



Azospirillum brasiliense associado com nitrogênio no desempenho da cultura do milho

Azospirillum brasiliense associated with nitrogen in the agronomic performance of maize

Vinicius Pavani¹, Luana Patrícia Pinto Korber², Jhonatan Rafael Wendling Hartmann Hister³, Marco Antônio Bacellar Barreiro⁴, Robson Fernando Missio⁵, Luciana Grange⁵

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do *A. brasiliense*, associado a diferentes doses de N em cobertura, no desempenho agrônomo do milho e nos atributos biológicos do solo. O experimento foi conduzido seguindo o delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições e os seguintes tratamentos: T1) Somente sob inoculação com *A. brasiliense* na dose comercial (AZO); T2) Somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T3) AZO + 50 kg ha⁻¹ N em cobertura; T4) AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T5) AZO + 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T6) Controle (sem inoculação e sem N de cobertura). Foram avaliados: altura de planta (ALT), altura de inserção de espiga (AIE), número de grãos por fileira (NGF), massa seca da parte aérea (MSPA), respiração basal do solo (RBS), unidades formadoras de colônia (UFC), diversidade morfológica bacteriana e produtividade (PROD). Os valores de RBS indicam que, nas condições padrões do solo (T6), havia uma maior atividade metabólica que foi equacionada pela adubação de N de cobertura isolada (T2) e associada na AZO + 100 kg ha⁻¹ (T4). Sob AZO + N cobertura a 150 kg ha⁻¹, foi observado aumento da RBS com redução da produtividade em relação ao T4. Não houve diferenças significativas para os dados de densidade bacteriana (UFC), mas o estudo de diversidade revelou que a adubação com cama aviária contribuiu para a manutenção do equilíbrio biológico do solo. Por isso, o sistema acabou sofrendo pouca influência dos tratamentos experimentais, no entanto, a produtividade do T6 (6200 kg ha⁻¹) foi a menor dentre todos os tratamentos. Considerando todos os aspectos avaliados, o T4 sob inoculação de *A. brasiliense* + N cobertura a 100 kg ha⁻¹ foi o que apresentou os melhores resultados biológicos e agrônômicos, diferenciando significativamente dos demais com a maior produtividade alcançada (8500 kg ha⁻¹).

Palavras-chave: Diversidade. Fixação biológica. Micro-organismos. Produtividade.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the efficiency of *A. brasiliense*, associated with different doses of N in cover, regarding the agronomic performance of corn and soil biological attributes. The experiment was conducted following a randomized block design, with 4 replications and the following treatments: T1) Under inoculation with *A. brasiliense* in the commercial dose (AZO), only; T2) Under application of 150 kg ha⁻¹ of N in cover, only; T3) AZO + 50 kg ha⁻¹ N in cover; T4) AZO + 100 kg ha⁻¹ of N in cover; T5) AZO + 150 kg ha⁻¹ of N in cover; T6) Control (no inoculation and no N in cover). The following parameters were evaluated: plant height (ALT), cob insertion height (IEA), number of grains per row (NGF), aerial shoot dry mass (MSPA), basal soil respiration (RBS), units forming colony (CFU), bacterial morphological diversity and productivity (PROD). The RBS values indicate that, under the soil standard conditions (T6), there was a higher metabolic activity that was equated by isolated (T2) cover fertilization with N and associated with AZO + 100 kg ha⁻¹ (T4). Under AZO + cover N at 150 kg ha⁻¹, an increase in RBS was observed with reduced productivity in relation to T4. There were no significant differences for bacterial density (CFU) data, but the diversity study revealed that fertilization with chicken bed contributed to the maintenance of the biological balance of the soil, resulting in little influence of experimental treatments in this parameter. The productivity of T6 (6200 kg ha⁻¹) was the lowest of all treatments. Considering all aspects evaluated, T4 under inoculation of *A. brasiliense* + cover N at 100 kg ha⁻¹, was the

¹ Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina (PR), Brasil.

² Mestre em Engenharia Agrícola pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Analista de Laboratório e Pesquisa na Empresa Scheffer, Cuiabá (MT), Brasil.

³ Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina (PR), Brasil.

⁴ Departamento de Biociências, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina (PR), Brasil.

⁵ Departamento de Ciências Agrônômicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Palotina (PR), Brasil.

treatment that presented the best biological and agronomic performance results, differing significantly from the other, resulting in the highest productivity achieved (8500 kg ha⁻¹).

Keywords: Biological fixation. Diversity. Microorganisms. Productivity.

Autor correspondente:
Robson Fernando Missio: rmissio@ufpr.br

Recebido em: 03/03/2021
Aceito em: 08/06/2021

2

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L) é uma das principais culturas produzidas no Brasil e no mundo, sendo um cereal de grande valor nutritivo e energético para o consumo humano e para a alimentação animal (MAPA, 2018). É rico em amido e proteínas, além de fibras, carboidratos, vitaminas (A e complexo B), sais minerais, ferro, fósforo, potássio, cálcio, óleo e grande quantidade de açúcares, gorduras, celulose e calorias (ABIMILHO, 2019).

O Brasil é o 3º maior produtor mundial de milho alcançando 257,84 milhões de toneladas de grãos em 2019/20 (CONAB, 2019). As expectativas para a cultura na safra 2020/21 são de uma área total de 18.463,5 mil hectares e uma produção estimada de 102,3 milhões de toneladas, uma redução de 1,5% devido, principalmente, às condições edafoclimáticas extremas (CONAB, 2021).

O potencial produtivo do milho está intrinsecamente associado ao fornecimento de nitrogênio (N), pois este tem atuação direta sobre a síntese de clorofila, na composição de aminoácidos e ácidos nucleicos (FERNANDES; LIBARDI, 2007; GALVÃO *et al.*, 2014). O milho consome cerca de 22 kg de N por tonelada de grãos produzidos (CIAMPITTI *et al.*, 2010; ROBERTO *et al.*, 2010).

Para as plantas cultivadas o nitrogênio normalmente é fornecido na forma de N mineral, devido a liberação ocorrer de forma mais rápida, no entanto, o uso prolongado desse insumo em altas doses pode levar a alterações drásticas do pH do solo (CANTARELLA, 2007). Essas alterações podem inativar atividades metabólicas do solo levando à redução e à morte de espécies rizosféricas promotoras de crescimento vegetal (FERNANDES; LIBARDI, 2007). Além disso, este fertilizante é produzido a partir de fonte não renovável e pode sofrer perdas de 50% ou mais para o sistema por lixiviação e volatilização (DUETE *et al.*, 2008).

O uso de inoculantes tem sido uma proposta biotecnológica promissora com a finalidade de reduzir a adubação nitrogenada para a produção de algumas culturas (SAIKIA; JAIN, 2007). Pesquisas vêm demonstrando que a inoculação ainda não substitui o adubo nitrogenado na cultura do milho mas, quando bem associada, pode melhorar a absorção e utilização do N disponível no sistema rizosférico convertendo em aumento de produtividade (SALA *et al.*, 2007).

A utilização de bactérias do gênero *Azospirillum*, na cultura do milho, pode influenciar na produção de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas, na solubilização

de fosfato, no aumento da capacidade de desenvolvimento radicular e também tem a capacidade de aumentar a síntese de produção de clorofila melhorando a capacidade da planta em realizar fotossíntese (GORDILLO-DELGADO *et al.*, 2016; KAZI *et al.*, 2016).

Hungria *et al.* (2010) obtiveram resultados de até 30% no incremento da produtividade do milho sob a presença do *A. brasilense* quando comparado à ausência de inoculação. Já Francisco *et al.* (2012), pela associação de *Azospirillum* sp. no tratamento de semente com a utilização de N em sulco de semeadura e posteriormente em cobertura, obtiveram um aumento de 16,7% na produtividade em relação à testemunha sem aplicação de N e inoculação. Diaz-Zorita e Fernandez Canigia (2008) revisaram 273 experimentos de trigo e milho sob inoculação microbiana e observaram que 76% dos trabalhos obtiveram aumento da produção de grãos de trigo em média de 256 kg ha⁻¹ e 85% apresentaram incremento médio de 472 kg ha⁻¹ na produção de grãos de milho.

Além da promoção de crescimento vegetal, as atividades metabólicas microbianas podem ser obtidas para avaliar a qualidade do solo e do manejo (GIACOMINI *et al.*, 2014). Trabalhos como de Colodel *et al.* (2018), utilizando dados de carbono da biomassa microbiana (CBM) e respiração basal do solo (RBS), detectaram perdas nos atributos físicos e biológicos do solo e de produtividade avaliando distintos manejos no Estado do Mato Grosso.

Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do inoculante a base de *A. brasiliense* combinado com doses de N em cobertura sobre os aspectos agronômicos da cultura do milho e microbiológicos do solo buscando encontrar a associação que permitiu ao sistema melhor equilíbrio e maior produtividade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado na safra 2018/2019, no município de Jesuítas (PR), sobre um solo Latossolo Vermelho Eutroférico sob manejo de nitrogênio de base anteriormente submetido a aplicações de cama de aviário. Um resumo da análise química do solo encontra-se na Tabela 1 (EMBRAPA, 2006). A área vem sendo explorada em sucessão soja/milho com a soja em primeira e milho em segunda safra.

Tabela 1. Resultado da análise química do solo na área experimental

Cálcio	Magnésio	H + Al	CTC _{pH 7,0}	CTC _{efetiva}	Carbono	Matéria Orgânica
Cmol _c dm ⁻³			g dm ⁻³			
6,71	2,69	4,61	14,87	10,26	15,38	26,45
Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto

Fonte: Dados da pesquisa.

O experimento foi realizado seguindo um delineamento de blocos casualizados (DBC) com seis tratamentos e quatro repetições: T1) Somente sob inoculação com *A. brasiliense* na dose comercial (AZO); T2) Somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T3) AZO

+ 50 kg ha⁻¹ N em cobertura; T4) AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T5) AZO + 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T6) controle (sem inoculação e sem N de cobertura).

A adubação de base foi realizada na linha com o formulado 04-14-08 (N-P-K), totalizando 500 kg ha⁻¹. O N em cobertura foi aplicado a lanço (na linha) no estádio V4 e o híbrido de milho utilizado foi o Forseed 2b533 *POWERCORE*TM, tratado com fungicida Cruiser 350 FS. A inoculação das sementes foi realizada com auxílio de um tambor e o produto usado foi NITRO1000 Gramineas, turfoso, composto por *Azospirillum brasiliense* estirpe AbV5 e AbV6, na dose de 100 g para 60.000 sementes, segundo recomendação do fabricante.

O solo foi coletado a uma profundidade de 10-15 cm e transportado sob condição refrigerada até o Laboratório de Biotecnologia do Solo da Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Setor Palotina. Para a obtenção da densidade e diversidade bacteriana, 10 g de cada amostra de solo foram submetidos à agitação sob condição salina a 0,85%, por 20 minutos a 180 rpm. Diluições seriadas foram feitas até a obtenção da concentração de trabalho 10⁻³. Desta, 0,1 mL de cada amostra foi inoculado em quadruplicada no meio de cultura Dygs sólido, a um pH de 6,5 e incubado por 48 horas em BOD à temperatura de 27 °C (DIONÍSIO *et al.*, 2016). A densidade populacional bacteriana do solo foi realizada pelo método de contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) (PINTO *et al.*, 2019).

A diversidade morfológica foi estabelecida a partir do protocolo desenvolvido por Hofling e Gonçalves (2008) modificado, considerando os seguintes aspectos morfológicos: tamanho, forma, borda, homogeneidade, cor, brilho, elevação e estrutura de cada colônia isolada. Para obtenção da tipagem, os dados foram agrupados pelos valores de características pela metodologia UPGMA, utilizando a distância euclidiana com 1000 repetições de *bootstrap*, com valor de corte da sustentação dos grupos igual a 60, com auxílio do programa Bionumerics 7.5.

A respiração basal do solo (RBS) foi determinada segundo Jenkinson e Powlson (1976). De cada amostra foram obtidas 20 g de solo que foram incubadas por 10 dias à temperatura ambiente em frascos de 0,5 L hermeticamente fechados contendo um recipiente com 10 mL de uma solução de NaOH (1 M) para capturar o CO₂. Após a incubação, foram adicionados 2 mL de BaCl₂ (10%) e o excesso de NaOH foi determinado por titulação com solução de HCl (0,1 mol L⁻¹).

Para avaliar os aspectos agrônômicos, 10 plantas foram escolhidas aleatoriamente de cada parcela, desconsiderando o efeito da bordadura. As variáveis avaliadas foram: AP - altura de planta (cm), AIE - altura de inserção de espiga (cm), NGF - número de grãos por fileira, MSPA - massa seca parte aérea (kg ha⁻¹) e PROD - produtividade (kg ha⁻¹) padronizada para umidade de 13% para todos os tratamentos.

Os dados agrônômicos e biológicos foram analisados quanto à distribuição dos dados e pelo teste t a 5% de probabilidade com auxílio do *software* Sisvar 5.8 (FERREIRA, 2011). Também foi realizada a análise de componentes principais (PCA) utilizando o pacote *vegan*

(OKSANEN *et al.*, 2016). Todos os dados foram obtidos sobre a matriz de correlação de Pearson com o critério de retenção de componentes principais (CPs) de “broken-stick”.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, dos tratamentos sob inoculação com o *A. brasiliense*, o T4 (AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura) foi o que demonstrou os melhores resultados considerando todas as variáveis avaliadas (Figuras 1 e 2; Tabela 2). Este tratamento foi o que apresentou a melhor produtividade quando comparado com os tratamentos T3 (AZO + 50 kg ha⁻¹ N em cobertura) e T5 (AZO + 150 kg ha⁻¹ N em cobertura) (Figura 1). O T4 apresentou uma produtividade 34,3% maior do que a condição de padrão de cultivo (T6) e, quando comparado com T2, somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N mineral, aumentou em 15,4% a produtividade.

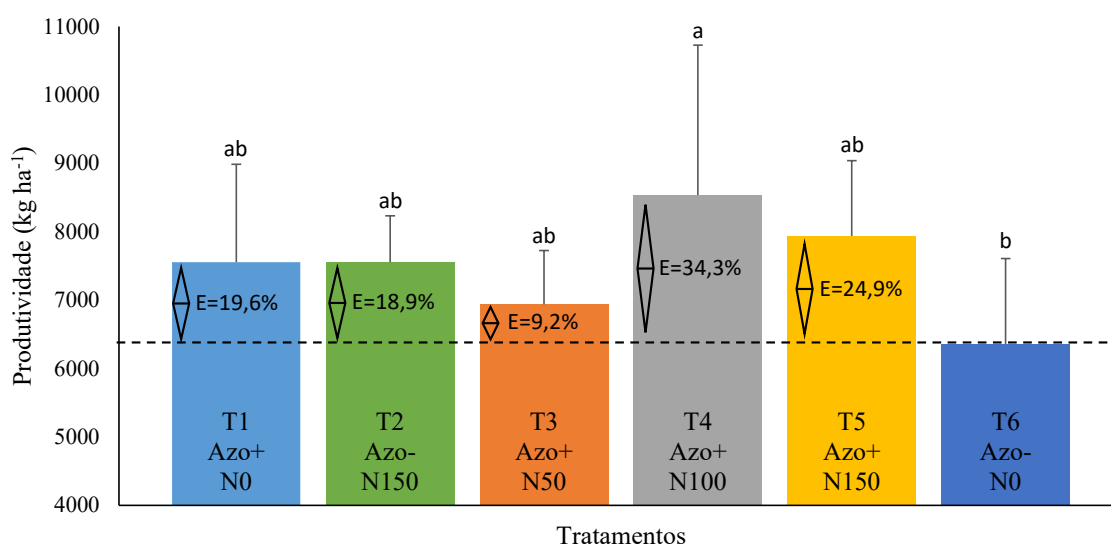


Figura 1. Produtividade média (kg ha⁻¹) e eficiência (E = % em relação ao T6 - Sem inoculação, sem adubação nitrogenada no plantio e cobertura) dos tratamentos utilizados. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t ($p > 0,05$). Barras verticais representam o desvio padrão médio. T1. Somente sob inoculação com *A. brasiliense* na dose comercial (AZO); T2. Somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T3. AZO + 50 kg ha⁻¹ N em cobertura; T4. AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T5. AZO + 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T6. controle (sem inoculação e sem N de cobertura).

A influência do *Azospirillum* na produção de fitormônios aumenta a capacidade de desenvolvimento radicular, mas também melhora o desenvolvimento da parte aérea (MSPA), aumentando assim a capacidade fotossintética e a biometria vegetal (PINHEIRO *et al.*, 2020). Os valores de MSPA obtidos neste trabalho não foram suficientes para demonstrar diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2). Isso se deve à alta performance das atuais cultivares de milho que foram melhoradas para alcançarem expressiva responsividade

vegetativa mesmo sob condição de estresse. De modo geral, o bom desenvolvimento do milho se deve 50% ao melhoramento genético (rendimento de grãos) e 50% ao manejo da cultura (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Tabela 2. Aspectos agrônômicos da cultura do milho e microbiológicos do solo sob aplicação de diferentes doses de nitrogênio em cobertura

Tratamentos	AP (cm)	AIE (cm)	NGF	MSPA (kg planta ⁻¹)	RBS	UFC
T1	220,23 a	100,83 a	26,74 a	0,128 a	0.72 c	13.10x10 ⁴ a
T2	235,77 a	105,40 a	28,62 a	0,157 a	0.75 c	10.13x10 ⁴ a
T3	219,97 a	107,13 a	24,63 a	0,145 a	0.85 bc	13.95x10 ⁴ a
T4	226,37 a	107,13 a	28,72 a	0,145 a	0.78 c	12.70x10 ⁴ a
T5	225,13 a	109,13 a	29,26 a	0,134 a	1.08 b	11.46x10 ⁴ a
T6	214,70 a	102,7 a	24,26 a	0,128 a	1.43 a	16.19x10 ⁴ a

T1) Somente sob inoculação com *A. brasiliense* na dose comercial (AZO); T2) Somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T3) AZO + 50 kg ha⁻¹ N em cobertura; T4) AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T5) AZO + 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T6) controle (sem inoculação e sem N de cobertura). AP: altura de planta; AIE: altura de inserção de espiga; NGF: número de grãos por fileira; MSPA: massa seca da parte aérea; RBS: respiração basal do solo; UFC: unidades formadoras de colônias. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste t ($p > 0,05$).

O valor elevado de RBS (Tabela 2) para a dose de 150 kg ha⁻¹ (T5) está indicando que o sistema e a comunidade rizosférica estão sob alguma condição de estresse, o que converge na queda da produtividade deste tratamento em relação ao T4. O excesso de N pode inibir atividades associativas pois, se a planta se abastece muito desse nutriente nas primeiras fases vegetativas, a mesma deixa de produzir exsudatos nas concentrações ideais, o que compromete a quimiotaxia e reduz a eficiência do sistema simbiótico (QUADROS, 2009).

No estudo de Silva (2009), para avaliar a eficiência da enzima redutase do nitrito, foi verificado que sob doses de N acima de 100 kg ha⁻¹ ocorre a redução na capacidade de absorção do mesmo. O excesso de N no meio pode ocasionar um aumento do pH no sistema que consequentemente diminui a disponibilidade de outros nutrientes no solo. Para Novakowski *et al.* (2011) altas doses de N utilizadas acima de 150 kg ha⁻¹ no plantio interferiram diretamente no estande de plantas na área de cultivo tendo uma diminuição de 11000 plantas ha⁻¹. Basi (2013) relata que o aumento na dosagem de N teve diminuição na capacidade produtiva da planta ocasionando perdas de 310 kg ha⁻¹.

Liborio *et al.* (2016) realizaram a combinação de 50% da dose de N recomendada com o *A. brasiliense* no tratamento de sementes de milho, obtendo uma produtividade de 11.114 kg ha⁻¹ quando comparado com a utilização de somente N mineral na dose recomendada (produtividade de 10.231 kg ha⁻¹). Novakowski *et al.* (2011) realizaram a inoculação de *A. brasiliense* e N em 100% e 50% da dose recomendada e alcançaram ganhos de 357,84 g de massa de mil grãos na dose de N 100% e de 343,0 g na dose de N 50%, ambos em relação à testemunha não inoculada.

O excesso de N também pode levar a uma diminuição da relação C:N no solo provocando mudanças na composição microbiana e essas alterações refletem diretamente no padrão de mobilização-imobilização do N no solo (BALOTA, 2017). Essa afirmação se faz ainda mais relevante no presente trabalho principalmente porque, na área cujo experimento foi instalado, o produtor recorre à adubação constante com cama de aviário cerca de 30 dias antes da instalação da cultura de primeira safra. Nessa condição e, de acordo com a análise de solo da área (Tabela 1), é possível aferir que o aporte nutricional e microbiológico do solo experimental já se encontrava no limite positivo da capacidade metabólica da sua comunidade microbiana.

O T3 (AZO + 50 kg ha⁻¹ de N em cobertura) (Tabela 2) foi o tratamento com inoculação de *A. brasiliense* que apresentou os menores valores para os diferentes aspectos avaliados. Um dos fatores relacionados a esses resultados é o aproveitamento do N aplicado de forma mineral em doses mais baixas do que a recomendada. Skonieski *et al.* (2019) observaram que apenas parte do nitrogênio exigido pela cultura do milho é fornecida pela bactéria *Azospirillum* ssp. Segundo Chalk (2016), isso se deve porque a cultura tem uma grande resposta ao uso de nitrogênio.

Em um estudo realizado por Pandolfo *et al.* (2015) em Campos Novos na safra 2011/12, a baixa dose de N (25 kg ha⁻¹) associada com a inoculação levou a uma produtividade de 3508 kg ha⁻¹, porém, sob condição sem aplicação de N e com a presença do *A. brasiliense*, a produtividade aumentou para 3828 kg ha⁻¹ em relação à testemunha. Segundo Hungria (2011), isso pode ser explicado pela falta de conhecimento da relação de especificidade genética entre as bactérias e a planta do milho (HUNGRIA, 2011). Sala *et al.* (2007), ao inocularem *A. brasiliense* em sementes de trigo nas doses de 0, 60 e 120 kg ha⁻¹ de N (70% na semeadura e 30% cobertura), verificaram que as bactérias inoculadas foram mais responsivas nas dosagens menores de N e, na dose de 120 kg ha⁻¹, os autores obtiveram uma diminuição na eficiência de absorção do N pela cultura.

A menor produtividade encontrada para T2 (Figura 1), somente 150 kg ha⁻¹ N em cobertura (7554,8 kg ha⁻¹), pode ser explicada pelo alto gasto energético que a planta dispende no processo de absorção e redução do nitrato (PALLARDY, 2008). Em função da alta capacidade reguladora que o N exerce sobre a cultura, este fator tem a capacidade de diminuir a produtividade da cultura, segundo Hungria *et al.* (2010). Para o T1, somente sob a utilização de *A. brasiliense*, a relação do melhor aproveitamento de N presente no solo pode ser explicada pela ausência do fertilizante químico e pela aplicação da cama de aviário. É possível que a utilização periódica da cama de aviário esteja permitindo a reposição dos nutrientes extraídos do cultivo realizado na segunda safra.

Alterações na respiração basal do solo (RBS) podem estar demonstrando sinais de interferências antrópicas, mudanças de vias metabólicas mais ou menos eficientes e ou trocas ou perdas de funções por conta da redução da biodiversidade microbiológica do solo (MENDES

et al., 2015). Neste trabalho, os valores encontrados para a RBS (Tabela 2) podem estar indicando que, nas condições padrões do solo (T6), estava havendo uma maior atividade metabólica que foi equacionada pela adubação de N de cobertura isolada e associada nas doses AZO + 50 kg ha⁻¹ e AZO + 100 kg ha⁻¹. Para o T5, sob AZO + N cobertura a 150 kg ha⁻¹, foi observado aumento da RBS com redução da produtividade. Segundo Nogueira *et al.*, (2015), a equalização do valor da RBS em relação aos do CBM e do qCO₂ reforça a condição de maior retenção do carbono da MO na composição dos tecidos microbianos. Isso é devido ao estímulo dado à multiplicação da biota natural do solo na busca.

Não houve diferenças significativas para os dados de densidade bacteriana obtidos pela contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) (Tabela 2), no entanto, a melhor média foi a do T6 (16.19x10⁴ UFC) quando comparado com os demais tratamentos (média de 12.27x10⁴ UFC). O estudo da diversidade bacteriana promoveu a formação de 20 agrupamentos distintos (Figura 2A), destacando o grupo 6 por apresentar o maior número de indivíduos distintos. Esses dados apontam que a adubação com cama aviário há tempos vem colaborando com a manutenção do equilíbrio biológico do sistema, de tal modo que este sofre pouca influência significativa dos tratamentos experimentais. Ainda assim, pelos agrupamentos obtidos pela tipagem bacteriana (G4, G5, G6, G7, G8), em relação aos diferentes tratamentos (Figura 2B), foi possível observar a predominância de morfotipos já existentes no solo e que normalmente representam os chamados resilientes (TONIAZZO *et al.*, 2018).

Geralmente seres resilientes desempenham atividades redundantes entre si mas fundamentais para a promoção e a manutenção metabólica do ambiente (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Além disso, em cada tipo de solo existe um equilíbrio biológico dinâmico envolvendo comunidades específicas adaptadas àquelas condições, principalmente em áreas cultivadas em que os micro-organismos tendem a serem selecionados frente às pressões do ambiente (CHEN *et al.*, 2017).

Körber *et al.* (2020) demonstraram que a utilização de resíduo animal consegue incrementar a população biológica do solo, no entanto, este ganho logo se equaciona após o consumo do carbono extra adicionado pela adubação orgânica. Silva *et al.* (2013), ao adicionar cama de aviário num cultivo com mandioca, observaram uma liberação de 12 mg C-CO₂ por kg de solo, porém quando utilizada a inoculação de *Fusarium solani* para saber como seria o comportamento do sistema, a liberação foi de 6 mg C-CO₂ por kg de solo.

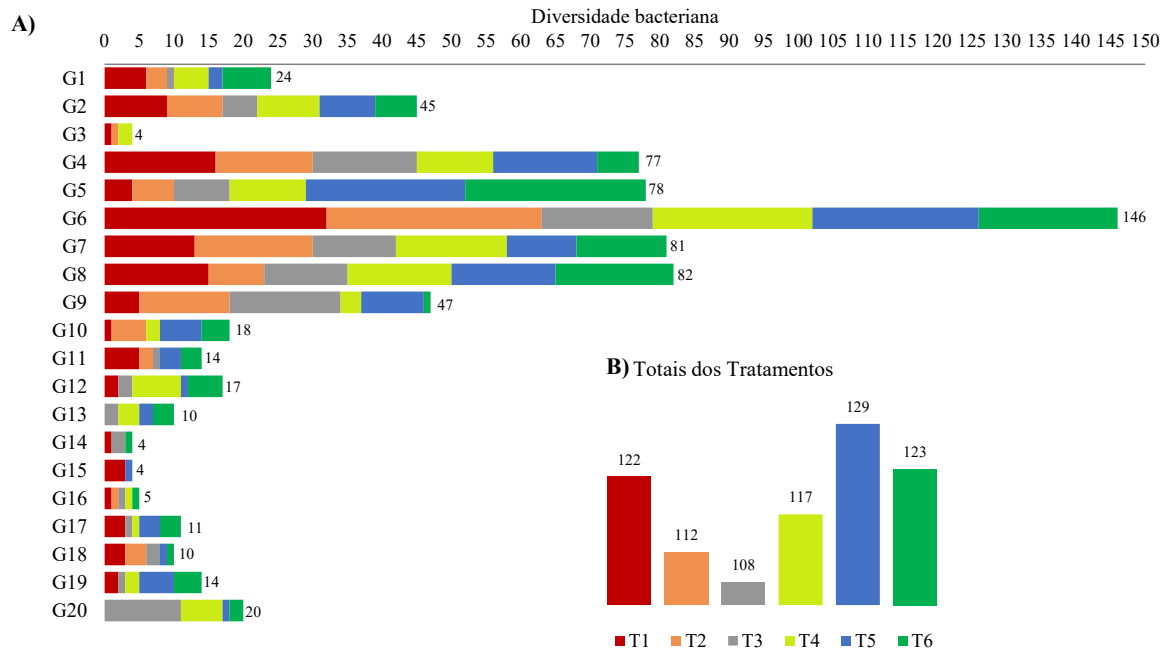


Figura 2. Diversidade bacteriana (metodologia UPGMA, utilizando a distância euclidiana com 1000 repetições de *bootstrap*, com valor de corte da sustentação dos grupos igual a 60), do solo cultivado com milho inoculado e submetido a diferentes aplicações de nitrogênio sobre cobertura. A) diversidade entre grupos e tratamentos; B) diversidade total dos tratamentos. T1) Somente sob inoculação com *A. brasilense* na dose comercial (AZO); T2) Somente sob aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T3) AZO + 50 kg ha⁻¹ N em cobertura; T4) AZO + 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T5) AZO + 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura; T6) controle (sem inoculação e sem N de cobertura).

As variáveis analisadas pelos componentes principais (Figura 3) apresentaram relação direta com os tratamentos T4 e T5, isto é, conforme foi aumentando a dose de N, as variáveis altura de inserção de espigas (AIE), altura de planta (AP), número de grãos por fileira (NGF), RBS e produtividade (PROD) aumentaram proporcionalmente, demonstrando serem estes os tratamentos com as melhores médias para os diferentes aspectos avaliados.

O T1 (somente inoculação) apresentou uma relação inversamente proporcional a todas as variáveis, demonstrando que a falta de N associada ao *Azospirillum* compromete o desenvolvimento do milho pois, sozinho, o micro-organismo não foi capaz de suprir as necessidades da planta. O T3 (inoculação + 50 kg ha⁻¹ de N em cobertura) demonstrou relação direta apenas com a UFC e relação inversamente proporcional a todas as demais variáveis demonstrando também que doses muito baixas de N são ineficientes para o desenvolvimento dessa cultura (Figura 3).

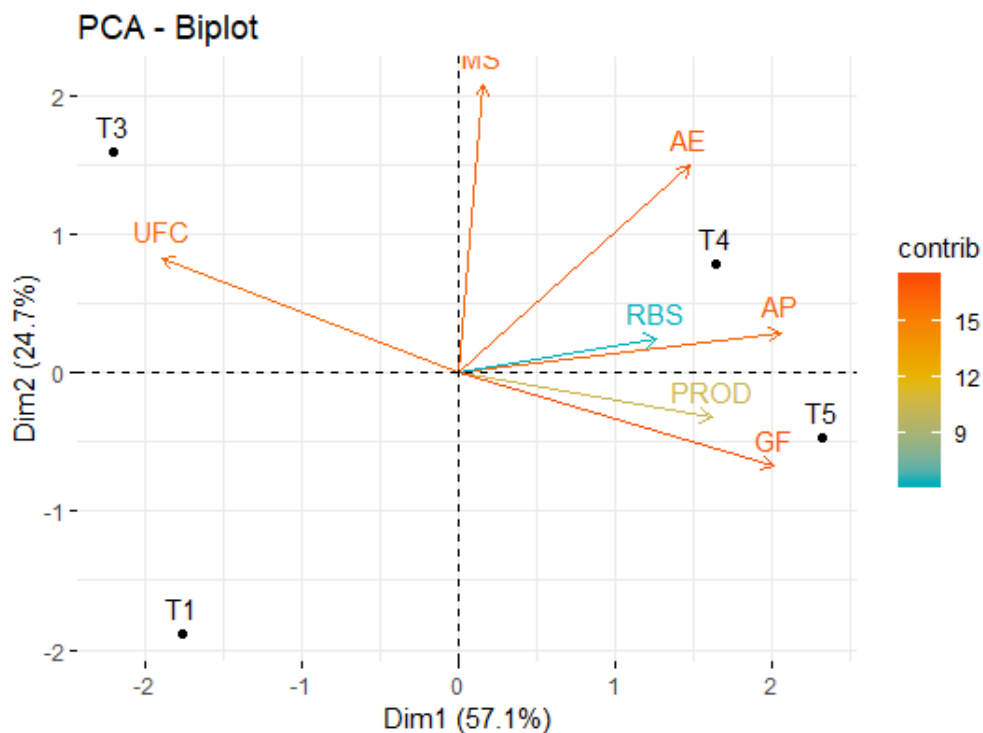


Figura 3. Análise de Componentes Principais para as variáveis agrônômicas e biológicas da área experimental sob o cultivo de milho submetidas a inoculação com *A. brasilense* e aplicação de diferentes doses de N em cobertura, na região Oeste do Paraná. T1) inoculado com *A. Brasilense* e zero N em cobertura; T3) inoculado com *A. Brasilense* + 50 kg N ha⁻¹ em cobertura; T4) inoculado com *A. Brasilense* + 100 kg N ha⁻¹ em cobertura; T5) inoculado com *A. Brasilense* + 150 kg N ha⁻¹ em cobertura; RBS: respiração basal do solo; UFC: unidades formadoras de colônia; MSPA: massa seca; AIE: altura de inserção de espigas; AP: altura de planta; PROD: produtividade; NGF: número de grãos por fileira.

A eficiência do N em sistemas agrícolas depende do tipo de produção bem como do manejo do solo. No estudo de França *et al.* (2011) o consórcio aveia e milho dispôs no solo 27 kg de N ha⁻¹ porém, quando foi incluída uma leguminosa de alta capacidade de FBN, o nutriente passou a disponibilizar 190 kg de N por ha⁻¹. Viceli *et al.* (2019) constataram que a RBS observada no solo sob cultivo de milho em diferentes épocas de ano também pode influenciar diretamente na capacidade de decomposição da matéria orgânica presente no solo. Por este trabalho, os autores relatam que no inverno foram obtidos menores valores de RBS (0,219 mg C-CO₂ kg⁻¹) ou seja uma menor atividade microbiológica do solo comparados com os dados de verão, quando a RBS obtida foi de 0,812 mg C-CO₂ kg⁻¹.

No trabalho de Alves *et al.* (2020), o uso de inoculante em associação com a fertilização de nitrogênio por cobertura apresentou resultados positivos quando comparado ao uso de nitrogênio apenas na cobertura. Ainda por este trabalho foi possível observar que a bactéria *A. brasilense* promoveu um aumento de produtividade quando associada à fertilização por nitrogênio. Devido à grande dependência do milho quanto à adubação nitrogenada e ao alto custo envolvendo a aquisição deste nutriente, se fazem importantes estudos que busquem otimizar a eficiência da inoculação do *A. brasilense*. Essa alternativa deve ser considerada

relevante para a produção do milho não só pelos alcances de produtividade, mas também pela redução da relação custo-benefício e pela manutenção da saúde do solo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelo presente trabalho, foi possível verificar que o N é um elemento fundamental para o desenvolvimento da cultura do milho mas, em condições inadequadas, pode comprometer diretamente o sistema imobilização-mineralização do elemento no solo. As diferenças encontradas para a RBS e apontadas pela PCA demonstram uma correlação positiva desse fator com os aspectos agrônômicos de importância para a produtividade. Portanto, esse atributo biológico, neste trabalho, serviu como um bom bioindicador das condições metabólicas dos tratamentos e para prever sobre perdas agrônômicas na lavoura. Por outro lado, também foi possível verificar que o N, aplicado em baixa quantidade num solo com alta densidade populacional (UFC), pode ser totalmente aportado para a biomassa. A inoculação de *A. brasiliensis* associada a 100 kg ha⁻¹ de N em cobertura produziu os melhores resultados para todos os aspectos avaliados neste experimento e, principalmente, foi o que obteve melhor produtividade.

REFERÊNCIAS

ABIMILHO. Associação Brasileira das indústrias do milho. **O cereal que enriquece a alimentação humana**. 2019. 1p. Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/milho/cereal>. Acesso em: 08 jun. 2019.

ALVES, M. V.; NESI, C. N.; NAIBO, G.; BARRETA, M. H.; LAZZARI, M.; FIORESI JUNIOR, A.; SKORONSKI, E. Corn seed inoculation with *Azospirillum brasilense* in different nitrogen fertilization management. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 3, p. 1981-1997, 2020.

BALOTA, E. L. **Manejo e qualidade biológica do solo**. Londrina: Mecenias, 2017. 288p.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. Dissertação (Mestrado em área de concentração em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, 42p., Guarapuava. 2013.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. *In*: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, p. 375-470, 2007.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2. ed. Piracicaba: Esalq, 2016. 221p.

CHALK, P. M. The strategic role of ^{15}N in quantifying the contribution of endophytic N_2 fixation to the N nutrition of non-legumes. **Symbiosis**, v. 69, n. 2, p. 63-80, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13199-016-0397-8>

CHEN, R.; ZHONG, L.; JING, Z.; GUO, Z.; LI, Z.; LIN, X.; FENG, Y. Fertilization decreases compositional variation of paddy bacterial community across geographical gradient. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 114, p. 181-188, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.07.013>

CIAMPITTI, I. A.; BOXLER, M.; GARCÍA, F. O. Nutrición de Maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. **Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica**. Ediciones IPNI. v. 48, n. 1, p. 14-18, 2010. Disponível em: [http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/2EB470FD702C566D85257984005754F1/\\$FILE/14.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lacs.nsf/0/2EB470FD702C566D85257984005754F1/$FILE/14.pdf). Acesso em: 25 fev. 2021.

COLODEL, J. R.; PIERANGELI, M. A. P.; SOUZA, M. F. P.; CARVALHO, M. A. C.; DALCHIAVON, F. C. Atributos físicos e biológicos de Argissolo vermelho-amarelo amazônico sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 287-297, 2018. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA17253>

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Perspectivas para a Agropecuária. Brasília, v. 6, p. 68-82, safra 2018/2019. Disponível em: https://www.conab.gov.br/...paraa.../22780_ee707c6e6d44f06fe7b6a86ce6141652. Acesso em: 08 jun. 2019.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Perspectivas para a Agropecuária. Brasília, v. 8, p. 58-73, safra 2020/2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 25 fev. 2021.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M. V. Análisis de la producción de cereales inoculados com *Azospirillum brasiliense* en la República Argentina. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. **Azospirillum sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, p. 153-164, 2008.

DIONÍSIO, J. A.; PIMENTEL, I. C.; SIGNOR, D.; PAULA, A. M. de; MACEDA, A.; MATTANA, A. **Guia prático de biologia do solo**. Curitiba: SBCS, 2016. Disponível em: http://www.dsea.ufpr.br/publicacoes/guia_pratico_biologia_solo.pdf. Acesso em: 25 fev. 2021.

DUETE, R. R. C.; MURAOKA, T.; SILVA, E. C.; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, E. J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (^{15}N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 161-171. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000100016>.

EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2006. 306p.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.

FRANCISCO, E. A. B.; KAPPES, C.; DOMINGUES, L.; FELIPPI, C. L. Inoculação de sementes de Milho com *Azospirillum brasilense* e Aplicação de Nitrogênio em cobertura. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012. **Anais [...]**. Águas de Lindóia, 2012.

FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L. M. G.; BERGAMASCH, H.; BERGONCI, J. I. Nitrogênio disponível ao milho: Crescimento, absorção e rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 11, p. 1143-1151, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662011001100006>.

GALVAO, J. C. C.; MIRANDA, G. V.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Revista Ceres**, v. 61, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000007>.

GIACOMINI, D. A.; AITA, C.; PUJOL, S. B.; GIACOMINI, S. J.; DONEDA, A.; CANTU, R. R.; DESSBESELL, A.; LUDTKE, R. C.; SILVEIRA, C. A. P. Mitigação das emissões de amônia por zeólitas naturais durante a compostagem de dejetos de suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 1, p. 521-539, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000700004>.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. **International Journal of Thermophysics**, v. 37, n. q, p. 1-11, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10765-016-2101-x>.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil**, v. 245, n. q, p. 83-93, 2002. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/24121058>. Acesso em: 25 fev. 2021.

HOFLING, J. F.; GONÇALVES, R. B. **Microscopia de luz em microbiologia**: Morfologia bacteria e fúngica. Porto Alegre: ArtMed, 2008. 244p.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina. 2011. (Embrapa Soja, Documento 325). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2021.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil - V: a method for measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90005-5).

KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, n. 1, p. 368-378, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.07.012>.

KÖRBER, L. P. P.; HASS, L. M.; FREITAS, G. P.; FRIGO, K. D. A.; BARREIROS, M. A. B.; GRANGE, L.; FRIGO, E. P. Atributos microbiológicos de um solo sob histórico de aplicação de água residuária de suínos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, v. 15, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i3a6663>.

LIBÓRIO, P. H. S.; BÁRBARO-TORNELI, I. M.; ANUCIAÇÃO, M. G.; *et al.* Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho. **Nucleus**, v. 13, n. 2, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1559>.

MAPA. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Executiva. **Milho para o estado do Paraná, ano safra 2018/2019**. Brasília: SPI, 2018. 14p. (Documento Básico).

MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; JUNIOR, F. B. R. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 32, n. 1/2, p. 191-209, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2015.v32.23311>.

NOGUEIRA, M. A.; MIYAUCHI, M. Y. H.; BINI, D.; ANDRADE, G. Microrganismos e Processos Microbianos como Bioindicadores de Qualidade Ambiental. *In*: YAMADA-OGATTA, S. F.; NAKAZATO, G.; FURLANETO, M. C.; NOGUEIRA, M. A. **Tópicos Especiais em Microbiologia**. Londrina: UEL, 2015. Cap. 17. p. 262-281.

NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 1687-1698, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32Supl1687>.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; SOLYMOS, P.; SIMPSON, G. L. *et al.* **Vegan**: Community Ecology Package. 2016. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>, R package version 2.3-1. Acesso em: 25 fev. 2021.

OLIVEIRA, I. J.; FONTES, J. R. A.; BARRETO, J. F.; PINHEIRO, J. O. C. **Recomendações Técnicas para o Cultivo de Milho no Amazonas**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, Manaus, 2020. (Circular técnica 68). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/183368/1/12018-Final.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2021.

PALLARDY, S. G. Nitrogen metabolism. **Physiology of Woody Plants**. 3. ed. San Diego: Elsevier, 2008. Chapter 9, n. 1, p. 233-254. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-012088765-1.50010-5>.

PANDOFO, C. M.; VOGT, G. A.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; GALLOTTI, G. J. M.; ZOLDAN, S. R. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Agropecuária Catarinense**, v. 27, n. 3, p. 94-99, 2015.

Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/RAC/article/view/567>. Acesso em: 25 fev. 2021.

PINHEIRO, C. H. N.; LIMA, V. M. M.; STIVA SILVA, V. L. Utilização de *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Scientific Electronic Archives Issue**, v. 13, n. 8, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/13820201044>.

PINTO, L. P.; PERUZZOLO, M. C.; HISTER, J. R. W. H.; FRIGO, E. P.; BARREIROS, M. A. B.; GRANGE, L. Alteração populacional e morfológicas da comunidade celulolítica de um solo sob aplicação de biofertilizante. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 8, n. 2, p. 455-467, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5380/rber.v8i2>.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2010. **Anais** [...]. Goiânia, 2010.

SAIKIA, S. P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable target or a dogma. **Current Science**, v. 92, n. 3, p. 317-322, 2007. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/24096726?seq=1>. Acesso em: 25 fev. 2021.

SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Bactérias Diazotróficas Associadas a Plantas Não-leguminosas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. Cap. 6, p. 97-115.

SILVA, W. M.; BARROS, J. A.; SILVA, J. M.; MEDEIROS, E. V. Respiração basal do solo arenoso misturado a diferentes fontes de matéria orgânica, inoculado com *Fusarium solani* CFF 109. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE, 13., Recife. 2013. **Anais** [...]. Recife: UFRPE, 2013. 3p.

SILVA, M. **Atividade da enzima redutase do nitrato em milho cultivado sob diferentes níveis de nitrogênio e potássio**. 2009. 37 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. N.; MINGOTTI, C. A. C.; NAETZOLD, S.; TONIN, T. J.; DOTTO, L. R.; MEINERZ, G. R. Effect of nitrogen topdressing fertilization and inoculation of seeds with *Azospirillum brasilense* on corn yield and agronomic characteristics. **Agronomy**, v. 9, n. 812, p. 1-11, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy9120812>.

TONIAZZO, F.; BECEGATO, V. A.; LAVNITCKI, L.; ROSA, M. M.; DA ROS, C. O.; BECEGATO, V. A.; LAVNITCKI, L.; HENKES, J. A.; CANTONI, F. Avaliação da liberação de CO₂ em solo com adição de águas residuárias suínícolas e impactos ambientais e sociais da suinocultura. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 7, n. 1, p. 253-274, 2018. DOI: <https://doi.org/10.19177/rgsa.v7e12018253-274>.

VICELI, J. M.; SOUZA, D. Z.; HANCKE, A.; RIBEIRO, R. Influência da sazonalidade na respiração basal microbiana em diferentes usos do solo no sudoeste do Paraná. *In: VI REUNIÃO PARANAENSE DE CIÊNCIAS DO SOLO - RPCS, 6., 2019. Anais [...].* Ponta Grossa: UPEG, 2019. 4p.