfilhos; AP – altura de planta; IAF – índice de área foliar; NFV – número de folhas vivas; TApF – taxa de aparecimento de folhas; TAIF – taxa de alongamento de folhas; FIL - filocrono; TSeF – taxa de senescência foliar; DVF – duração de vida das folhas; TAIC – taxa de alongamento de colmo; F – porcentagem de folhas; C – porcentagem de colmos; MM – porcentagem de material morto; AcFd – acúmulo de forragem diário; FDN – fibra em detergente neutro; FDA – fibra em detergente ácido; PB – proteína bruta.  $P \leq 0,05$  – efeito significativo.

### 3.1 Variáveis estruturais

O aumento das doses de N afetou forma crescente ( $P \leq 0,05$ ) as variáveis estruturais NP e IAF, e não alterou ( $P > 0,05$ ) as variáveis AP e NFV (Tabela 3). O efeito não significativo sobre a altura da planta (PH) confirma que os cortes foram feitos na altura média recomendada (20 cm).

**Tabela 3.** Efeito das doses de nitrogênio no número de perfilhos (NP), altura da planta (AP), índice de área foliar (IAF) e número de folhas vivas (NFV) de *Urochloa humidicola* cv. Comum em solo de savana amazônica.

Variável	Dose de nitrogênio ( $\text{kg ha}^{-1}$ )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
NP (perfilhos $\text{m}^{-2}$ )	589,66	689,09	774,51	885,17	919,74	21,77	L
AP (cm)	21,21	21,02	21,03	19,36	20,20	0,46	ns
IAF ( $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$ )	3,00	3,10	3,29	3,38	3,83	0,16	L
NFV	6,57	7,05	6,95	6,71	7,21	0,24	ns

EPM – Erro padrão da média; L - Efeito linear; ns – não-significativo.

### 3.2 Variáveis morfogenéticas

Na interação I×N, a TApF apresentou resposta quadrática com o aumento das doses de N na presença do inoculante (Tabela 4). Sem o inoculante, a TApF apresentou comportamento linear positivo. Com 200 kg N ha<sup>-1</sup> as pastagens com inoculante apresentaram TApF mais elevada (0,272 folhas dia<sup>-1</sup>) em comparação com as que não receberam inoculante (0,257 folhas dia<sup>-1</sup>).

**Tabela 4.** Efeito da interação entre a inoculação de *Azospirillum brasiliense* (cepas AbV5 e AbV6) e as doses de nitrogênio na taxa de aparecimento de folhas (TApF) e na taxa de alongamento de colmo (TAIC), e o efeito isolado das doses de nitrogênio na taxa de alongamento das folhas (TAIF), filocrono (FIL), taxa de senescência foliar (TSeF) e na duração de vida das folhas (DVF) de *Urochloa humidicola* cv. Comum em solo de savana amazônica.

TApF (folhas dia <sup>-1</sup> )	Dose de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
Com inoculante	0,158	0,153	0,156	0,189	0,272 a	-	Q
Sem inoculante	0,147	0,156	0,158	0,196	0,257 b	0,0045	L
TAIC (cm dia <sup>-1</sup> )	Dose de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
Com inoculante	0,139 a	0,241 a	0,351 a	0,318 a	0,315 a	-	Q
Sem inoculante	0,175 a	0,264 a	0,294 b	0,242 b	0,171 b	0,017	Q
TAIF (cm dia <sup>-1</sup> ) FIL (dias folha <sup>-1</sup> ) TSeF (cm dia <sup>-1</sup> ) DVF (dias)	Dose de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
	0,735	0,796	0,780	0,929	1,117	0,04	L
	7,41	7,35	7,15	5,00	4,31	0,24	L
	0,118	0,130	0,100	0,100	0,086	0,011	L
	45,04	48,18	49,54	32,39	28,49	1,01	Q

EPM – Erro padrão da média; Efeito linear (L) e quadrático (Q). As médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ).

A taxa de alongamento de colmo (TAIC) apresentou resposta quadrática em função das doses de N, independentemente da presença de inoculante. Essa variável aumentou até adubação de 100 kg ha<sup>-1</sup> e diminuiu acima de 150 kg ha<sup>-1</sup> com inoculante. A partir de 100 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, as pastagens inoculadas apresentaram TAIC mais elevada. Quanto às outras variáveis morfogenéticas, as doses de N resultaram em efeito linear crescente sobre a TAIF, efeito linear decrescente sobre o FIL e TSeF e efeito quadrático sobre a DVF. A dose de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N proporcionou DVF de 28,49 dias, enquanto sem qualquer adubação, as folhas permaneceram vivas por 45 dias.

### 3.3 Variáveis de produção

As variáveis de produção apresentaram respostas variadas às diferentes doses de N utilizadas (Tabela 5), exibindo um efeito quadrático ( $P \leq 0,05$ ) em F e C, juntamente com uma redução linear ( $P \leq 0,05$ ) em MM e um aumento linear em AcFd.

**Tabela 5.** Efeito das doses de nitrogênio na porcentagem de folhas (F), porcentagem de colmos (C), porcentagem de material morto (MM) e no acúmulo de forragem diário (AcFd) de *Urochloa humidicola* cv. Comum em solo de savana amazônica.

Variável	Dose de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
F (%)	47,35	41,72	39,17	43,55	42,84	1,86	Q
C (%)	37,54	43,09	47,84	48,66	49,43	1,21	Q
MM (%)	15,56	16,74	14,46	7,63	7,18	0,88	L
AcFd (kg ha <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	299,21	403,34	416,30	545,98	593,52	48,88	L

EPM – Erro padrão da média; Efeito linear (L) e quadrático (Q).

A porcentagem de folhas (F) sofreu um declínio com o aumento da adubação com N até a dose de 100 kg ha<sup>-1</sup>, a partir da qual aumentou, atingindo o pico na dose de 200 kg ha<sup>-1</sup>. A porcentagem de colmo (C) apresentou um padrão de crescimento quadrático, com o valor mais alto registrado na dose de 200 kg de N ha<sup>-1</sup>. O material morto apresentou declínio linear com o aumento das doses de N, com o menor valor (7,18%) ocorrendo na aplicação de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N (Tabela 5). No caso do AcFd, a aplicação de N resultou em um aumento linear, com aumentos de 45,2% e 49,6% observados nas doses de aplicação de 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente, em comparação com pastagens sem adubação.

### 3.4 Variáveis da composição química da forragem

Todas as variáveis químicas apresentaram um aumento linear ( $P \leq 0,05$ ) em resposta ao aumento das doses de N (Tabela 6). A FDN para *U. humidicola* cv. Comum excedeu consistentemente 70% em todas as condições de avaliação, enquanto a FDA ultrapassou 27%. O teor de PB variou de 5,25% para pastagens não adubadas a 7,68% para aquelas que receberam 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, significando aumento de 31,6%.

**Tabela 6.** Efeito das doses de nitrogênio nos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB) de *Urochloa humidicola* cv. Comum em solo da savana amazônica.

Variável	Dose de nitrogênio (kg ha <sup>-1</sup> )					EPM	Contraste
	0	50	100	150	200		
FDN (% MS)	71,46	71,94	72,80	72,23	74,76	0,52	L
FDA (% MS)	27,90	27,07	27,58	28,24	29,03	0,63	L
PB (% MS)	5,25	6,00	6,02	6,83	7,68	0,12	L

EPM – Erro padrão da média; L – efeito linear.

## 4. Discussão

Ao analisarmos as variáveis nas quais o inoculante não teve efeito significativo, seja sozinho ou em combinação com a adubação com nitrogênio, é possível deduzir a influência do nitrogênio nas populações bacterianas do solo. Estudos demonstram que altas doses de fertilizante nitrogenado podem afetar negativamente as populações microbianas e sua mobilidade, além de prejudicar sua relação simbiótica com as plantas<sup>(22)</sup>, o que pode resultar em prejuízo à saúde do solo e redução da produtividade das plantas.

O excesso de nitrogênio pode alterar o pH do solo, inibindo assim o crescimento microbiano<sup>(23, 24)</sup>. Além disso, níveis elevados de nitrato podem servir como fonte alternativa de nitrogênio para as plantas, reduzindo sua dependência da simbiose e impactando ainda mais as populações de *Azospirillum*<sup>(25, 26)</sup>. Além disso, o próprio nitrogênio pode reduzir a motilidade microbiana, dificultando sua capacidade de colonizar as raízes das plantas de forma eficaz<sup>(27)</sup>.

Outro fator que pode interferir na eficácia do *A. brasiliense*, particularmente quando aplicado por pulverização foliar em culturas forrageiras, é a temperatura ambiente. A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento do *A. brasiliense* em meio de cultura situa-se entre 28°C e 34°C<sup>(28)</sup>. No entanto, em condições de campo, as flutuações de temperatura podem afetar tanto a sobrevivência da bactéria no solo quanto sua colonização da rizosfera ou dos tecidos internos das plantas. Portanto, uma possível explicação para a eficácia limitada do *A. brasiliense* em aumentar a produção e a composição química da forragem pode estar diretamente associada às altas temperaturas máximas observadas no local do experimento, que excederam 33°C.

Temperaturas elevadas podem induzir estresse térmico nas células bacterianas, comprometendo sua viabilidade e funcionalidade. Alguns estudos indicam que a exposição prolongada a temperaturas acima de 40°C pode resultar na perda da capacidade de fixação biológica de nitrogênio e na diminuição da produção de auxinas, como o ácido indol-3-acético (IAA) <sup>(29)</sup>. Além disso, o calor excessivo pode afetar a estabilidade dos inoculantes comerciais, tanto durante o armazenamento quanto após a aplicação no campo <sup>(30)</sup>.

A temperatura também pode influenciar a interação entre o *A. brasiliense* e a planta hospedeira. Em condições favoráveis, como temperaturas amenas e umidade adequada, a colonização das raízes tende a ser mais intensa, aumentando a expressão dos efeitos benéficos do microrganismo <sup>(31)</sup>. Por outro lado, em temperaturas extremas, a planta pode priorizar mecanismos de tolerância ao estresse, reduzindo assim sua receptividade à colonização microbiana <sup>(32)</sup>.

#### 4.1 Variáveis estruturais

A *Urochloa humidicola* cv. Comum apresentou notável sensibilidade à adubação com nitrogênio, especialmente evidente na produção de folhas e no perfilhamento. Isso corrobora as descobertas de Silva et al. <sup>(6)</sup> e Santos et al. <sup>(33)</sup> com capim Marandu (*U. brizantha* cv. Marandu) e Silva et al. <sup>(34)</sup> com capim Massai (*Panicum maximum*) em diversas regiões brasileiras. Os aumentos lineares relatados no perfilhamento ( $\hat{Y} = 363,45 + 1,102N$ ) por Silva et al. <sup>(6)</sup> e ( $\hat{Y} = 614,7 + 1,201N$ ) por Santos et al. <sup>(33)</sup> destacaram o aumento dependente de N nesses estudos. Uma distinção notável é a magnitude elevada da resposta em *U. humidicola* cv. Comum, especialmente no contexto do NP (Tabela 3), sugerindo que a interação entre as condições climáticas e do solo na savana amazônica e a adubação com N maximiza a melhoria da estrutura da pastagem, particularmente no número de perfilhos.

#### 4.2 Variáveis morfogenéticas

Os resultados relativos à TApF sob a influência da adubação com N, em conjunto com a inoculação com *A. brasiliense*, assemelharam-se às conclusões de Silva et al. <sup>(35)</sup>, que relataram valores elevados de TApF de 0,15 e 0,12 folhas dia<sup>-1</sup> para *U. decumbens* e *U. brizantha*, respectivamente, na dose de 338 kg de N ha<sup>-1</sup>. A taxa de aparecimento de folhas, um produto de vários fatores, como comprimento da bainha, alongamento foliar e temperatura, responde predominantemente ao fornecimento de N <sup>(36, 37)</sup>. Para a TAIC, foi observada uma influência maior do N em doses mais altas quando combinado com *A. brasiliense*, possivelmente devido ao crescimento acelerado das plantas, resultando no sombreamento das folhas inferiores e dos perfilhos basais. Esse cenário pode estimular o alongamento do colmo em busca de mais luz. Doses consideráveis de N podem, da mesma forma, reforçar a TApF e a TAIC, um fenômeno atribuído ao aumento da renovação dos tecidos, desencadeado pelo aumento da produção celular <sup>(37, 38)</sup>.

Conforme destacado por Cruz et al. <sup>(39)</sup>, a avaliação das variáveis morfogenéticas fornece insights sobre o comportamento das plantas em resposta às influências aplicadas. Essas variáveis delineiam a expansão espaço-temporal dos órgãos das plantas, revelando sua adaptação ecológica e o acúmulo de componentes produtivos das espécies forrageiras dentro das áreas cultivadas. De acordo com Souza et al. <sup>(40)</sup>, a morfogênese esclarece o comportamento das espécies e os limites fisiológicos, abrindo caminho para recomendações de manejo alinhadas com as necessidades das pastagens e os desafios

agronômicos. Nesse contexto, o aumento das doses de N até 200 kg ha<sup>-1</sup> impactou positivamente a morfogênese de *U. humidicola* no solo da savana amazônica, resultando em incrementos diários no desenvolvimento de folhas e colmos, ao mesmo tempo em que reduziu a senescência foliar e o filocrono. Notavelmente, o declínio na DVF com o aumento das doses de N implica que, para a utilização ideal do pasto, um intervalo de 28 a 32 dias oferece um dossel rico em folhas verdes.

Os resultados também estabelecem uma relação contrastante entre o surgimento (TApF) e o alongamento (TAIF) das folhas, em comparação com o filocrono e a duração de vida das folhas (DVF), uma tendência observada por Cruz *et al.*<sup>(39)</sup>. De acordo com Abreu *et al.*<sup>(41)</sup>, a redução na DVF e no filocrono devido à adubação com N surge da sinergia entre o surgimento e o alongamento da folha. Essa interação leva a uma vida útil mais curta da folha à medida que os níveis de N aumentam, acelerando assim a taxa de renovação dos tecidos vegetais por meio da aceleração dos processos morfogenéticos durante o crescimento vegetativo.

A interação entre a adubação com N e a presença do inoculante mostrou um efeito significativo sobre a TApF. A resposta quadrática observada com o aumento das doses de N na presença do inoculante sugere uma otimização potencial no desenvolvimento foliar em níveis intermediários de adubação. Na ausência do inoculante, a tendência linear positiva na TApF indica que o nitrogênio promove diretamente a formação foliar, embora sem os benefícios adicionais da estimulação microbiana.

A taxa de alongamento do colmo (TAIC) apresentou resposta quadrática, independentemente da presença do inoculante. No entanto, as pastagens inoculadas apresentaram TAIC mais elevada a partir de 100 kg de N ha<sup>-1</sup>, destacando o papel da *A. brasiliense* no crescimento vegetativo em condições de adubação moderada. Essa interação pode ser estrategicamente explorada para maximizar a produção de biomassa, particularmente em sistemas onde o uso de fertilizantes é limitado devido a restrições de custo ou preocupações ambientais.

#### 4.3 Variáveis de produção

A porcentagem de colmo (C) apresentou padrão quadrático, em contraste com a tendência observada na porcentagem de folha (F). O aumento na adubação levou a um aumento exponencial em C, enquanto F apresentou declínio até a adubação de 100 kg de N ha<sup>-1</sup>, seguido por um aumento subsequente. Essas descobertas sugerem que acima da dose de 100 kg de N ha<sup>-1</sup>, as pastagens de *U. humidicola* tendem a aumentar a produção de folhas enquanto estabilizam a produção de colmos (Tabela 5).

A redução do material morto em pastagens com doses crescentes de N pode ser explicada pela diminuição da TSeF observada nos perfis. Resultados semelhantes também foram observados por Silva *et al.*<sup>(34)</sup> após doses elevadas de N em pastagens de capim-massai (*P. maximum*) durante períodos de luminosidade e temperatura elevadas. Isso destaca que essas condições, características também da savana amazônica, aumentam o impacto favorável das doses de N nas pastagens.

Em relação ao AcFd, Delevatti *et al.*<sup>(42)</sup> também observaram aumento linear em pastagem tropical devido à aplicação de N. Esse fenômeno é atribuído principalmente ao aumento do perfilhamento como resposta à adubação com N em gramíneas tropicais, uma tendência também observada em nosso estudo (Tabela 5). No entanto, a magnitude desse efeito depende das condições climáticas, do solo local, e das espécies forrageiras cultivadas<sup>(43)</sup>.

#### 4.4 Variáveis da composição química da forragem

O aumento das doses de N proporcionou aumento no teor de fibra vegetal. Alves *et al.*<sup>(44)</sup> explicaram que a FDN representa a fração nutricional da parede celular composta por celulose, hemicelulose e lignina, enquanto a FDA abrange a fração de celulose ligada à lignina, um composto fenólico indigestível para os animais. De acordo com esses autores, os carboidratos ricos em FDN e FDA possuem taxas lentas de degradação e passagem pelo retículo-rúmen, reduzindo a ingestão total de matéria seca devido a restrições de enchimento do retículo-rúmen, o que pode impedir a expressão do potencial genético dos animais para a produção. Embora a produção de fibra em nosso estudo tenha superado os níveis ideais para o consumo animal, semelhante aos resultados de diferentes estudos envolvendo gramíneas *Urochloa*<sup>(2, 42)</sup>, esses valores de fibra parecem característicos de certas espécies do gênero *Urochloa*, como *U. humidicola*.

Apesar do aumento do teor de FDN e FDA, o aumento das doses de N incrementou o teor de PB da forragem. Esses resultados são significativos, pois os maiores níveis de produção se correlacionaram com valores mais altos de PB, um fator limitante primário para a ingestão de matéria seca e ganho de peso em animais em pastagens de *U. humidicola*<sup>(2)</sup>. O nitrogênio tem um papel fundamental nos constituintes das plantas, incluindo clorofitas, proteínas, aminoácidos, enzimas e vários outros compostos essenciais para a manutenção e o desenvolvimento das plantas, conforme enfatizado por Taiz *et al.*<sup>(9)</sup>. A insuficiência de nitrogênio restringe rapidamente o crescimento das plantas. As respostas às doses de N em pastagens de *Urochloa* são amplamente debatidas na literatura, refletidas nas descobertas de Oliveira *et al.*<sup>(45)</sup>, que indicam aumento da produtividade e melhoria da qualidade química, especialmente no teor de proteínas, devido ao aumento da adubação com N. Isso está de acordo com as observações de Fonseca *et al.*<sup>(46)</sup> sobre a influência positiva de várias fontes de N aplicadas ao solo sobre o teor de proteínas da pastagem.

Em regiões tropicais, como a savana amazônica, Pereira *et al.*<sup>(43)</sup> destacaram que a adubação com nitrogênio em gramíneas perenes, muitas vezes desconsidera as variações climáticas ao longo do ciclo vegetativo, a demanda das plantas, bem como a disponibilidade e as perdas de nitrogênio no solo. Portanto, um manejo preciso da adubação com base em recomendações específicas e sazonais para a região poderia contribuir significativamente para o estabelecimento de pastagens e diretrizes de manejo.

De modo geral, a aplicação de *A. brasiliense* não melhorou significativamente as variáveis estudadas, mesmo quando combinada com adubação nitrogenada. Esses resultados podem estar relacionados ao método de inoculação aplicado e às condições climáticas locais. O fabricante sugere que as cepas AbV5 e AbV6 de *A. brasiliense* podem ser aplicadas por pulverização em plantas estabelecidas, como feito em nosso estudo, ou por inoculação de sementes, como observado em estudos com respostas positivas. Assim, os impactos das altas temperaturas locais, características da região, podem ter prejudicado o processo simbótico entre plantas e bactérias quando aplicado por pulverização. Isso enfatiza a necessidade de um melhor entendimento de como lidar com esse inoculante nas condições da savana amazônica.

## 5. Conclusão

A utilização de *Azospirillum brasiliense* aplicado via foliar em pastagem estabelecida, seja de forma isolada ou em conjunto com a adubação nitrogenada, não confere vantagens em relação ao acúmulo de forragem e à composição química de *Urochloa humidicola* cultivada em solo de savana amazônica. Por outro lado, a adubação com nitrogênio na faixa de 100 a 200 kg ha<sup>-1</sup> apresenta efeitos positivos nos aspectos estruturais e morfogenéticos das pastagens de *U. humidicola* cultivadas em solo de savana amazônica. Além disso, essa faixa de adubação nitrogenada promove maior acúmulo de forragem. A composição química da *U. humidicola* cultivada na savana amazônica é influenciada pela adubação com nitrogênio, levando a um maior teor de proteínas e fibras em resposta à maior disponibilidade de N. Para estudos futuros, recomendamos a avaliação de cepas de *A. brasiliense* tolerantes a temperaturas mais altas, como as encontradas em Roraima. Essas cepas devem ser combinadas com métodos alternativos de aplicação em pastagens estabelecidas. No caso do estabelecimento de uma pastagem, as cepas podem ser aplicadas por meio da inoculação de sementes. Em relação à análise do solo, sugerimos a realização de análises químicas no final do período experimental para avaliar os efeitos de longo prazo dos tratamentos. Pesquisas futuras podem explorar a influência das interações entre *A. brasiliense*, doses de nitrogênio e outros fatores ambientais na dinâmica ecológica e na viabilidade econômica em pastagens tropicais.

### Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesses.

### Declaração de disponibilidade de dados

Os dados serão fornecidos mediante solicitação ao autor correspondente.

### Contribuições do autor

Conceituação: J.W. L.Castro, J. Lopes e W.L. da Silva. Análise formal: W.L. da Silva. Investigação: J.W. L.Castro, E.M. Severo, V. B. de Souza Júnior e J. L. L. Monteiro Neto. Metodologia: J. Lopes e W.L. da Silva. Visualização: V. B. de Souza Júnior e N. C. da Silva. Redação (esboço original): J.W. L.Castro. Redação (revisão e edição): W.L. da Silva.

### Referências

1. Lange A, Dantas J, Freddi OS, Buratto W, Spaziani C, Caione G. Soil degradation by the extensive livestock in the southern amazon of the state of Mato Grosso. *Nativa*. 2019; 7(6):642-648. <https://doi.org/10.31413/nativa.v7i6.6838>
2. Martins CDM, Euclides VPB, Barbosa RA, Montagner DB, Miqueloto T. Forage intake and animal performance in *Urochloa humidicola* cultivars under continuous stocking. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2013; 48(10):1402-1409. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013001000012>
3. Monteiro Neto JLL, Araújo WF, Chagas EA, Siqueira RHS, Chagas PC, Silva ES. Slow-release fertilizer and hydrogel on the initial growth of camu-camu under different water conditions in Savannah soil. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2020; 15(3):e8139. <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i3a8139>
4. Dias ES, Monteiro Neto JLL, Dresch BL, Rodrigues RO, Araújo WF, Chagas EA, Maia SS, Siqueira RHS, Chagas PC. Sakazaki RT, Soares-da-Silva E, Albuquerque JAA, Abanto-Rodríguez C. Organic fertilization for the beginning of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) cultivation in savanna soils. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 2021; 27(1):27-42. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.05.011>
5. Hermógenes GM, Oliveira EM, Alves JMA, Barreto GF, Guedes YA, Albuquerque JAA. Phytotechnical performance and resistance to leaf-footed bugs of green maize intercropped with Poacea in the Amazon savannah. *Acta Amazonica*. 2022; 52(4):270-276. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202102960>
6. Silva DRG, Costa KAP, Faquin V, Oliveira, IP, Bernardes TF. Rates and sources of nitrogen in the recovery of the structural and productive characteristics of marandu grass. *Revista Ciência Agronômica*. 2013; 44(1):184-191. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000100023>

7. Rosado TL, Gontijo I. Nitrogenous fertilization in pastures: promising results obtained in the research and reality faced by producers. *Vértices*. 2017; 19(1):163-174. <https://doi.org/10.19180/1809-2667.v19n12017p163-174>
8. Rocha EC, Terra ABC, Oliveira TE, Araújo BA, Silva NCD, Rezende AV, Florentino LA. Use of associative diazotrophic bacteria in pasture areas: alternative for mitigating greenhouse gases. *Research, Society and Development*. 2022; 11(5):e20911527939. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27939>
9. Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Artmed, Porto Alegre, RS; 2017. 848p.
10. Leite RC, Santos JGD, Silva EL, Alves CCR, Hungria M, Leite RC, Santos AC. Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasiliense*. *Crop & Pasture Science*. 2019; 70:61-67. <https://doi.org/10.1071/CP18105>
11. Rocha EC, Terra ABC, Oliveira TE, Araújo BA, Silva NCD, Rezende AV, Florentino LA. Use of associative diazotrophic bacteria in pasture areas: alternative for mitigating greenhouse gases. *Research, Society and Development*. 2022; 11(5): e20911527939. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27939>
12. Hungria M, Franco AA. The importance of biological nitrogen fixation in the tropics: limitations and potentialities. In: Fragoso C, editor. *Biological nitrogen fixation with non-legumes*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1993. p. 43–74.
13. Hungria M, Vargas MA. Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*. 2000; 65(2–3):151-64. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00084-2)
14. Alves MV, Nesi CN, Naibo G, Barreta MH, Lazzari M, Fiorese Júnior A, Skoronski E. Corn seed inoculation with *Azospirillum brasiliense* in different nitrogen fertilization management. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2020; 15(3):e8100. <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i3a8100>
15. Abd-Alla MH, Salem MA, Abdel-Wahab EE. Enhancing Rhizobium–Legume symbiosis and reducing nitrogen fertilizer use are potential options for mitigating Climate Change. *Agriculture*. 2023; 13(11): 2092. <https://doi.org/10.3390/agriculture13112092>
16. Benedetti UG, Vale Júnior JF, Schaefer CEGR, Melo VF, Uchôa SCP. Genesis, chemistry and mineralogy of soils derived from Plio-Pleistocene sediments and from volcanic rocks in Roraima North Amazonia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2011; 35(2):299-312. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832011000200002>
17. Couto-Santos FR, Luizão FJ, Carneiro Filho A. The influence of the conservation status and changes in the rainfall regime on forest-savanna mosaic dynamics in Northern Brazilian Amazonia. *Acta Amazonica*. 2014; 44:197-206. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672014000200005>
18. Santos HG, Jacomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbreiras JF, Coelho MR, Almeida JÁ, Araújo Filho JC, Oliveira JB, Cunha TJF. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 5.ed. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasília, DF; 2018. 356p.
19. Soil Survey Staff. *Soil survey manual*. Washington, DC: United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service; 2022. (Agricultural Handbook, 18).
20. Werner JC, Paulino VT, Cantarella H, Andrade NO, Quaggio JA. Forrageiras. In: van Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC, (Eds). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo: Boletim Técnico 100*. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas (IAC); 1997. p. 261–73.
21. Silva DJ, Queiroz AC. Análise de alimentos: Métodos Químicos e Biológicos. 3.ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; 2006. 236p.
22. Lindström K, Mousavi SA. Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial Biotechnology*. 2019; (13): 1314-1335. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>
23. Oono R, Muller KE, Ho R, Jimenez Salinas A, Denison RF. How do less-expensive nitrogen alternatives affect legume sanctions on rhizobia? *Ecology and Evolution*. 2020; 10: 10645-10656. <https://doi.org/10.1002/ece3.6718>
24. Burghardt LT, Epstein B, Hoge M, Trujillo DL, Tiffin P. Host-Associated Rhizobial Fitness: Dependence on Nitrogen, Density, Community Complexity, and Legume Genotype. *Applied Environmental Microbiology*. 2022; 88: e0052622. <https://doi.org/10.1128/aem.00526-22>
25. Wendlandt CE, Gano-Cohen KA, Stokes PJN, Jonnala BNR, Zomorrodian AJ, Al-Moussawi K, Sachs JL. Wild legumes maintain beneficial soil rhizobia populations despite decades of nitrogen deposition. *Oecologia*. 2022; 198: 419–430. <https://doi.org/10.1007/s00442-022-05116-9>
26. Godschalk AL, Diethelm AC, Kautz S, Ballhorn DJ. Nitrogen-Fixing Rhizobia Affect Multitrophic Interactions in the Field. *Journal of Insect Behavior*. 2023; 36: 168-179. <http://dx.doi.org/10.1007/s10905-023-09833-8>
27. Brito-Santana P, Duque-Pedraza JJ, Bernabéu-Roda LM, Carvia-Hermoso C, Cuéllar V, Fuentes-Romero F, Acosta-Jurado S, Vinardell JM, Soto MJ. Sinorhizobium meliloti DnaJ Is Required for Surface Motility, Stress Tolerance, and for Efficient Nodulation and Symbiotic Nitrogen Fixation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(6): 5848. <https://doi.org/10.3390/ijms24065848>
28. Okon Y, Labandera-Gonzalez C. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*. 1994; 26(12):1591-601. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90311-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90311-5)

29. Bashan Y, Bashan LE. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth a critical assessment. *Advances in Agronomy*. 2010; 108:77-136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
30. Hungria M, Campo RJ, Souza EM, Pedrosa FO. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil*. 2005; 279(1):85–99. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
31. Koza NA, Adedayo AA, Babalola OO, Kappo AP. Microorganisms in Plant Growth and Development: Roles in Abiotic Stress Tolerance and Secondary Metabolites Secretion. *Microorganisms*. 2022; 10(8):1528. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10081528>
32. Compant S, Van Der Heijden MGA, Sessitsch A. Climate change effects on beneficial plant–microorganism interactions. *FEMS Microbiology Ecology*. 2010; 73(2):197–214. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00900.x>
33. Santos EMR, Carvalho BHR, Rodrigues PHM, Basso KC, Carvalho AN. Structural characteristics of palidase grass deferred Heights and nitrogen variables. *Archivos de Zootecnia*. 2018; 67(259):420-426. <https://doi.org/10.21071/az.v67i259.3800>
34. Silva AB, Carvalho CAB, Pires CA, Almeida JCC, Nepomuceno DD. Effects of nitrogen dosage and urea source on morphological composition and forage accumulation in massai grass. *Semina: Ciências Agrárias*. 2018; 39(4):1407-1416. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1407>
35. Silva CCF, Bonomo P, Pires AJV, Maranhão CM, Patêis NMS, Santos LC. Morphogenetic and structural characteristics of two grasses submitted to different nitrogen doses. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2009; 38(4):657-661. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000400010>
36. Duru M, Ducrocq H. Growth and senescence of the successive leaves on a cocksfoot tiller. Effect of nitrogen and cutting regime. *Annals of Botany*. 2000; 85:645–653. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.1117>
37. Lopes AR, Lage Filho NM, Rego AC, Domingues FN, Silva TC, Faturi C, Silva NC, Silva WL. Effect of nitrogen fertilization and shading on morphogenesis, structure and leaf anatomy of *Megathyrsus maximus* genotypes. *Front. Plant Sci.* 2024; 15:1411952. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1411952>
38. Roma CFC, Cecato U, Soares Filho CV, Santos GT, Ribeiro OL, Iwamoto BS. Morphogenetic and tillering dynamics in Tanzania grass fertilized and non-fertilized with nitrogen according to season. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2012; 41(3):565-573. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000300013>
39. Cruz NT, Pires AJV, Fries DD, Jardim RR, Sousa BML, Dias DLS, Bonomo P, Ramos BLP, Sacramento MRSV. Factors affecting the morphogenetic and structural characteristics of forage plants. *Research, Society and Development*. 2021; 10(7):e5410716180. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16180>
40. Souza JP, Townsend CR, Araújo SRC, Oliveira GA. Morphogenetic, structural and agronomic characteristics of tropical grasses: a review. *Research, Society and Development*. 2020; 9(8):e942986588. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6588>
41. Abreu MJI, Paula PRP, Tavares VB, Cidrini IA, Nunes HO, Emiliano WJC, Souza WL, Coelho RM, Neiva Júnior AP, Tomaz CEP. Morphogenesis, structural characteristics and forage accumulation of *Megathyrsus maximus* BRS Zuri subjected to nitrogen fertilization. *Boletim De Indústria Animal*. 2020; 77(1):1-17. <https://doi.org/10.17523/bia.2020.v77.e1486>
42. Delevatti LM, Cardoso AS, Barbero RP, Leite RG, Romanzini EP, Ruggieri AC, Reis RA. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. *Scientific Reports*. 2019; 9:n.7596. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44138-x>
43. Pereira LET, Herling VR, Tech ARB. Current Scenario and Perspectives for Nitrogen Fertilization Strategies on Tropical Perennial Grass Pastures: A Review. *Agronomy*. 2022; 12(2079):1-19. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092079>
44. Alves AR, Pascoal LAF, Cambuí GB, Trajano JS, Silva MC, Gois GC. Fiber ruminants: nutritional, methodological and functional aspect. *Pubvet*. 2016; 10(7):568-579. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n7.568-579>
45. Oliveira MW, Goretti AL, Lana RP, Rodrigues TC. Dry matter and protein accumulation as a function of nitrogen Fertilization in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (*Urochloa brizantha*). *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*. 2022; 12(1):10-18. <https://doi.org/10.21206/rbas.v12i1.13125>
46. Fonseca NVB, Cardoso AS, Berça AS, Dornellas IA, Ongaratto F, Silva MLC, Ruggieri AC, Reis RA. Effect of different nitrogen fertilizers on nitrogen efficiency use in Nellore bulls grazing on Marandu palisade grass. *Livestock Science*. 2022; 263:105012. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105012>