

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIENCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Paulo Eugênio Schaefer

**INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO NA
INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA E A RELAÇÃO COM DOSES
DE NITROGÊNIO, UMIDADE DO SOLO E pH'S EM SOLUÇÃO**

Santa Maria, RS

2016

Paulo Eugenio Schaefer

**INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO NA INTEGRAÇÃO
LAVOURA-PECUÁRIA E A RELAÇÃO COM DOSES DE NITROGÊNIO,
UMIDADE DO SOLO E pH'S EM SOLUÇÃO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre de Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Schaefer, Paulo Eugênio

INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO NA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA E A RELAÇÃO COM DOSES DE NITROGÊNIO, UMIDADE DO SOLO E pH'S EM SOLUÇÃO / Paulo Eugênio Schaefer.- 2016.

94 p.; 30cm

Orientador: Thomas Newton Martin

Coorientadores: Ubirajara Russi Nunes, Luciane Almeri Tabaldi

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-graduação em Agronomia, RS, 2016

1. Integração Lavoura-pecuária 2. Umidade do Solo 3. pH de solução 4. Bactérias Diazotróficas 5. Forragem I. Martin, Thomas Newton II. Nunes, Ubirajara Russi III. Tabaldi, Luciane Almeri IV. Título.

Paulo Eugênio Schaefer

**INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO NA INTEGRAÇÃO
LAVOURA-PECUÁRIA E A RELAÇÃO COM DOSES DE NITROGÊNIO,
UMIDADE DO SOLO E pH'S EM SOLUÇÃO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre de Agronomia**.

Aprovado em 10 de Agosto de 2016:

Prof. Dr. Thomas Newton Martin (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Prof^a. Dr^a. Luciane Almeri Tabaldi (UFSM)

Prof. Dr. Rodrigo Pizzani (SETREM)

Santa Maria, RS
2016

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, bases fundamentais da vida, que me deram seu amor em todos os momentos de minha formação profissional.

A vocês agradeço e dedico o início de uma caminhada que foi iniciada quando me ensinaram a andar e a falar! Amo vocês!

Aos meus irmãos Luciane e Gilmar, por uma forma ou outra me ajudaram!

Ao meu grande amigo Rodrigo, pela amizade e parceria sempre!

Ao Nelson e Marlene, que me acolheram como fosse seu filho, pela amizade, companherismo, ajuda em todos os momentos divertidos ou difíceis da vida desde quando cheguei ao Rio Grande do Sul! Muito Obrigado, sempre terei vocês n meu coração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a força que brota da fé em deus, pela sua proteção e mostrar seus caminhos.

A Universidade Federal de Santa Maria, pelo apoio estudantil desde a graduação e que se perpetuou nesta etapa da vida.

Ao professor Thomas Newton Martin pela oportunidade, ensinamentos e pelo caráter profissional e ético.

Ao professor Thomé Lovato, pelos conselhos que sempre nos guiarem por um caminho seguro, aprendizado nos depositado durante a caminhada que efetuamos juntos antes desta jornada.

Ao colegas de Pós Graduação e colegas de laboratório pela ajuda na execução das tarefas, discussão de assuntos e convívio neste período.

Ao Elton Luiz Schaefer, pela sua disponibilidade, seja no convívio para rodas de conversa ou suas ajudas na execução das tarefas do experimento.

Aos amigos Athos e Aline, pela colaboração na execução e na troca de conhecimentos dos experimentos realizados em casa de vegetação.

Aos meus coorientadores, prof. Ubirajara Russi Nunes e a prof(a) Luciane Almeri Tabaldi pelo auxílio na troca de conhecimento, suporte na execução do estudo e conselhos profissionais para crescimento profissional.

Ao amigo e também coorientador prof. Rodrigo Pizzani, mesmo não estando nesta instituição teve colaboração fundamental na realização deste estudo, bem como na minha formação profissional.

Enfim todos que de alguma forma auxiliaram para realização dos experimentos, contribuíram com trocas de conhecimento e dividiram as rodas de conversas.

Meus eternos agradecimentos, muito obrigado!

RESUMO

INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* EM MILHO NA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA E A RELAÇÃO COM AS DOSES DE NITROGÊNIO E UMIDADE DO SOLO E pH'S EM SOLUÇÃO

AUTOR: Paulo Eugênio Schaefer
ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

O uso contínuo de fertilizantes em altas concentrações vem alavancando as preocupações relacionadas com a poluição ambiental associados com a modernização e especialização dos sistemas de produção agrícola e de pecuária. Com isso, consumidores estão preocupados, e exigem que a produção nos sistemas agropecuários seja aliada a sustentabilidade e a eficiência produtiva. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho agrônômico da cultura do milho inoculado com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de nitrogênio em sistema de integração lavoura-pecuária manejado com diferentes massas de forragem pós-pastejo e interferências de fatores abióticos no desenvolvimento vegetativo da cultura. Três estudos foram conduzidos, sendo um a campo e dois em ambiente protegido. O estudo a campo foi conduzido no município de Mata, em um Argissolo Vermelho Distrófico arênico, no delineamento experimental de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, três repetições, em esquema fatorial 5x2x5 (massa de forragem pós-pastejo, *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio). As alturas de massa de forragem pós-pastejo compreenderam a 0,10m, 0,20m, 0,30m, pastejo convencional e sem pastejo, com doses de nitrogênio que variaram de 0, 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹, com e sem inoculação. Os estudos iniciaram no ano de 2014, com o manejo das forragens em dois invernos e dois anos de avaliação da cultura do milho em nível de campo nos anos agrícolas 2014/2015 e de 2015/2016. Os outros dois estudos em ambiente protegido foram conduzidos na Universidade Federal de Santa Maria, no período de novembro de 2015 a abril de 2016. Os tratamentos no primeiro estudo foram milho inoculado ou não, em solução nutritiva com cinco variações de pH's (4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5), em arranjo bifatorial com três repetições. No segundo experimento avaliou-se diferentes níveis de umidade do solo com e sem inoculação, com quatro repetições nas umidades de capacidade de campo 25%, 50%, 75% e 100%. Para ambos os estudos se usou o híbrido DEKALP 240 e o inoculante "AzoTotal" (líquido). No estudo de campo foi avaliado características agrônômicas e os componentes de produtividade da cultura do milho, do início ao fim do ciclo da cultura. Nos estudos em ambiente protegido as avaliações de parte aérea, e sistema radicular ocorreram até estágio fenológico V4. No estudo de campo, o desdobramento do fator inoculação foi constatado um incremento de 13% para utilização do *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes de milho para a safra 2014/15. O *Azospirillum brasilense* proporcionou um incremento no ganho produtivo de 4,5% em relação a sua ausência. Plantas com a presença da bactéria, melhoram seu sistema radicular em solo com estresse hídrico. Quando aumentou o volume de raiz, reduziu a parte aérea da cultura. A utilização das bactérias diazotróficas contribuiu para incremento dos pigmentos fotossintéticos nas folhas do milho quando em déficit hídrico. O desenvolvimento radicular e a parte aérea da cultura do milho, foram afetados pela variação do pH de solução. Diante desses resultados, a presença do *Azospirillum brasilense* favorece o crescimento das plantas, aumenta o volume de raiz e incrementa a produtividade de grãos, principalmente em anos de cultivo com menor precipitação pluviométrica durante a fase de crescimento das plantas. A presença do *Azospirillum brasilense* amplia a magnitude de pH's com possibilidade de cultivo para milho.

Palavras-chave: Bactéria diazotrófica. Nitrogênio. Palhada. pH de solução. Umidade do solo.

ABSTRACT

INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* IN MAIZE IN THE CROP-LIVESTOCK INTEGRATION SYSTEM AND THE RELATIONSHIP WITH NITROGEN DOSES AND SOIL HUMIDITY AND pH'S IN SOLUTION

AUTHOR: Paulo Eugênio Schaefer

ADVISOR: Thomas Newton Martin

Continuous use of fertilizer in high concentrations has been raising concerns on environmental pollution associated with the modernization and specialization of agricultural production and livestock systems. With this, consumers are understandably concerned and demand that production in agricultural systems be combined with sustainability and production efficiency. The purpose of this study was to evaluate the agronomic performance of maize inoculated with *Azospirillum brasilense* and different doses of nitrogen in crop-livestock integration system managed with different post-grazing forage masses and interference of abiotic factors on the vegetative development of the crop. Three studies were conducted, one in the field and two in a protected environment. The field study was conducted in the municipality of Mata, in a Rhodic Paleudalf, in the experimental design of randomized blocks with sub-divided plots, three repetitions, in factorial scheme of 5x2x5 (post-grazing forage mass, *Azospirillum brasilense* and doses of nitrogen). The heights of the post-grazing forage mass were 0.10m, 0.20m, 0.30m, conventional grazing and without grazing, with doses of nitrogen that varied between 0.75, 150, 225 and 300 kg ha⁻¹, with and without inoculation. Studies began in the year 2014, with the management of the forage in two winters and two years of assessing the crops at field level in the agricultural years of 2014/2015 and 2015/2016. The other two studies in protected environment were conducted at the Federal University of Santa Maria, from November 2015 to April 2016. The treatments in the first study were maize inoculated or not, in nutrient solution with five variations of pH (4.5; 5.0; 5.5; 6.0 and 6.5), in bifactorial arrangement with three repetitions. In the second experiment, different levels of soil humidity with and without inoculation were evaluated, with four repetitions in soil moisture field capacity of 25%, 50%, 75% and 100%. Both studies used the hybrid DEKALP 240 and inoculant "AzoTotal" (liquid). The field study was evaluated the agronomic traits and yield components of maize, from the beginning to the end of the crop cycle. In the studies conducted in a protected environment, evaluations of the shoot and root system occurred until the phenological stage V4. In the field study, the analysis of inoculation observed an increase of 13% for use of *Azospirillum brasilense* in the treatment of maize seed for the 2014/2015 harvest. *Azospirillum brasilense* provided an increase in productive gain of 4.5% in regards to its absence. It was possible to observe, therefore, that plants with the presence of the bacteria improve their root system in soil with hydric stress. When the root volume increased, part of the shoot of the crop decreased. The use of diazotrophic bacteria contributed to the increment of the photosynthetic pigments in the maize leaves when in water deficit. Root and shoot development of maize were affected by the variation of pH of solution. Given these results, the presence of *Azospirillum brasilense* favors plant growth, increases root volume and improves grain productivity, especially in years of cultivation with less precipitation during the stage of plant growth. The presence of *Azospirillum brasilense* extends the magnitude of pH with possibility of cultivation for maize.

Keywords: Diazotrophic Bacteria. Nitrogen. Straw. pH of solution. Soil humidity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Precipitação acumulada de chuva para a safra 2014/15 e 2015/16 para a cultura do milho. Mata, RS, 2016. S: semeadura, E: emergência, F: florescimento e MF: maturação fisiológica. 1: safra 2014/15 e 2: safra 2015/16. 28
- Figura 2 - Produção de fitomassa aérea da cultura do milho para a safra 2014/15 sem (a) e com inoculação de *A. brasilense* (b), fatores principais isolados (massa residual e inoculação de sementes [c], doses de nitrogênio [d]), e na safra 2015/16 sem (e) e com inoculação (f) em sistema ILP com semeadura direta. M10, massa residual pós pastejo 0,10m; M20, massa residual de 0,2m; M30, massa residual de 0,3m; SP, sem pastejo; PC, pastejo contínuo; C/AZ, com inoculação de sementes; S/AZ, sem tratamento de sementes com inoculante. *Letras distintas (minúsculas para fator massa residual e maiúscula para inoculação de sementes) apresentam significância a 5% de probabilidade. 37
- Figura 3 - Número de fileiras de grãos em espigas de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada (a) sobre diferentes resíduos pós pastejo sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2015/16 (b, c). 39
- Figura 4- Número grãos por fileira em espigas de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada sobre diferentes resíduos pós pastejo, sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2014/15 (a, b) e 2015/16 (c, d). 41
- Figura 5 - Massa de mil grãos de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada sobre diferentes resíduos pós pastejo, sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2014/15 (a, b) e 2015/16 (c, d). 43
- Figura 6 - Produtividade da cultura do milho em sistema ILP com a ausência e presença de inoculação de sementes com *A. brasilense* respectivamente para a safra 2014/15 (a, b) e safra 2015/16 (c, d) sob um Argissolo vermelho. 46
- Figura 7 - Matéria seca da raiz (MSR, a) e parte aérea (MSPA, b) de plantas de milho no estágio fenológico V4 submetidas a diferentes níveis de umidade de solo. Santa Maria, RS. 2016. 63
- Figura 8 - Eficiência do uso da água (EUA, a) e eficiência instantânea de carboxilação da rubisco (EiC, b) na folha do milho no estágio fenológico V3 submetido a diferentes níveis de umidade do solo. Santa Maria, RS. 2016. 65
- Figura 9 - Massa seca de raiz (MSR, a), volume radicular (VR, b) e comprimento radicular (CR, c) de milho submetido a diferentes potenciais hidrogênicos de solução nutritiva e inoculação com *A. brasilense* em casa de vegetação. Santa Maria, RS, 2015. 70
- Figura 10 - Massa seca de parte aérea (MSPA, a) e área foliar (AF, b) de plântulas de milho submetidas a diferentes pH's de solução nutritiva em casa de vegetação. Santa Maria, RS, 2015. 72

Figura 11 - Eficiência do uso da água (EUA, a) e índice de carboxilação da rubisco (EiC, b) em milho no estádio v4 submetido a diferentes pH's de solução e inoculação de sementes de milho. Santa Maria, RS, 2015..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa seca remanescente de forragem (MSRF) no momento da dessecação em sistema ILP em um Argissolo vermelho.	32
Tabela 2 - Índice de clorofila (SPAD) de plantas de milho em estágio fenológico V3 para diferentes níveis de umidade do solo (Ucc, %) e presença de inoculação de sementes em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2016.	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVO GERAL	14
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 CULTURA DO MILHO	16
2.2 INFLUÊNCIAS DO NITROGÊNIO NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DO MILHO	17
2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO – FBN	18
2.4 <i>Azospirillum brasilense</i> COMO ALTERNATIVA PARA A FBN	18
2.5 SISTEMA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA (SILP)	20
2.6 EFEITO DA PALHADA SOBRE OS MICRORGANISMOS DO SOLO	21
2.7 FATORES ABIÓTICOS E AS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS	22
3 CAPÍTULO I - DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM INTEGRAÇÃO LAVOURA- PECUÁRIA SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum brasilense</i> E NITROGÊNIO MINERAL	24
Resumo	24
Introdução	25
Materiais e Métodos	27
Resultados e Discussão.....	32
Conclusões.....	46
Referências	46
4 CAPITULO II - DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO SOB DIFERENTES PH'S, UMIDADES E PRESENÇA DE <i>Azospirillum brasilense</i>	55
RESUMO	55
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAIS E MÉTODOS	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
REFERÊNCIAS	84
ANEXO A. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS VARIÁVEIS DE MATÉRIA SECA (MS), NÚMERO DE FILEIRAS POR ESPIGA(NF), NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA (GF), MASSA DE MIL GRÃOS (MMG) E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG) DE MILHO EM SISTEMA INTERGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA, INOCULADOS COM A. <i>BRASILENSE</i> E SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO, PARA A SAFRA 2014/15. SANTA MARIA, RS, 2016.	91
ANEXO B. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS VARIÁVEIS DE MATÉRIA SECA (MS), NÚMERO DE FILEIRAS POR ESPIGA(NF), NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA (GF), MASSA DE MIL GRÃOS (MMG) E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS (PG) DE MILHO EM SISTEMA INTERGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA, INOCULADOS COM A.	

BRASILENSE E SUBMETIDOS A DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO, PARA A SAFRA 2015/16. SANTA MARIA, RS, 2016.	92
ANEXO C. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS VARIÁVEIS DE MATÉRIA SECA DE RAIZ (MSR), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), CLOROFILA A (CLO A), CLOROFILA B (CLO B), CLOROFILA TOTAL (CLO TOTAL), EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA (EUA) E ÍNDICE DE CARBOXILAÇÃO DA ENZIMA RUBISCO (EIC) DE MILHO EM ESTÁDIO FENOLÓGICO V4 SUBMETIDO A DIFERENTES NÍVEIS DE UMIDADE DO SOLO E INOCULAÇÃO DE SEMENTES COM A. <i>BRASILENSE</i>. SANTA MARIA, RS, 2016.	93
ANEXO D. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS VARIÁVEIS DE MATÉRIA SECA DE RAIZ (MSR), VOLUME RADICULAR (VR), COMPRIMENTO RADICULAR (CR), MASSA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA), ÁREA FOLIAR (AF), EFICIÊNCIA DO USA DA ÁGUA (EUA) E ÍNDICE DE CARBOXILAÇÃO DA ENZIMA RUBISCO (EIC) DE MILHO EM ESTÁDIO FENOLÓGICO V4 SUBMETIDO A DIFERENTES PH'S DE SOLUÇÃO E INOCULAÇÃO DE SEMENTES COM A. <i>BRASILENSE</i>. SANTA MARIA, RS, 2016.	94

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de grãos vem crescendo a cada ano, com a obtenção de cultivares com maior capacidade produtiva, mas em contrapartida mais exigentes em adubação mineral e condições de solo mais apropriadas ao desenvolvimento radicular. Dentre estas, o milho (*Zea mays* L.) destaca-se pela grande variabilidade de utilização, desde a alimentação humana e animal até para a produção de etanol.

Os sistemas agrícolas são impactados por fatores abióticos, que são limitantes a altos rendimentos nas culturas. Estudos foram e devem ser realizados para buscar alternativas para minimizar os fatores abióticos que causam influência na produtividade da cultura do milho, como o déficit hídrico e o pH do solo, considerados como maiores limitadores na produção da cultura. A cultura do milho exige solos com boa estrutura, principalmente no período de crescimento do sistema radicular, pois limitações nesse período vão repercutir no desenvolvimento das plantas, dificultando acesso à água e aos nutrientes contidos na solução do solo. O pH do solo é fundamental que esteja entre 5,5 e 7,5, pois este seria o pH tolerável pela cultura do milho.

O fator hídrico afeta significativamente o crescimento e o desenvolvimento de uma planta, pois sua frequência e intensidade constituem fatores importantes na limitação da produção agrícola mundial. Tanto a falta como o excesso de umidade causam efeitos desastrosos no desenvolvimento vegetal. Existe uma grande relação entre a necessidade de água e de nutrientes, aumentando a eficiência de utilização da água disponível e com isso a colheita. Isso mostra grande interação do déficit hídrico e aquisição dos nutrientes pelas raízes das plantas.

O excesso de água no solo causa alterações nos processos químicos e biológicos da planta, mas com menos problemas que o déficit hídrico, pois esse com intensidade deixam grandes prejuízos aos sistemas produtivos, afetando o desenvolvimento do agronegócio de qualquer país, principalmente em grandes culturas como o milho. Existem outros fatores ligados às perdas produtivas na cultura do milho, e por isso, desafios são lançados para se conseguir métodos eficientes para obter produções de alimento e energia renováveis sem que haja esgotamento dos recursos naturais.

O nitrogênio (N) é exigido em maior quantidade pelas plantas, em especial na cultura do milho, sendo responsável por grande parte do incremento na produção da cultura. O uso de altas doses de N vem contribuindo para o aumento do custo de produção da lavoura, pois as

fontes da matéria prima deste elemento na última década tiveram seu preço inflacionado. Outro fator observado é o risco de poluição ambiental ocasionados com a elevada empregabilidade deste elemento na forma mineral, principalmente em condições de intensas precipitações.

Neste sentido, o uso de tecnologias como o *A.brasilense* pode permitir a redução do uso do N mineral e possibilitar a redução no custo de produção. A utilização desta bactéria diazotrófica permite incrementos de rendimento em cereais em especial na cultura do milho na ordem de 20% aliado a busca da sustentabilidade do sistema, pela sua atividade simbiótica em disponibilizar N a planta, e complementarmente produzir fitormônios, responsáveis pelo estímulo no crescimento e desenvolvimento da planta. Existem ainda outros benefícios atribuídos nas plantas pela colonização da bactéria como o incremento em pigmentos fotossintéticos, solubilização de nutrientes, maior resistência a déficits hídricos e salinidade, e auxílio na prevenção de doenças pela competição com microrganismos fitopatogênicos.

Outra alternativa para aumentar a viabilidade econômica dos sistemas produtivos é a interação entre diferentes atividades econômicas. O sistema integração lavoura-pecuária (ILP) vem atrelado neste contexto, integrando a produção de grãos no período de verão e a criação de animais (bovinos, equinos e ovinos) no período de inverno. Mas para a obtenção de altos índices produtivos a pastagem de inverno necessita ser bem manejada para integrar bons ganhos futuros. O bom manejo da altura das massas residuais de forragem pós-pastejo está diretamente relacionado, pois contribui para uma melhor estruturação do solo, aporte de matéria orgânica, além de reter mais umidade pelo efeito de sua cobertura.

Neste contexto, a presente pesquisa se justifica em buscar alternativas em um sistema de produção inovador, visando à produção sustentável por meio de integração entre atividades agrícolas e pecuárias, buscando no *A. brasilense* associado a níveis de adubação nitrogenada e fatores abióticos, mecanismos de respostas para desempenho agrônomo do milho, viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* submetido a diferentes doses de N e massas residuais de forragem pós-pastejo na produtividade e características agrônomicas da cultura.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a influência da inoculação de sementes de milho na redução do uso de fertilizantes nitrogenados quando submetido a diferentes quantidades de massa de forragem pós-pastejo;
- b) Determinar à melhor quantidade de adubação nitrogenada complementar a inoculação com *A. brasilense* no rendimento da cultura do milho;
- c) Mensurar o efeito de diferentes níveis de pH de solução de cultivo na FBN do *A. brasilense* para o crescimento da cultura do milho;
- d) Estimar a interferência de diferentes níveis de umidade do solo no crescimento vegetativo inicial da cultura do milho quando inoculado com *A. brasilense*.

Para se atingir esses objetivos, a dissertação está dividida em dois capítulos sendo o Capítulo I intitulado como: Desempenho agrônômico do milho em integração lavoura-pecuária submetido à inoculação com *Azospirillum brasilense* e nitrogênio mineral; e formatado conforme as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira. E o Capítulo II intitulado como: desenvolvimento inicial do milho sob diferentes pH's, umidades e presença de *Azospirillum brasilense*; e formatado conforme as normas para publicação da revista *Acta Scientiarum Agronomy*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CULTURA DO MILHO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância social, econômica e cultural, principalmente no Brasil. Seu cultivo assume um relevante papel sócio econômico advindo pelas diversas utilizações como na alimentação humana, animal ou biocombustível (FANCELLI; DOURADO NETO, 2008). O grão tem alto valor nutritivo uma vez que contém cerca de 72% de amido, 10% de proteínas, 4,8% de óleo, 8,5% de fibra, 3,0% de açúcar e 1,7% de cinzas (TARIG; IQBAL, 1983). Com esta ampla empregabilidade e qualidade, esta cultura apresenta uma vasta área de cultivo no território brasileiro.

Aproximadamente 15,7 milhões de hectares são cultivados com milho, em sua maioria, por pequenos e médios agricultores (CONAB, 2016). Entretanto, baixos índices de produtividade têm sido obtidos em diversas regiões, sendo uma das principais causas à baixa disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente o nitrogênio (N) (OLIVEIRA et al., 2009). Segundo Fancelli (2003), tal deficiência pode reduzir o rendimento de grãos entre 14 e 80%. Para Bortolini et al. (2001), o nitrogênio é um nutriente importante para incrementos de rendimento mas sua limitação ocorre frequentemente em sistemas produtivos reduzindo a produtividade de grãos de milho.

Neste cenário, as produtividades médias de milho obtidas na safra 2015/16 foram de 4,8 Mg ha⁻¹, 4,2 Mg ha⁻¹ e 4,39 Mg ha⁻¹, na primeira safra, segunda safra e produção total, respectivamente (CONAB, 2016). Produtividades estas consideradas muito baixas, tendo em vista o elevado potencial de rendimento da cultura, conforme Sangoi et al. (2015) podendo atingir rendimentos superiores aos obtidos em seu experimento de 16 Mg ha⁻¹.

A cultura do milho se destaca em sua utilização no sistema ILP devido às várias aplicações que esse cereal possui dentro da propriedade agrícola (ALVARENGA et al., 2006). Segundo Silva et al. (2007), o milho, da forma que vem sendo manejado nas propriedades, e pelas suas características fisiológicas, torna-se beneficiado numa sucessão e/ou rotação de culturas.

Para Sangoi (2012), conhecer a cultura do milho é vital, para que o manejo seja utilizado no momento mais oportuno de desenvolvimento da cultura, podendo assim maximizar o potencial produtivo da cultura, uma vez que esse máximo rendimento só será obtido quando as condições ambientais são favoráveis em todos os estádios de desenvolvimento da cultura.

2.2 INFLUÊNCIAS DO NITROGÊNIO NAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DO MILHO

O N é um dos nutrientes considerados mais críticos para a produção agrícola e é geralmente aplicado em grandes quantidades em forma de fertilizante minerais nos solos (SINGH et al., 2007; KONG et al., 2008). Para a obtenção de elevados índices de rendimento esta cultura remove grandes quantidades de N, sendo em seu cultivo necessário um manejo adequado da adubação nitrogenada para complementar a quantidade de N fornecida pelo solo.

O nitrogênio é o fator mais limitante para a produtividade das plantas, principalmente as gramíneas. Assim, a aplicação de fertilizantes nitrogenados afeta profundamente as gramíneas em muitas maneiras. Rhykerd e Noller (1974) reforçam o papel do N nas culturas, como estimular o desenvolvimento de perfilhos, aumenta o tamanho da folha, e prolonga o período de folhas verdes. Além dessas características, Rambo et al. (2007), reforçam que o N é fundamental para o estabelecimento e a duração da área foliar, bem como para a formação das espigas, interferindo tanto na magnitude da fonte produtora de fotoassimilados quanto na força do dreno que irá recebê-los.

Segundo Mansouri-Far e Savany (2010) o aumento na oferta de N para a cultura promove incrementos de rendimento, em quantidades de até 200 Kg de N ha⁻¹. Para Amaral Filho et al. (2005), Ohland et al. (2005) e Pavinato et al. (2008), quantidades de 150, 200 e 280 kg de N ha⁻¹ em cobertura, respectivamente expressaram o máximo potencial produtivo da cultura. Conforme Duete et al. (2008) a cultura do milho exige em média de 23,8 kg de N para cada tonelada de grãos produzidos. Para Debruin e Butzen (2014) nessas situações, o fertilizante nitrogenado pode representar de 15 a 20 % dos custos variáveis da lavoura.

No entanto, os fertilizantes nitrogenados amplamente utilizados na agricultura moderna são oriundos de combustíveis fósseis que são fontes não renováveis, e como Cantarella (2007) relata, tais fertilizantes são um dos insumos mais caros no custo de produção da cultura do milho. Além de seu alto custo, Eiras e Coelho (2011) salientam que o uso intensivo deste fertilizante tende a gerar problemas ambientais como contaminação do solo e da água com nitratos. Zhao et al. (2006) indicam que o movimento de NO₃ no solo fora da zona radicular das plantas é uma importante via de perdas de N principalmente em sistema de rotação de milho e trigo nas planícies do norte da China.

Para Dambreville et al. (2008) o manejo do N é importante na melhoria do rendimento e qualidade das culturas, mas, contudo há necessidade da busca pela mitigação dos efeitos

negativos das perdas de fertilizantes nitrogenados. Assim, existe uma crescente necessidade pela sustentabilidade ecológica dos sistemas agrícolas de produção, neste contexto, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode suplementar ou até mesmo substituir a utilização destes fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al., 2010).

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO – FBN

Mesmo apesar da grande disponibilidade de N existente na atmosfera, 78,3% de N₂, este nutriente é limitado nos sistemas produtivos. O N₂ molecular não pode ser assimilado diretamente pelas plantas, mas torna-se disponível através do processo de fixação biológica de nitrogênio. A proliferação de bactérias no solo aderente à superfície da raiz foi descoberta no fim do século XIX, ao mesmo tempo que a descoberta de fixação do N (FRANCHE et al., 2009). O N representa cerca de 2% da matéria seca total da planta que entra na cadeia alimentar, e as plantas absorvem esse elemento disponível no solo através de suas raízes sob a forma de amônio e nitrato (SANTI et al., 2013).

A demanda global de fertilizantes nitrogenados para 2016 foi projetada para 117 milhões de toneladas (CANFIELD et al., 2010). Os mesmos autores estimam que a cada ano sejam incorporados no solo 140 kg de N, através da fertilização de N inorgânico. Além disso, as plantas geralmente só ocupam 30-40% do N aplicado ao solo (RAUN; JOHNSON, 1999).

Globalmente, a contribuição anual de FBN para os diferentes ecossistemas está entre 170 a 258 milhões de toneladas de N (Galloway et al. 1995; FOWLER et al., 2015). Para Rubio e Ludden (2008) o processo da FBN é responsável por cerca de 65% do nitrogênio total fixado, a nível mundial. Os micro-organismos neste contexto contribuem pelas estimativas com 175 milhões de toneladas de N₂ atmosférico por ano e cerca de 70% de toda a fixação de N₂ sobre a terra (PETER et al., 2002).

Organismos fixadores de N₂ são capazes de melhorar a fertilidade do solo, bem como melhorara disponibilidade de nutrientes as plantas e absorção de água através da produção de produtos químicos, tais como hormônios (BADAWI et al., 2011). Existem vários microorganismos que apresentam papel fundamental nos sistemas produtivos, como o *Azospirillum brasilense*, espécie com capacidade associativa a gramíneas.

2.4 *Azospirillum brasilense* COMO ALTERNATIVA PARA A FBN

Bactérias do gênero *Azospirillum* são associativas a rizobactéria de fixação de nitrogênio (N₂) que se encontram em estreita associação com as raízes das plantas. Elas são capazes de exercer efeitos benéficos sobre o crescimento das plantas e rendimento de muitas culturas sob uma variedade de condições ambientais e de solo, mitigação de estresse e controle biológico da microbiota patogênica (SAIKIA; JAIN, 2007; BASHAN; BASHAN, 2010).

Vários estudos foram realizados sobre a colonização, processo e o estabelecimento de *Azospirillum* em diferentes gramíneas. Um dos primeiros estudos feitos usou o método de redução de tetrazólio (PATRIQUIN; DÖBEREINER, 1978). Apesar desta metodologia e os resultados terem sido sujeitos a críticas, a colonização intercelular de plantas de milho e trigo por *Azospirillum* tem sido confirmada mais recentemente por técnicas moleculares (ASSMUS et al., 1995).

A rizobactéria promotora de crescimento vegetal (RPCV), *Azospirillum brasilense* tem sido conhecida por um longo tempo por exercer uma influência benéfica sobre plantas inoculadas (BALDANI; BALDANI, 2005), como o milho e o trigo, por isso, tem sido recomendada para o uso em inoculantes comerciais no Brasil (HUNGRIA et al., 2010). Considerada uma diazotrófica, é usada como um organismo modelo em estudos de promoção associativa de crescimento vegetal (OKON; HEYTLER; HARDY, 1983), tendo recentemente seu genoma publicado (WISNIEWSKI-DYE et al., 2011). Segundo Ardakani et al. (2011), a presença dessas bactérias ocorre naturalmente na maioria dos solos com ampla diversidade genética; porém, para sua utilização como inoculantes em culturas agrícolas, faz-se necessária uma seleção de estirpes eficientes para este fim.

Nesse sentido, vários trabalhos com *Azospirillum spp.* têm demonstrado aumento no rendimento de massa seca e o acúmulo de nutrientes por plantas inoculadas (REIS JÚNIOR et al., 2008) e na produtividade de grãos de milho (DOBBELAERE et al., 2002, HUNGRIA et al., 2010). A utilização de linhagens de *Azospirillum spp.* promoveu aumento significativo na produção de grãos, no conteúdo de nitrogênio, potássio e fósforo total das plantas (BASHAN et al., 2004), na matéria seca da parte aérea e no acúmulo de nitrogênio nas raízes (DOS REIS et al., 2008).

O grande interesse por parte dos pesquisadores pelo gênero *Azospirillum* estão relacionados com os resultados obtidos com a inoculação com tal bactéria perfazendo taxas de sucesso entre 60 e 70%, com aumentos significativos na produtividade de grãos entre 5 e 30% (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994). Mas estudos devem ser realizados para analisar a que ponto o nitrogênio pode influenciar negativamente a *Azospirillum*. Dartora et al.

(2013) verificaram que plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* responderam a sua máxima produção em massa seca da parte aérea até a dose de 118 kg ha⁻¹ de N em cobertura, sendo que, em doses superiores ocorrem decréscimos na produção de massa seca.

Para Okon e Vanderleyden (1997) ganhos por meio da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* de milho vão além da FBN. Cassán et al. (2008) complementam que as bactérias diazotróficas também podem atuar estimulando o crescimento vegetal, gerando aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas. Para Correa et al. (2008) as bactérias também auxiliam na produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e atuam como agentes de controle biológico de patógenos

2.5 SISTEMA INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA (SILP)

O monocultivo e as práticas culturais inadequadas têm causado perda de rendimento de grãos, degradação do solo e dos recursos naturais. A reversão desse quadro pode ser alcançada por meio de tecnologias, como o sistema de semeadura direta (SSD), com preparo mínimo do solo e prática de rotação de culturas, e os sistemas de integração lavoura-pecuária (SILP) (LOSS et al., 2011).

O SILP pode ser definido como a alternância temporária ou a rotação, numa mesma área, de culturas de fins econômicos e pastagens destinadas à produção animal, que resultam interações no sistema solo-planta-animal-atmosfera. Para a região Sul do Brasil as opções de formação das pastagens anuais de inverno são aveia e o azevém, sendo culturas sucessoras no verão a soja ou o milho semeadas principalmente em sistema de plantio direto (LANZANOVA et al., 2007; LOPES et al., 2008; MORAES et al., 2014).

O manejo das pastagens de inverno é decisivo não somente para a obtenção de bons rendimentos zootécnicos, mas também para definir o potencial produtivo das culturas de verão, especialmente no sistema de plantio direto (NICOLOSO; LANZANOVA; LOVATO, 2006), e garantir a sustentabilidade do sistema. Seu pastejo diferenciado influencia processos importantes como a mineralização/imobilização de N (SINGH et al., 1991) e aumenta a taxa de reciclagem de N resultante da deposição de urina e fezes (BAUER et al., 1987).

Para Loss et al. (2011) e Silva et al. (2011), a pastagem proporciona à lavoura um solo melhor estruturado, em função do sistema radicular abundante e do resíduo de material orgânico deixado na superfície e em subsuperfície do solo. Segundo Souza et al. (2008), sob alta intensidade de pastejo, ocorre maior crescimento radicular, tanto da pastagem quanto da

cultura de grãos integrante do sistema e, com isso, o aporte de matéria orgânica em profundidade será influenciado.

A presença dos animais na lavoura pode ajudar na melhoria de muitos atributos, desde que seja bem manejado o sistema. Franzluebbbers e Stuedmann (2008) enfatizou a importância do tráfego de animais na incorporação de resíduos vegetais no solo. Comparando áreas pastejadas a não pastejadas, o autor afirma que o processo biológico de incorporação é a razão para o aumento de processos de mineralização e biomassa microbiana do solo em áreas sob pastejo.

Diferentes frequências e intensidades de desfolhamento influenciam na formação de novos tecidos sua composição bioquímica dos resíduos afetando a relação C/N do processo de decomposição (PARSONS; CONGDON, 2008), concentrações de N nos tecidos e da população microbiana do solo (LOSS et al., 2012). Segundo Assmann et al. (2015), o N está ligado a C nos resíduos orgânicos e torna-se disponível através de mecanismos de quebra da ligação química (mineralização) por microrganismos.

2.6 EFEITO DA PALHADA SOBRE OS MICRORGANISMOS DO SOLO

A comunidade microbiana do solo na sua relação com a planta é diretamente influenciada pelas condições ambientais as quais são expostas. Em ecossistemas aonde ocorre aborte de cobertura vegetal permanente, perfaz-se uma proteção contínua do solo e a adição de grandes quantidades de nutrientes via ciclagem, em especial o N. Segundo Moreira e Siqueira (2006), quando ocorrer modificações significativas nas propriedades físico-químicas do solo causadas pelos diversos usos seja por adição ou remoção de elementos e/ou práticas de cultivo poderão causar alterações na comunidade microbiana.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes nos ecossistemas, sendo exigido em maior quantidade pelas plantas e/ou microrganismos, seja para o crescimento, desenvolvimento, reprodução ou decomposição. Esta sua grande utilização é um grande determinante para as mudanças do pH da rizosfera das plantas exploradas, principalmente pelos processos químicos que estão relacionados com a absorção deste elemento. Embora os efeitos do pH do solo sejam difíceis de serem avaliados, pois muitas propriedades químicas do solo variam com as alterações deste fator (BAGYARAJ, 1991), o pH do solo influencia qualitativa e quantitativamente os microrganismos, refletindo-se na ocorrência das espécies nas plantas.

Outro fator ambiental relacionado com a sobrevivência da diferente gama de microrganismos é o teor de umidade do solo. Reis Junior et al. (2000) atribui este fator como limitante para o isolamento destas espécies nos ecossistemas brasileiros.

Alguns trabalhos em laboratório mostram que a palhada imobiliza de 12 a 16 kg de N por Mg de palha, o que poderia chegar a 50 a 60 kg de N ha⁻¹ (MARY et al., 1996, BHOGAL et al., 1997). Lindén e Engström (2006) relatam que a palhada pode imobilizar de 2 a 4 kg de N por Mg de palha. No entanto, existem poucos estudos de campo em grande escala comparando a dinâmica do N no solo após a incorporação da palhada. Além disso, a reação de adição de resíduos de plantas parece variar com o clima e também do tipo de solo (NYBORG; MALHI, 1989).

2.7 FATORES ABIÓTICOS E AS BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Estresses abióticos são consideradas as principais causas de redução da produção agrícola. Contudo, a intensidade de estresse abiótico varia conforme o tipo de solos (deficiência hormonal e de desequilíbrios nutricionais) e fatores do vegetal (distúrbios fisiológicos, susceptibilidade a doenças) (NADEEM et al., 2010).

Segundo Bano et al. (2013), as rizobactérias têm um grande potencial para facilitar o crescimento e produtividade das plantas. Outra eminência notável sobre este grupo de bactéria esta a sua capacidade em se associarem as plantas em ambientes com algum tipo de estresse. Quando se desenvolvem em solos expostos a estresses abióticos, as populações de rizobactérias se adaptam a tais condições de tensão, desenvolvendo tolerância e, além disso, podem ser isoladas e ser usada como inóculo para plantas cultivadas em ambientes com problemas semelhantes (SANDHYA et al., 2010, SOUZA et al., 2015).

Gonzalez et al. (2015) utilizando *A. brasilense* para melhorar a tolerância ao sal da planta de jojoba durante o enraizamento in vitro observou a redução dos efeitos indesejáveis das condições de salinidade, no enraizamento de jojoba. Isso indica que a presença de *A. brasilense* aumenta a tolerância de plantas ao estresse salino.

Fasciglione et al. (2015) também usou *Azospirillum* para estudar o crescimento de alface sob estresse salino. Eles encontraram que a inoculação com *Azospirillum sp.* não só melhora a qualidade da alface, mas também se estende ao armazenamento de uma alface cultivada sob estresse salino, o que melhora ainda mais o rendimento.

Entre esses estresses abióticos, a seca está se tornando mais prevalente especialmente em regiões áridas e semiáridas do mundo, onde severamente influencia as colheitas (SANDHYA et al., 2010, HAMAYUN et al., 2010). Para Wahbi e Sinclair (2007), o déficit hídrico é normalmente o fator ambiental mais incidente sobre o crescimento das plantas, uma das características fundamentais desse tipo de ambiente, restringindo o rendimento das culturas. O déficit hídrico influencia aspectos fisiológicos, bioquímicos e metabolismo sendo a disponibilidade de água essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas (SHAO et al., 2008).

A interação simbiótica das plantas com microrganismos benéficos pode proteger as plantas de estresses bióticos e abióticos (MASCHER et al., 2002). Interação essa, tem potencial para alterar o estado nutricional e de produtividade, podendo elevar o rendimento das culturas a um nível notável (BANO et al., 2013).

Vários estudos têm mostrado que a cultura do milho é capaz associar-se a organismos fixadores de N que colonizam sua rizosfera (DING et al., 2005; NAUREEN et al., 2005; PERIN et al., 2006; MEHNAZ et al., 2007). Esta interação dos organismos como as bactérias promotoras de crescimento de plantas, melhoram o acúmulo de biomassa e massa médio das plantas, reduzem e melhoram o aproveitamento da água em comparação a sua ausência (SYNDHYA et al., 2010).

A acidez do solo é outro fator abiótico que também apresenta limitação ao processo de FBN, limitando os processos associativos. Segundo Rufini et al. (2011) O fato de os inoculantes serem produzidos com o pH próximo à neutralidade pode limitar a adaptação das estirpes às condições de acidez dos solos e, conseqüentemente, a simbiose efetiva. Bactérias do gênero *Azospirillum* requerem pH próximo de neutro para o seu crescimento para maior eficiência no processo da FBN (INAGAKI et al., 2014).

Trabalhos de campo realizados por Dartora et al. (2013) e Inagaki et al. (2014), onde híbridos de milho foram submetidos a inoculação com *A. brasilense* sob solo com diferentes pH's, obtiveram maior acúmulo de matéria seca de raiz e altura de planta em pH com variação entre 5,0 a 5,5.

Inagaki et al. (2015), trabalhando com milho em diferentes níveis de pH, obtiveram o maior diâmetro da haste em pH 5,5, em relação a outros níveis de pH testados. Este estudo conclui que em condições de acidez do solo e da ausência de suprimento de N pode ter fornecido condições de estresse para as plantas de milho, que podem ser melhoradas pela colonização das plantas por bactérias diazotróficas, provocando assim um aumento no diâmetro do caule e área foliar da cultura do milho.

3 CAPÍTULO I - Desempenho agrônômico do milho em integração lavoura- pecuária submetido à inoculação com *Azospirillum brasilense* e nitrogênio mineral

Resumo: O uso de bactérias diazotróficas em sistemas com grande aporte de nitrogênio, além de reduzir a utilização da adubação mineral, mitiga riscos de contaminação ambiental pela capacidade de fixação biológica de nitrogênio pela bactéria. Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* quando submetido a diferentes doses de nitrogênio e sistemas de massas residuais de forragem pós-pastejo sobre os componentes de produtividade. O experimento foi conduzido durante as safras 2014/15 e 2015/16 em uma área de integração lavoura-pecuária no município de Mata (RS), sob um Argissolo Vermelho distrófico arênico. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso em esquema trifatorial, dispondo-se em parcelas subdivididas. A massa residual pós pastejo (0,10; 0,20; e 0,30m; pastejo contínuo e sem pastejo) na parcela principal, nas subparcelas foi alocado o fator inoculação (com e sem tratamento de sementes com *Azospirillum brasilense*) e nas subsubparcelas inseridas as doses de nitrogênio (0, 75, 150, 225, 300 kg ha⁻¹) em três repetições. O aumento da massa de forragem pós-pastejo associado à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio contribuem para o aumento da produção de fitomassa e produtividade da cultura do milho em sistema integração lavoura-pecuária. Na dose 300 kg de N foi obtido a maior produtividade para a introdução e ausência da bactéria. A *Azospirillum brasilense* auxilia o crescimento e rendimento de plantas de milho, mas não substitui o efeito da adubação nitrogenada.

Termos para indexação: forrageiras, adubação nitrogenada, bactéria diazotrófica, sistemas integrados.

*Agronomic performance of maize in crop-livestock integration submitted to inoculation with *Azospirillum brasilense* mineral nitrogen.*

Abstract: The use of diazotrophic bacteria in systems with large amount of nitrogen, in addition to reducing the use of mineral fertilizer, mitigates risks of environmental contamination by biological nitrogen fixation capacity by the bacteria. The objective was evaluate the effect of inoculating maize seeds with *Azospirillum brasilense* when subjected to different doses of nitrogen and residual post-grazing forage masses over productivity components. The experiment was conducted during the 2014/15 and 2015/16 seasons in an area of crop-livestock integration in a Typic Paleudult at the municipality of Mata (Rio Grande do Sul state). The experimental design was randomized blocks in trifactorial scheme and arranged in subdivided plots. The residual post-grazing mass (0.10; 0.20; and 0.30m; continuous grazing and without grazing) in the main plot, the inoculation factor was allocated in the subplots (with and without seed treatment with *Azospirillum brasilense*) and nitrogen doses inserted in the subplots (0.75, 150, 225, 300 kg ha⁻¹) in three repetitions. Increased forage mass post-grazing associated with the seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen doses contribute to increased production of phytomass and productivity of maize in crop-livestock integration system. The highest productivity was obtained in the 300 kg nitrogen dose for the introduction and absence of the bacteria. *Azospirillum brasilense* helps the growth and yield of maize crops, but does not substitute the effect of nitrogen fertilization.

Index terms: forage plants, nitrogen fertilization, diazotrophic bacteria, integrated systems.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais produzido no mundo, na frente de commodities importantes como trigo, arroz e soja, com 959,79 milhões de toneladas produzidos na safra 2015/16, sendo das quais 70 milhões de ton. colhidos no Brasil, colocando o país como terceiro maior produtor deste grão (USDA 2016). Mas os índices de produtividade (4,43 ton

ha⁻¹) em cenário mundial ainda estão baixos, com média inferior ao país vizinho Argentina (8,0 ton ha⁻¹) e aos maiores produtores mundiais, Estados Unidos e China com respectivamente 10,57 e 5,89 ton ha⁻¹ (USDA 2016). Atrelado a este contexto, encontra-se a grande demanda do cereal para a alimentação humana e animal, com destaques para aves, bovinos e suínos (Purwanto et al., 2015).

Com a necessidade em aumentar a produtividade e a produção de grãos, novas tecnologias com o princípio de sustentabilidade e agregação de valor são inseridos nos sistemas produtivos. A integração lavoura-pecuária (ILP) surge como alternativa para produzir grãos como milho e pastagens, aproveitando seus benefícios mútuos (Sandini et al., 2011). A alta adição de resíduos vegetais na superfície do solo proporciona melhoria nas qualidades físico-químicas (Mendonça et al., 2013) e biológicas do solo (Santos et al., 2011), como a adição de matéria orgânica ao solo (Bayer & Mielniczuk, 2008).

Dessa forma, na necessidade de aumentar o índice produtivo tem-se optado para uma maior utilização da adubação nitrogenada, visto que a grande maioria dos solos apresenta baixa concentração deste nutriente, não perfazendo a necessidade requerida pela planta para seu crescimento (Spera et al., 2009). Mas o aporte excessivo de adubos nitrogenados, além de onerar o custo de produção, ocasiona efeitos adversos sobre o meio ambiente através de extensa química escoada nos cursos de água, como o nitrato (Walker et al., 2012). A utilização do processo fixação biológica do Nitrogênio (FBN) neste contexto, visa além de reduzir os custos de fertilizantes químicos nitrogenados, mitigar impactos ambientais, também proporcionar melhor desenvolvimento vegetal e ganhos produtivos (Bhattacharyya & Jha, 2012; Filgueiras & Meneses, 2015).

A seleção de bactérias mais eficientes na FBN (De-Basan et al., 2012) aliados a outros mecanismos como a produção de substâncias promotoras de crescimento e solubilizadoras de nutrientes tornam as bactérias diazotróficas uma alternativa imprescindível para associação

com gramíneas como o milho (Basan & De-Basan 2005; Quadros, 2009; Hungria et al., 2010). O gênero *Azospirillum*, bactéria associada a várias espécies de plantas, entre elas o milho (Piccinin et al., 2011), tem aumentado a capacidade entre 12% a 14% (Kuss, 2006), e com a espécie *A. brasilense* aumentos de até a 30% (Hungria et al., 2010). Outras características das plantas além da produtividade são afetadas pela bactéria diazotrófica como altura de planta, diâmetro de caule, índice de clorofila, massa seca de caule e raiz (Okon & Vanderleyden, 1997), e comprimento da espiga (Costa et al., 2015).

No Brasil, estudos envolvendo bactérias do gênero *Azospirillum* e adubação nitrogenada na cultura do milho, e em sistema ILP, são poucos ou não se tem resultados ainda. Bartchechen et al. (2010) salientam que a utilização de bactérias do gênero *Azospirillum* na cultura do milho depara com limitações, principalmente a inconsistência dos resultados de pesquisa, que variam de acordo com a cultivar, as condições edafoclimáticas e a metodologia de condução dos ensaios. Com o intuito de ajudar a esclarecer alguns resultados nesse sistema se deu a realização desse trabalho, o qual objetivou avaliar o desempenho agrônomo do milho em razão do tratamento de sementes com *A. brasilense* e diferentes doses de N mineral, em sistema integração lavoura-pecuária.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no município de Mata, Rio Grande do Sul, durante os anos agrícolas de 2014/2015 e de 2015/2016. As coordenadas geográficas do local são 29° 34' 07" de latitude sul e 54° 27' 29" de longitude oeste, com altitude de 103 m. O clima da região é do tipo Cfa subtropical (Peel et al., 2007). A temperatura média normal do mês mais quente ocorre em janeiro (24,6 °C) e a do mês mais frio em junho (12,9 °C). As chuvas são distribuídas regularmente em todos os meses do ano, com precipitação pluvial anual oscilando

entre 1.500 e 1.750 mm. Os dados de precipitação foram obtidos com a ajuda de pluviômetro de campo (Figura 1).

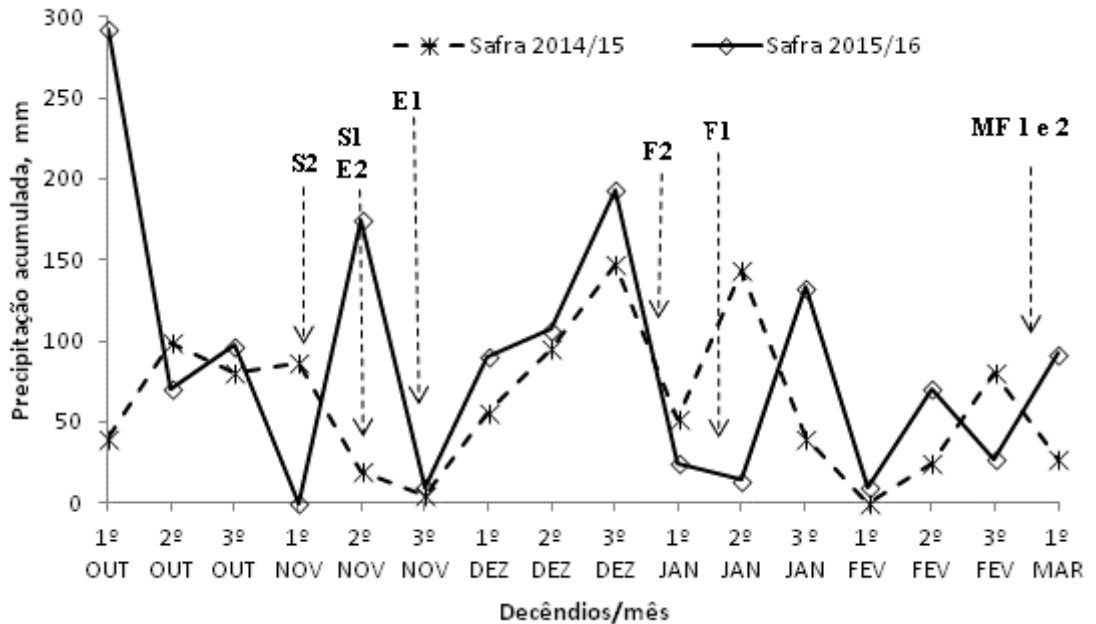


Figura 1. Precipitação acumulada de chuva para a safra 2014/15 e 2015/16 para a cultura do milho. Mata, RS, 2016. S: semeadura, E: emergência, F: florescimento e MF: maturação fisiológica. 1: safra 2014/15 e 2: safra 2015/16.

O solo da área experimental é classificado como um Argissolo Vermelho Distrófico arênico (SiBCS, 2006), com textura arenosa (557, 195 e 248 g kg⁻¹ areia, argila e silte, respectivamente, na camada de 0-0,10 m), cujas características químicas são: 5,0 pH em H₂O; 87,76 mg dm⁻³ de P (Extrator Mehlich-1); 68,1 mg dm⁻³ de K; 12,4 g kg⁻¹ de matéria orgânica; 1,77 cmol_c dm⁻³ de Ca⁺²; 0,60 cmol_c dm⁻³ de Mg⁺² e CTC_{pH7,0} de 6,92 cmol_c dm⁻³ (Tedesco et al., 1995).

A área experimental é cultivada em sistema de Integração Lavoura-Pecuária em semeadura direta (ILP-SD) desde 2009, utilizando a cultura do milho (*Zea mays* L.) no período de verão e sucessão com o consórcio de aveia-preta (*Avena strigosa*) e azevém

(*Lolium multiflorum* Lam.), na proporção de 100 kg ha⁻¹, 25 kg ha⁻¹ de sementes viáveis respectivamente, sendo estas semeadas a lanço e incorporadas com uma leve gradagem.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados dispostos em parcelas subdivididas, com três repetições e os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 5x2x5. Os fatores avaliados foram massa de forragem pós-pastejo (período hibernar), inoculação com *A. brasilense* e doses de nitrogênio. Nas parcelas principais, foram alocados os níveis de alturas de massa de forragem pós-pastejo, sendo elas: 0,10 m (M-10); 0,20 m (M-20) e 0,30 m (M-30) pastejo contínuo (PC), com área de 500 m², com intensidade de pastejo livre para os animais e o tratamento testemunha sem pastejo (SP). Nas subparcelas foram testadas a presença ou ausência da inoculação das sementes com *A. brasilense*, contendo as estirpes AbV5 e AbV6, numa concentração de 2,0 x 10⁸ Ufc ml⁻¹ (“AzoTotal”- líquido). Nas subsubparcelas, foram alocadas as doses de N, correspondendo a 0, 75, 150, 225 e 300 kg de N ha⁻¹. Foram aplicados 20% do N recomendado na semeadura; e o restante da dose prevista, em cada tratamento em cobertura. A expectativa de produtividade almejada foi de 12Mg ha⁻¹. Cada subsubparcela foi composta por quinze fileiras de 3 m de comprimento. Todas as avaliações foram feitas nas fileiras centrais, sendo as coletas realizadas em 2 m lineares dentro de cada uma das subparcelas.

A cultivar de milho utilizada foi a “DEKALB 240” VT PRO 2, um híbrido simples e ciclo superprecoce que foi manejada conforme a recomendação das indicações técnicas para o cultivo de milho e do sorgo no Rio Grande do Sul para a safra 2013/14 e 2014/15 (Reunião técnica anual do milho, 2013). A densidade final de 66.000 plantas ha⁻¹. Realizou-se a adubação de manutenção no dia da semeadura conforme expectativa de produtividade, aplicando-se 0; 15; 30; 45 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, 350kg ha⁻¹ da fórmula 0-23-30 (NPK), conforme a Comissão de Química e Fertilidade do Solo (CQFS, 2004). A adubação de cobertura com N foi feita conforme as doses de cada tratamento, na linha de semeadura,

realizada em duas aplicações, quando as plantas se encontravam no estágio fenológico V3-V4 e V7-V8 da escala de Ritchie et al. (1993). A fonte de N utilizada no ensaio foi ureia.

As diferentes alturas de massas da pastagem de inverno foram obtidas com pastejo de vacas lactantes da raça Jersey com massa corporal média de 350 Kg. Cada parcela pastejada possuía 14 metros de largura e 15 metros de comprimento. As áreas não pastejadas foram isoladas dos animais, por cerca elétrica. Foram realizados três pastejo em cada ano agrícola estudado, iniciando-se o primeiro quando se obteve uma média de 1,5Mg de MS ha⁻¹. A saída dos animais era controlada por alturas pretendidas de saída da forragem, usando o método da régua (*sward stick*), adaptado de Barthram (1985), em que um marcador, no caso uma lâmina de retroprojeter, desloca-se por um bastão graduado até tocar em alguma superfície foliar do dossel.

Após a saída dos animais, foram realizados três cortes destrutivos da pastagem em locais aleatórios, delimitados por um quadrado de metal de 0,25 m², obtidas por corte com tesoura, rente ao solo. Posteriormente, estas foram pré-secadas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas e posteriormente pesadas em balança de precisão. Realizou-se, então, dessecação da pastagem com herbicida de princípio ativo glyphosate (360 g i.a ha⁻¹), respeitando um intervalo de 15 dias para realizar a semeadura em plantio direto.

As semeaduras das unidades experimentais foram realizadas nos dias 15 de novembro de 2014 e 03 de novembro de 2015, utilizando semeadora de 5 linhas. Posteriormente, quando as plantas se encontravam no estágio fenológico de V1 (uma folha expandida) (Ritchie et al., 1993). O espaçamento entre fileiras para ambos os níveis de manejo foi de 0,45 m.

As sementes já vieram tratadas da empresa, com o produto Cropstar FS600 (i.a. Imidacloprid 150g/L + Tiodicarbe 450g/L). Antes da operação da semeadura, as sementes dos tratamentos com inoculação foram misturadas com bactérias do gênero *A. brasilense*,

utilizando o produto comercial “AzoTotal”, na dose de 300 mL para 60.000 sementes, ou seja, três vezes mais do que a recomendação. A inoculação foi feita minutos antes da semeadura.

Para o controle de plantas daninhas, foram efetuadas aplicações de herbicida com princípio ativo glyphosate (360 g i.a ha⁻¹). No controle de pragas, foram realizadas aplicações de Imidacloprido + Beta-ciflutrina (Conect, 112,5g i.a. ha⁻¹) associado a Trifloxistrobina + Tebuconazol (Nativo, 120g i.a. ha⁻¹) quando as plantas estavam nos estádios V4 e V9 da escala de Richie et al. (1993).

A colheita foi feita manualmente, quando a umidade dos grãos estava entre 20 e 25 %. Foram realizadas as coletas de duas fileiras aleatórias por unidade experimental avaliando-se número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹). A produtividade de grãos foi obtida a partir da trilha mecânica e pesagem dos grãos oriundos das espigas colhidas na área útil das parcelas, a qual foi convertida para kg ha⁻¹ e corrigida para 13% de umidade. Em seguida, mensurou-se a massa de cem grãos, em balança de precisão (0,001 g) e corrigindo-se para 13% de umidade. No momento da colheita, aproveitou-se para fazer a coleta das plantas de milho, em 2m lineares, para a avaliação da MS da parte aérea, as quais posteriormente levadas para estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65°C por 72 horas, sendo novamente pesada para obtenção da MS.

Os parâmetros avaliados foram submetidos ao teste das pressuposições do modelo matemático (Barbin, 2003). A análise da variância dos dados do experimento foi realizada pelo teste F a 5% de probabilidade. Quando significativo, para as médias do fator qualitativo foi utilizado o teste de Scott-Knott e nas médias do fator quantitativo foi realizada à análise de regressão polinomial até terceiro grau. Para as análises estatísticas foi utilizado o software SISVAR (Ferreira, 2011).

Resultados e Discussão

A massa seca remanescente (MSRF) das plantas forrageiras diferiu significativamente quanto às alturas pretendidas de pastejo nas duas safras (Tabela 1). Verificou-se que nos dois anos agrícolas (2014/2015 e 2015/2016), os maiores valores de MSRF foram proporcionados pela área sem pastejo (SP), com 4,07 e 3,20 Mg ha⁻¹ de MS nos respectivos anos agrícolas estudados. O pastejo contínuo apresentou a menor MSRF pós-pastejo, em resposta a maior intensidade de pastejo e sua altura de saída estar caracterizada abaixo dos 0,10m. Resultados corroboram com os encontrados por Barbosa et al. (2007) e Barth Neto et al. (2013) em pastejo no sistema contínuo sob resteva de milho com 1,55 e 1,41 Mg ha⁻¹ respectivamente.

Tabela 1. Massa seca remanescente de forragem (MSRF) no momento da dessecação em sistema ILP em um Argissolo vermelho.

Massa residual	Massa seca remanescente de forragem (Mg ha ⁻¹)	
	Safra 2014/15	Safra 2015/16
PC	1,50 e	1,55 e
M10	2,10 d	1,74 d
M20	3,03 c	2,35 c
M30	3,63 b	3,06 b
SP	4,07 a	3,20 a
CV %	7,50	0,72

Letras diferentes na coluna diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. CV = coeficiente de variação. PC: pastejo contínuo; M10: massa residual 0,10m; M20: massa residual 0,20m; M30: massa residual 0,30m; SP: sem pastejo.

A MSRF para ambos os anos agrícolas de cultivo apresentou o mesmo comportamento, sendo determinado conforme a sua intensidade de pastejo, variando de 1,50 a 4,07 Mg ha⁻¹ de palhada (Tabela 1). Parte dos resultados de MSRF encontrados no trabalho estão de acordo com os encontrados por Carvalho et al. (2013) e Wutke et al. (2014), os quais trabalhando com as mesmas espécies encontraram variação de 1,5 a 6,0 Mg ha⁻¹ de MS. Para Rosolem et al. (2003), os resíduos na superfície do solo constituem uma importante reserva de

nutrientes, podendo ser disponibilizado de forma lenta, rápida e gradual, dependendo dos fatores climáticos, da atividade microbológica do solo e qualidade e quantidade do resíduo vegetal (Pariz et al., 2011).

Nos dois anos agrícolas em que se conduziu o experimento, o efeito dos tratamentos (massa de forragem remanescente pós-pastejo, inoculação com *A. brasilense* e doses de nitrogênio) sobre as variáveis analisadas foi similar apresentando interação tripla entre fatores. Conseqüentemente, os resultados apresentados nas figuras do trabalho representam a média dos anos agrícolas de 2014/2015 e de 2015/2016.

Na análise quantitativa do acúmulo da fitomassa seca em diferentes doses de N (Figura 2a), para a safra 2014/15 foi superior em M30 na dose de 300 kg de N ha⁻¹, com 20,32 Mg de MS, sendo 6% superior aos demais tratamentos. O maior acúmulo de MS pode estar associado à melhoria nas condições físico-químicas e ciclagem de nutrientes do solo, visto que na presença da intensidade de pastejo baixa tem-se maior acúmulo de matéria seca (Costa et al., 2012; Debiasi & Franchini, 2012) e um desenvolvimento das raízes de forrageiras superior (Barth Neto et al., 2013).

Para o manejo das forrageiras hibernais sem a inserção de animais, a máxima eficiência técnica foi obtida em 207 kg de N ha⁻¹ para a produção de matéria seca, sendo 8,8% maior em comparação a massa seca remanescente pós-pastejo com maior produção neste patamar, o M10. A utilização das forragens de inverno em sistema de pastejo reduz a cobertura do solo conforme sua intensidade de pastejo (Viega et al., 2016), expondo o solo a perdas de nutrientes pelos processos erosivos.

O uso de bactérias fixadoras de N incrementou a produção de matéria seca de milho (Figura 2b) conforme aumentou os níveis de adubação nitrogenada nos manejos das forrageiras com maior massa seca remanescente. Na maior concentração de nitrogênio, 300 kg de N, o SP apresentou o maior incremento de palhada de milho, sendo M30 a segunda

maior produção observada com 22,30 Mg de MS ha⁻¹, respectivamente 5,7% menor. A grande necessidade de N para decomposição dos resíduos com alta relação C/N da matéria seca das forrageiras (Torres et al., 2005) associados a alta dose de N mineral fornecido e a FBN (De-Basan et al., 2012) compensaram a demanda de nitrogênio da planta para maior crescimento das folhas e colmo.

No desdobramento do fator inoculação (Figura 2c), foi constatado um incremento de 13% com a utilização do *A. brasilense* no tratamento de sementes de milho para a safra 2014/15. Este incremento está associado à capacidade da bactéria diazotrófica em fixar parte do nitrogênio que a planta necessita (Guimarães et al., 2010), a produção de fitormônios, em especial auxinas e citocininas (Hungria et al., 2011), e a solubilização de nutrientes como o fósforo (Moreira et al., 2010). Valores expressivos de acúmulo de fitomassa aérea superiores na proporção de 53% foram encontrados por Quadros (2009), inoculando híbridos de milho com *Azospirillum* e em associação a adubação nitrogenada.

Na avaliação do efeito isolado da MSR pós-pastejo (Figura 2c), observou-se diferença significativa entre os manejos, com maior produção de fitomassa da cultura do milho no SP e menor no PC, respectivamente 18,5 Mg ha⁻¹ a 16,6 Mg ha⁻¹. Com esse resultado encontrado observa-se uma redução na produção de fitomassa do milho na ordem de 10%, quando a pastagem foi submetida à pastejo intenso, sem o controle de carga animal. A redução no aporte de palhada está associada a maior exportação de nutrientes no período de pastejo, menor cobertura do solo e menor ciclagem de nutrientes no período de estabelecimento da cultura do milho.

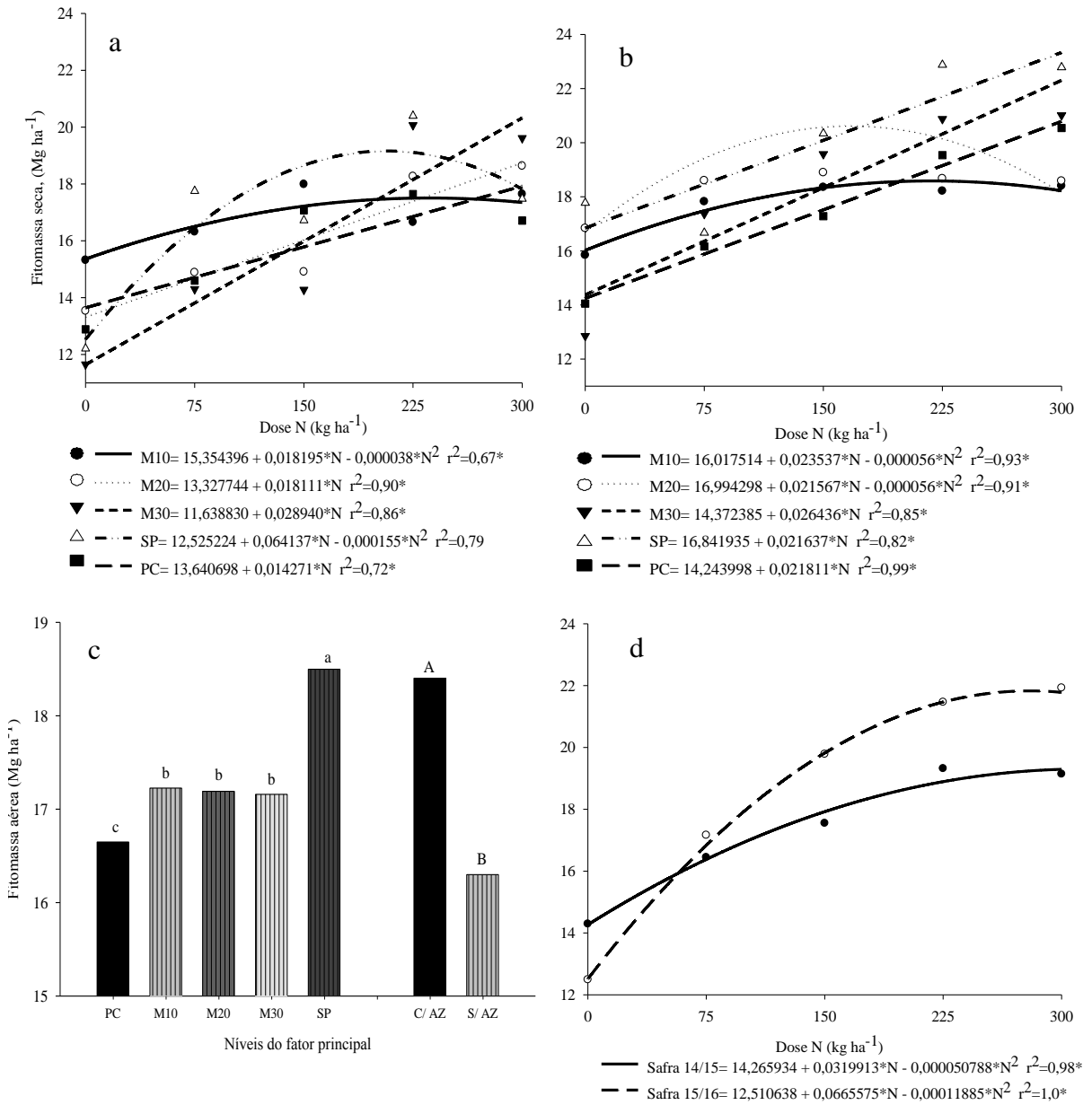
Na figura 2d, verifica-se o efeito da adubação nitrogenada na produção de fitomassa aérea da cultura do milho, durante as duas safras que ocorreram as avaliações. Em ambas as safras os comportamentos foram quadráticos, na safra 2014/15 a resposta para o acúmulo de fitomassa foi mais uniforme, variando conforme o aumento da dose utilizada em

comportamento similar a linearidade (Figura 2d). Para a safra 2015/16, o desdobramento do fator adubação nitrogenada foi maior a partir da dose de 75 de N, sendo assim para as demais doses testadas, com uma máxima eficiência técnica para a dose de 280kg N ha⁻¹. A resposta variada observada entre anos agrícolas está associada às condições climáticas, com maior precipitação para o segundo ano agrícola durante a fase de formação de folhas e colmo (Figura 1), além disso, a umidade do solo é fundamental para absorção do N pela planta (Fageria, 1998).

Na segunda safra, 2015/16 (Figura 2e) as curvas de resposta para as doses aplicadas de N ao solo nos diferentes manejos de forragem pós pastejo apresentaram comportamentos quadráticos e linear. Os tratamentos PC e SP tiveram a máxima eficiência de produção de fitomassa aérea na dose de 208 e 219kg de N respectivamente. Nos demais tratamentos a produção de fitomassa aumentou linearmente ao aumento da dose de N. A resposta da dose de N aplicada, na produção de fitomassa foi de 11,8 a 23,9 Mg ha⁻¹. Neste sentido pode se observar que a resposta à adubação nitrogenada nas condições variadas de cobertura de MS é muito variada, dependendo muito das condições edafoclimáticas de cada ano de cultivo. Mas no aumento das doses de N, pode ser observado um incremento na produção de matéria seca, visto a estreita relação com o crescimento de plantas de milho na síntese de proteína, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular (Okumura et al., 2011).

Quanto ao efeito do *A. brasilense* associado à dose de N nos diferentes manejos da forragem (Figura 2f) para a safra 2015/16, o comportamento do tratamento SP foi quadrático com a máxima eficiência na dose de 252 kg de N+A. *brasilense*. Nos demais tratamentos, apesar de uma redução na eficiência do PC, houve um incremento na produção de fitomassa aérea com aumento das doses aplicadas. Em ambos os tratamentos a produção de fitomassa aérea manteve o mesmo comportamento, de média de 11,6 a 24,1 Mg ha⁻¹. Para a produção de fitomassa aérea na segunda safra não foi constatado incremento com o uso do *A. brasilense*

em relação a sua ausência no tratamento de sementes, exceto para o M30 que apresentou incremento de 6,8% na dose zero.



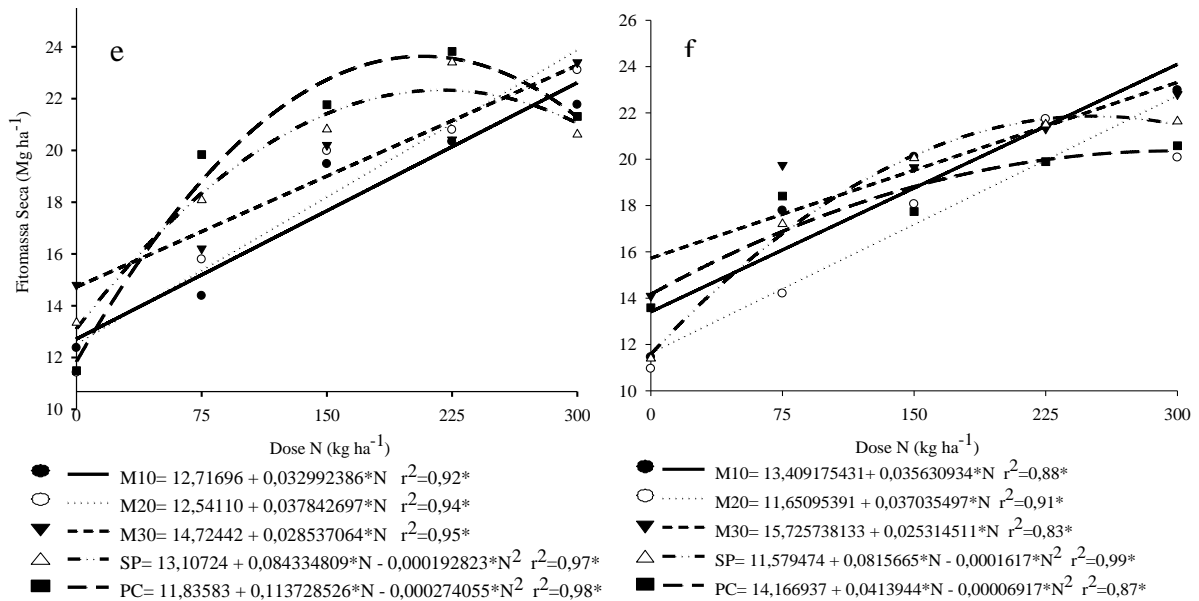


Figura 2. Produção de fitomassa aérea da cultura do milho para a safra 2014/15 sem (a) e com inoculação de *A. brasilense* (b), fatores principais isolados (massa residual e inoculação de sementes [c], doses de nitrogênio [d]), e na safra 2015/16 sem (e) e com inoculação (f) em sistema ILP com semeadura direta. M10, massa residual pós pastejo 0,10m; M20, massa residual de 0,2m; M30, massa residual de 0,3m; SP, sem pastejo; PC, pastejo contínuo; C/AZ, com inoculação de sementes; S/AZ, sem tratamento de sementes com inoculante. *Letras distintas (minúsculas para fator massa residual e maiúscula para inoculação de sementes) apresentam significância a 5% de probabilidade.

Os componentes de rendimento também foram afetados na presença do *A. brasilense* submetido a diferentes doses de N na variada massa de palhada de cobertura. Para os valores médios do número de fileiras de grãos por espiga na primeira safra, houve efeito significativo apenas para o aporte de N com aumento de 3,5% até 300 kg N ha⁻¹ (Figura 3a). A formação do NFG coincide com a segunda semana após a emergência, fase em que se inicia a formação dos primórdios da espiga (Fancelli & Dourado-Neto, 1997), sendo o nitrogênio fundamental neste processo (Carmo et al., 2012).

Na avaliação do NFG da safra 2015/16, pode ser observado uma interação tripla dos fatores em estudo (Figura 3b). Para o tratamento SP, obteve-se um decréscimo no NFG até a dose 100 kg de N ha⁻¹, tendo resposta positiva acima desta dose. Esse comportamento está atrelado à relação C/N das plantas de coberturas utilizadas como forrageiras no período

hibernal, aonde os microrganismos mobilizam nitrogênio para o processo de decomposição, reduzindo a disponibilidade para a planta (Victoria et al., 1992).

Com a finalidade de diminuir a deficiência inicial de N para o milho, recomenda-se, para qualquer situação, a aplicação de maior dose deste nutriente na semeadura, em relação ao sistema convencional (SÁ, 1993). Esta recomendação visa reduzir o efeito negativo da alta razão C/N, aumentando a decomposição dos resíduos e a liberação de N no período de maior demanda pela cultura. Os resultados corroboram com o que foi encontrado no trabalho para o tratamento PC, pois com pouca palhada em superfície pela pressão de pastejo, o NFG teve comportamento quadrático com máxima eficiência técnica na dose de 204 kg de N (Figura 3b).

Quanto à utilização de N associado ao *A. brasilense* (Figura 3c), o comportamento foi semelhante para os tratamentos M30, SP e PC, onde se obteve uma resposta máxima a fertilização nitrogenada nas doses de 190, 205 e 236 respectivamente. No M20, este comportamento foi linear conforme o incremento de nitrogênio mineral associado ao *A. brasilense*. Para o tratamento M10 não foi observado comportamento significativo para regressão até terceiro grau no NFG. Esta variação de comportamento foi esperada, pois o número de fileiras está associado especialmente às características genéticas do genótipo (Valderrama et al., 2011), mas outros fatores como condições edafoclimáticas (Bortolini et al., 2001), nutricionais (Carmo et al., 2012), tipo de solo e microrganismos do solo (Okumura et al., 2011) também apresentam interferência na sua expressão.

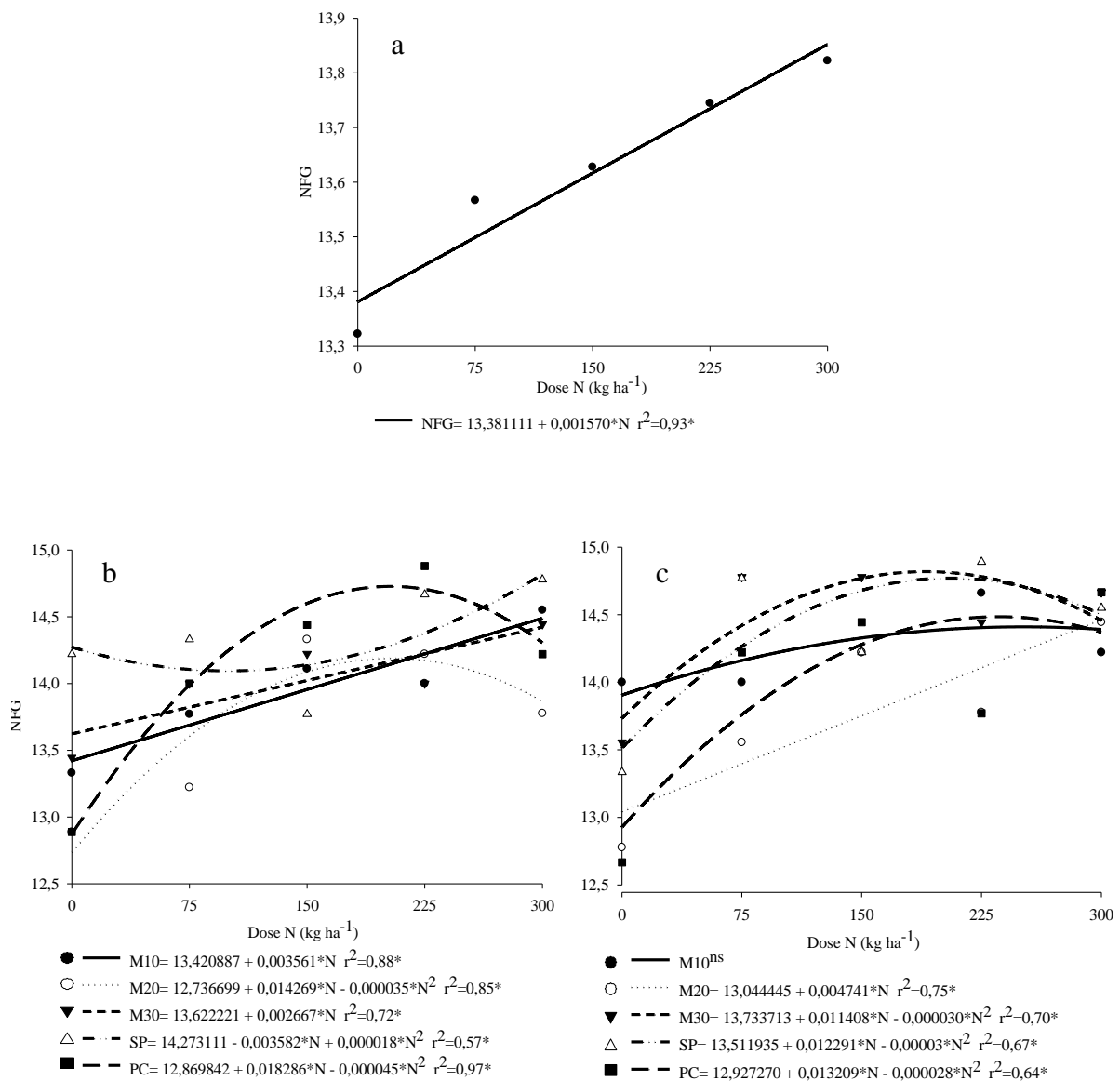


Figura 3. Número de fileiras de grãos em espigas de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada (a) sobre diferentes resíduos pós pastejo sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2015/16 (b, c).

No número de grãos por fileira na espiga também houve efeito significativo para a interação massa residual x *A. brasilense* e nitrogênio nas diferentes safras da cultura do milho. Para a safra 2014/15, os tratamentos M10, M20 e M30 apresentaram resposta linear à utilização de N sobre as diferentes massas residuais pós pastejo com incremento de 20, 27,1 e 26,1% respectivamente (Figura 4a). Estes resultados mesmo superiores corroboram com Souza et al. (2011) e Torres et al. (2014) em milho submetido a doses de N, os quais

encontraram também resposta linear com 7,23 e 17,28% para a dose de 200 e 120 kg de N ha⁻¹ testados. Os demais tratamentos (SP e PC) apresentaram máxima eficiência técnica em 216 e 228 kg de N ha⁻¹ (Figura 4a).

Na combinação de N+A. *brasilense* sobre diferentes massas de resíduo pós pastejo, a M30 apresentou o mesmo comportamento linear com incremento de 27,13%, não tendo interferência para a introdução de *A. brasilense* no tratamento de sementes, apenas resposta para a adubação mineral nitrogenada com aumento de um grão na linha aproximadamente a cada 35 kg de N aplicados a cultura. Quanto aos tratamentos M10 e M20, o comportamento foi quadrático como para SP e PC, com máxima eficiência técnica respectivamente 231, 275, 225, 276 kg de N ha⁻¹ para a safra 2014/15 (Figura 4b).

Para a safra 2015/16, o número de grãos por fileiras foi semelhante entre o uso de N e N+A. *brasilense*, ambos com comportamento quadrático exceto o tratamento M30 que foi linear (Figura 4c e 4d). A redução da diferença no NGF nas diferentes massas residuais pós pastejo submetidas à presença da bactéria principalmente nas doses de 75, 150 e 225 kg de N ha⁻¹ e o aumento de M10 e M20 podem estar associados ao suprimento do N e fitormônios produzidos pelo *A. brasilense* na decomposição da palhada e absorção mais eficiente de N e água.

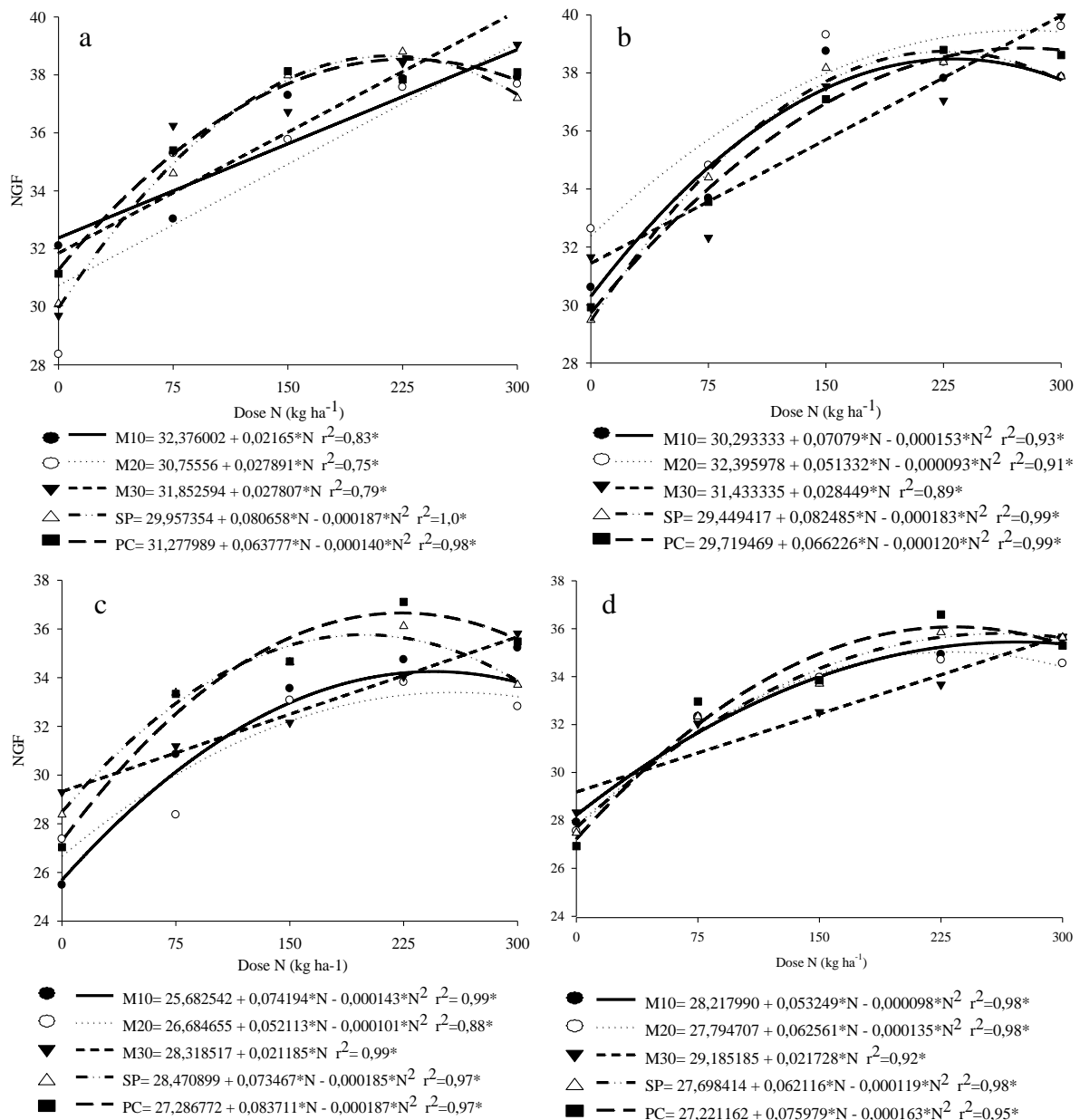


Figura 4. Número grãos por fileira em espigas de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada sobre diferentes resíduos pós pastejo, sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2014/15 (a, b) e 2015/16 (c, d).

A massa de mil grãos de milho na safra 2014/15 foi outro componente que apresentou comportamento linear para M20, M30, SP e PC com máxima MMG na dose 300 kg de N, para superioridade em SP com 284,79 g (Figura 5a). A massa residual pós pastejo M10 apresentou reposta superior na dose de 241 kg de N. Neste sentido a maior palhada em cobertura do solo e fitomassa seca produzida pela cultura do milho podem estar associados a

maior MMG. A menor perda de água por evapotranspiração e maior área foliar contribuem para maior produção de fotoassimilados depositados nos grãos (Yang & Grassini, 2014).

Para a interação N+A. *brasilense* o comportamento foi linear para M10, SP, M30 e quadrática para os tratamentos M20 e PC, ambos atingindo sua máxima eficiência na dose de 221 e 252 kg de N para os respectivos tratamentos (Figura 5b). Costa et al. (2015) verificaram que a massa de mil grãos respondeu de forma linear positiva com aumento nas doses de N, na presença de inoculante na semente e também na ausência de inoculante.

Avaliando a MMG na safra 2015/16, para a interação massa residual pós pastejo e N, o comportamento foi linear para ambos os tratamentos com exceção de M30, no qual foi observado resposta negativa para a utilização de nitrogênio nas doses iniciais de N até 80 kg ha⁻¹, posterior a esta dose de N observou-se um aumento do massa de grãos (Figura 5c). A menor cobertura do solo resultado da maior pressão de pastejo (PC) apresentou a maior MMG nas diferentes doses de N, sendo na dose 300 kg de N observado um incremento de 13,66% para o massa de grãos.

Com a introdução do *A. brasilense*, a MMG foi obtida no PC também com máxima eficiência técnica na dose 247 kg de N ha⁻¹, com 11,30% mais massa de grãos em relação ao M20 com a segunda maior MMG na dose de 300 kg de N. Além do PC, o M10 também apresentou comportamento cúbico, com menor eficiência em pouca cobertura do solo nas doses 28 e 69 kg de N respectivamente. Para as demais massas residuais em interação com N+A. *brasilense*, o comportamento foi linear ao aumento da dose de N para SP, M30 e M20 (Figura 5d). As respostas crescentes para a MMG associados ao N corroboram com estudos de Souza et al. (2011), os quais, até 200 kg de N também obtiveram incremento de 8,1 e 15 % para duas safras agrícolas.

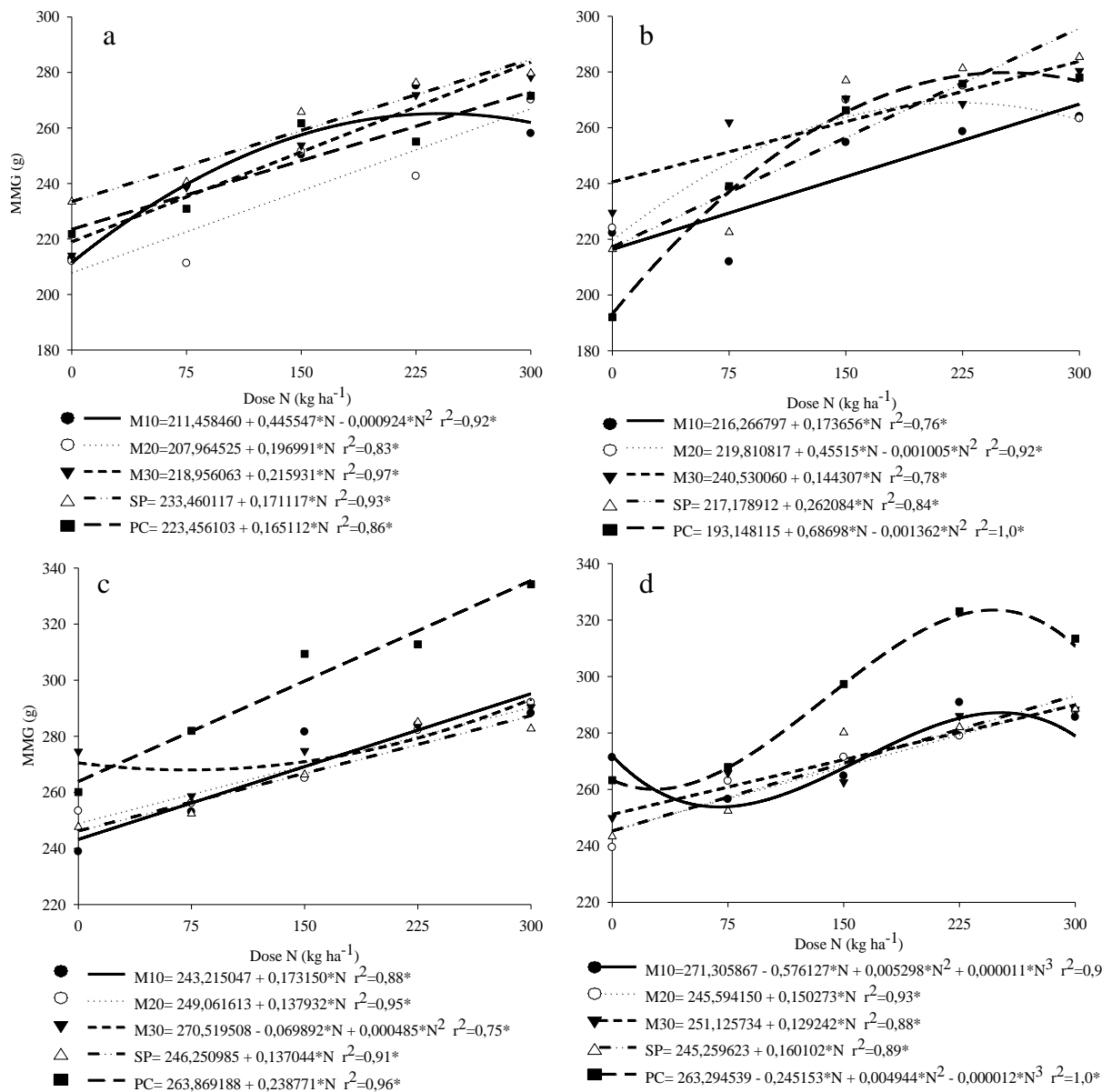


Figura 5. Massa de mil grãos de milho cultivados em sistema ILP na safra 2014/15 submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada sobre diferentes resíduos pós pastejo, sem e com tratamento de sementes com inoculante *A. brasilense* para a safra 2014/15 (a, b) e 2015/16 (c, d).

Para a produtividade de grãos de milho também se constatou interação entre fatores, sendo que para a safra 2014/15, verificou-se ajuste linear crescente dos dados ($p \leq 0,05$) em função das doses da adubação nitrogenada (Figura 6a). O tratamento M30 apresentou a maior produtividade a partir de 176 kg de N ha⁻¹, sendo para na maior dose de N observado uma produtividade de 11,20 Mg ha⁻¹ de grãos. O SP apresentou a maior produtividade entre as

doses 67 até 175 kg de N ha⁻¹. Estes resultados podem estar associados ao maior acúmulo de fitomassa aérea das plantas, número de grãos por fileira, massa de mil grãos e dose de nitrogênio mineral empregados (Sangóí, 2000; Amaral Filho et al., 2005; Goes et al., 2014; Kappes et al., 2014). Já para o ajuste da equação linear, Amaral Filho et al. (2005) em seu estudo também obtiveram a máxima eficiência técnica em dose superior de 280 kg de N ha⁻¹ para a produtividade de grãos.

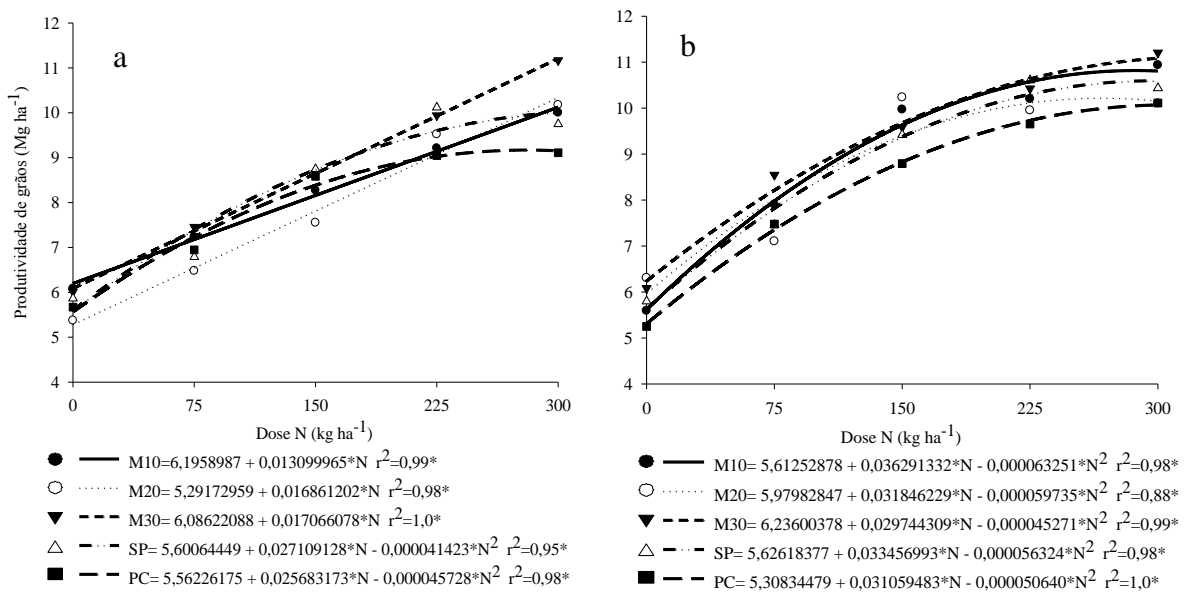
Na utilização do *A. brasilense* para a primeira safra, a produtividade de milho manteve uma tendência uniforme em todos os tratamentos com comportamento quadrático para todos os ajustes de produtividade (Figura 6b). O tratamento M30 apresentou a maior produtividade para a dose de 300 kg de N ha⁻¹, mas o incremento proporcionado pela adição da bactéria no cultivo pode ser observado até a dose de 292 kg de N ha⁻¹ com maior eficiência na dose de 139 kg de N ha⁻¹, 12,6% superior quando comparado ao mesmo tratamento só com adubação nitrogenada.

Na média do experimento para o fator inoculação pode se observar um incremento de 613 kg na produtividade de grãos. Este ganho produtivo para a utilização da bactéria está atrelado a FBN e a síntese de fitormônios (Hungria et al., 2010; Filgueiras & Meneses, 2015) que condicionam a planta ao maior desenvolvimento tanto do sistema radicular, área foliar e pigmentos fotossintéticos. Os resultados de produtividade corroboram com ganhos produtivos de grãos encontrados por Godoy et al. (2011), Repke et al. (2013) e Vogt et al. (2014), avaliando inoculantes à base de *Azospirillum* spp. na cultura do milho em condições de campo, os quais também não encontraram benefícios consistentes da utilização das bactérias diazotróficas sobre a produtividade.

Para a safra 2015/16, a produtividade da cultura do milho obteve um incremento linear conforme aumento da dose de N empregado no cultivo, com máximo rendimento para PC na dose de 300 kg de N ha⁻¹ com aumento de 68,67% no seu rendimento comparado com a maior

produtividade na dose zero de N (Figura 6c). Estes resultados apresentam o mesmo ajuste da equação comparado à safra anterior, apenas observado resposta variada para o fator massa residual. Este comportamento pode estar atrelado a maior produção de fotoassimilados pela parte aérea, visto que o PC para a condição edafoclimática da segunda safra apresentou maior acúmulo de fitomassa aérea, NFG, NGF e MMG em resposta as diferentes doses de nitrogênio.

Na interação N+A. *brasilense* nas diferentes massas residuais pós pastejo o ajuste das equações foi linear para os tratamentos M10, M20 e M30 e quadrática para os tratamentos SP e PC com máxima produtividade de 10,11 Mg de grãos ha⁻¹ em M10 (Figura 6d). A máxima eficiência técnica foi observada na dose de 215 kg de N ha⁻¹ para SP e PC, com incremento produtivo de 3,2% para a exclusão do pastejo nas forrageiras de inverno. Na ausência da utilização de nitrogênio mineral (0 kg de N ha⁻¹) o A. *brasilense* proporcionou um incremento no ganho produtivo de 4,5% em relação a sua ausência. Este resultado corrobora com os encontrados por Lana et al. (2012) verificando que a inoculação de A. *brasilense* proporcionou incrementos de 7 a 14% na produtividade de grãos de milho, mesmo sem a adição de N.



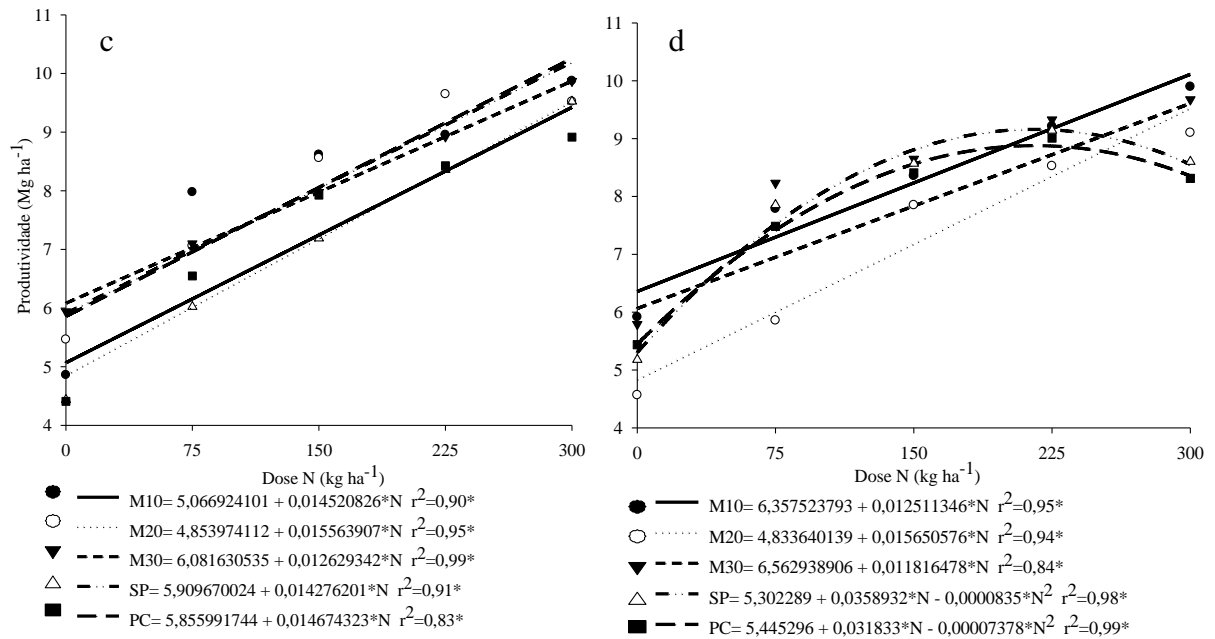


Figura 6. Produtividade da cultura do milho em sistema ILP com a ausência e presença de inoculação de sementes com *A. brasilense* respectivamente para a safra 2014/15 (a, b) e safra 2015/16 (c, d) sob um Argissolo vermelho.

Conclusões

A maior cobertura do solo na saída do período de pastejo propicia o maior desenvolvimento das plantas e a produtividade grãos na fase de crescimento do milho.

As doses de N promovem acréscimos na produtividade de grãos, componentes de rendimento e fitomassa aérea de milho nas diferentes massas de forragem pós-pastejo. Na condição do experimento, a dose de 300 kg de N ha⁻¹ proporcionou maior acúmulo de grãos nos diferentes resíduos pós pastejo.

A inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* favorece o crescimento das plantas, número de fileiras de grãos, número de grãos por fileira, massa de mil grãos e produtividade de grãos.

Referências

AMARAL FILHO, J.P.R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.467-473, 2005.

BARBIN, D. **Planejamento e análise de experimentos agronômicos**. Arapongas: Midas, 2003.

BARBOSA, R.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V.P.B. Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.3, p.329-340, 2007.

BARTCHECHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L). **Campo Digital**, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2010.

BARTH NETO, A.; CARVALHO, P.C.D.F.; LEMAIRE, G.; SBRISSIA, A.F.; CANTO, M.W.D.; SAVIAN, J.V.; AMARAL, G.A.; BREMM, C. Perfilhamento em pastagens de azevém em sucessão a soja ou milho, sob diferentes métodos e intensidades de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.48, n.3, p.329-338, 2013.

BARTHAM, G.T. **Experimental techniques: the HFRO sward stick**. Hill Farming Research Organization/Biennial Report, 1985, p.29-30.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. Plant growth-promoting. **Encyclopedia of Soils in the Environment**, v.1, p.103-115, 2005.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; Dinâmica e Função da Matéria Orgânica. In Santos, de A. G. (Ed). **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Editora Metrópole, 2008. p.7-16.

BHATTACHARYYA, P.N.; JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, p. 1327–1350, 2012.

BORTOLINI, C.G.; SILVA, P.D.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E.L. Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em respostas a adubação nitrogenada e regime hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, p.1101-1106, 2001.

CARMO, M. S. do.; CRUZ, S.C S.; SOUZA, E.J. de.; CAMPOS, L.F.C.; MACHADO, C.G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce (*Zeamaysconvar. Saccharata var. rugosa*). **Bioscience Journal**, v. 28, n.1, p. 223-231, 2012.

CARVALHO, W.P. de; CARVALHO, G.J. de; ABBADE NETO, D. de O.; TEIXEIRA, L.G.V. Desempenho agrônomo de plantas de cobertura usadas na proteção do solo no período de pousio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.157-166, 2013.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO (CQFS). **Manual de adubação e decalagem para os estados do RS e SC**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul, 394 p., 2004.

COSTA, N.R.; ANDREOTTI, M.; GAMEIRO, R.A.; PARIZ, C.M.; BUZETTI, S.; LOPES, K.S.M. Adubação nitrogenada no consórcio de milho com duas espécies de braquiária em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 8, p. 1038-1047, ago. 2012.

COSTA, N.R.; ANDREOTTI, M.; GIOIA, M.T.; TARSITANO, M.A.A.; PARIZ, C.M.; BUZETTI, S. Análises técnicas e econômicas no sistema de integração lavoura-pecuária submetido à adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, v.59, n.5, p.597-605, 2015.

COSTA, N.R.; ANDREOTTI, M.; LOPES, K.S.M.; YOKOBATAKE, K.L.; FERREIRA, J.P.; PARIZ, C.M.; LONGHINI, V.Z. Atributos do Solo e Acúmulo de Carbono na Integração Lavoura-Pecuária em Sistema Plantio Direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, n.3, p.852-863, 2015.

DE-BASHAN, L.E.; HERNANDEZ, J.P.; BASHAN, Y. The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation-A comprehensive evaluation. **Applied Soil Ecology**, v.61, p.171-189, 2012.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C. Atributos físicos do solo e produtividade da soja em sistema de integração lavoura-pecuária com braquiária e soja. **Ciência Rural**, v.42, n.7, p.1180-1186, 2012.

FAGERIA, N.K. Optimizing nutrient use efficiency in crop production. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.1, p.6-16, 1998.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. Milho: Ecofisiologia e rendimento. In: Fancelli, A.L.; Dourado-Neto, D., (eds.). **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.157-170.

FERREIRA, D.F. **Sisvar 5.3 : análises estatísticas por meio do Sisvar para windows**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2010.

FILGUEIRAS, L.M.B.; MENESES, C.H.S.G. Efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas na proteção contra o estresse hídrico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v.11, n.1, p.21-30, 2015.

GODOY, J.C.S.; WATANABE, S.H.; FIORI, C.C.L.; GUARIDO, R.C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digital**. v.6, p.26-30, 2011.

GOES, R.J.; RODRIGUES, R.A.F.; TAKASU, A.T.; ARF, O. Fontes e doses de nitrogênio em cobertura para a cultura do milho em espaçamento reduzido. **Revista Agrarian**, v.7, n.24, p.257-263, 2014.

GUIMARÃES, C.M.; CAMPOS, D.T.S.; BALDANI, V.L.D.; JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, v.33, n.4, p.32-39, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja. Documentos, 2011. 36p.

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

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

KAPPES, C.; ARF, O.; DAL BEM, E.A.; PORTUGAL, J.R.; GONZAGA, A.R. Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, n.2, p.201-217, 2014.

KUSS, A.V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado**. 2006, p.110, Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

LANA, M.D.C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J.E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v.59, n.3, p.399-405, 2012.

LUNARDI, R.; CARVALHO, P.C.F.; TREIN, C.R.; COSTA, J.A.; CAUDURO, G.F.; BARBOSA, C.M.P.; AGUINAGA, A.A.Q.. Rendimento de soja em sistema de integração lavoura-pecuária: efeito de métodos e intensidades de pastejo. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.795-801, 2008.

MENDONÇA, V.Z.; MELLO, L.M.M.; ANDREOTTI, M.; PEREIRA, F.C.B.L.; LIMA, R.C.; VALÉRIO FILHO, W.V.; YANO, E.H. Avaliação dos atributos físicos do solo em consórcio de forrageiras, milho em sucessão com soja em região de cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.37, p.251-259. 2013.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p. 74-99, 2010.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p.366-370. 1997.

OKUMURA R.S.; MARIANO, D.C.; ZACCHEO, P.V.C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.4, n.2, p.26-244, 2011.

PARIZ, C.M.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; BERGAMASCHINE, A.F.; ULIAN, N.A.; FURLAN, L.C.; MEIRELLES, P.R.L.; CAVASANO, F.A. Straw decomposition of nitrogen-fertilized grasses intercropped with irrigated maize in an integrated crop-livestock system. **Revista brasileira de Ciência do Solo**. v.35, p.2029-2037, 2011.

PEEL, M.C.; FINLAYSON, B.L.; MCMAHON, T.A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, Göttingen, v.11, n.5, p. 1633-1644, 2007.

PICCININ, G.G.; DAN, L.G.M.; BRACCINI, A.L.; MARIANO, D.C.; OKUMURA, R.S.; BAZO, G.L.; RICCI, T.T.E. Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. **Journal of Agronomy**, v.10, n.4, p.132-135, 2011.

PURWANTO, S.; MINARDI, S. Optimization of Nitrogen Fertilization Input on *Zea mays* L. Cultivation through the Biological Inhibition of Nitrification. **Agricultural Sciences**, v. 6, n. 02, p. 201, 2015.

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

REPKE, R.A.; CRUZ, S.J.S.; SILVA, C.J.D.; FIGUEIREDO, P.G.; BICUDO, S.J. . Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, p.214-226, 2013.

REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO. **Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul – Safras 2013/2014 2014/2015**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2013. 58p.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames, Iowa State University of Science and Technology, 1993, 26p.

ROSOLEM, C.A.; CALONEGO, J.C.; FOLONI, J.S.S. Lixiviação de potássio da palhada de espécies de cobertura de solo de acordo com a quantidade de chuva aplicada. **Revista Brasileira de Ciência do solo**. v.27, n.2, p.355-62, 2003

SÁ, J.C.M. de. Manejo de fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: EMBRAPA.CNPT; FUNDACEP; FECOTRIGO et al. (coord.). **Plantio direto no Brasil**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1993, p. 41-47.

SANDINI, I.E.; MORAES, A.; PELISSARI, A.; NEUMANN, M.; FALBO, M.K.; NOVAKOWISKI, J.H. Efeito residual do nitrogênio na cultura do milho no sistema de produção integração lavoura-pecuária. **Ciência rural**, v.41, p.1315-1322, 2011.

SANGOI, L. Understanding plant density effects on maize growth and development: na important issue to maximize grain yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.159-168, 2000.

SANTOS, H.P.; FONTANELI, R S.; SPERA, S.T.; DREON, G. Fertilidade e teor de matéria orgânica do solo em sistemas de produção com integração lavoura e pecuária sob plantio direto. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.3, 2011.

SISTEMA BRASILEIRO DE CLASSIFICAÇÃO DE SOLOS. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

SOUZA, J.A.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; ANDREOTTI, M.; SÁ, M.E. de; ARF, O. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha irrigado em plantio direto. **Bragantia**, v.70, p.447-454, 2011.

SPERA, S.T.; SANTOS, H.P.; FONTANELI, R.S.; TOMM, G.O. Atributos físicos de um Hapludox em função de sistemas de produção integração lavoura-pecuária (ILP), sob plantio direto. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.1, p.37-44, 2009.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S. J.; BOHMEN, H. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TORRES, J.L.R.; PEREIRA, M.G.; CUNHA, M.A.; VIEIRA, D.M.S; RODRIGUES, E.S. Produtividade do milho cultivado em sucessão a crotalária, milheto e braquiária no cerrado mineiro. **Enciclopédia Biosfera**, 18: 2482-2491, 2014.

TORRES, J.L.R.; PEREIRA, M.G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J.C.; FABIAN, A.J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.609-618, 2005.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, USDA. Brazil Corn: 2015/16 Second-Crop Corn Estimate Reduced Due to Dryness and Frost Damage. **Circular Series**, p. 7-16, July 2016.

VALDERRAMA, M.; BUZETTI, S.; BENETT, C.G.S.; FILHO, M.C.M.T. Fontes e doses de NPK em milho irrigado sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 254-263, abr./jun. 2011.

VEIGA, M da.; PANDOLFO, C.M.; JUNIOR, A.A.B.; DURIGON, L. Effects on Soil and Crop Properties of Forms of Sowing, Deferral Intervals and Fertilisation of the Annual Winter Forage in a Crop-Livestock Integration System. **Journal of Agricultural Science**, v.8, n.5, p.1-15, 2016.

VICTORIA, R.L., PICCOLO, M.C., VARGAS, A.A.T. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. (Coord.) **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 105-120.

VOGT, G.A.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; GALOTTI, G.J.M.; PADOLFO, C.M.; ZOLDAN S. Desempenho de genótipos de milho na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura. **Agropecuária Catarinense**, v.27, n.2, p.49-54, 2014.

WALKER, V.; COUILLEROT, O.; VON FELTEN, A.; BELLVERT, F.; JANSA, J.; MAURHOFER, M.; BALLY, R. MOËNNE-LOCCOZ, Y.; COMTE, G. Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*,

Pseudomonas and *Glomus* consortium under Field conditions. **Plant and Soil**, v. 356, p. 151–163, 2011.

WUTKE, E.B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. do P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O.F. de; AMBROSANO, E.J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. (Ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília: Embrapa, 2014. v.1, p.59-168.

YANG, H.; GRASSINI, P. Quantifying and managing corn water use efficiencies under irrigated and rainfed conditions in Nebraska using the hybrid-maize simulation model. **Practical Applications of Agricultural System Models to Optimize the Use of Limited Water**, n. practicalapplic, p. 113-138, 2014.

4 CAPITULO II - DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO SOB DIFERENTES pH'S, UMIDADES E PRESENÇA DE *Azospirillum brasilense*

RESUMO - Os fatores abióticos têm grande importância na capacidade produtiva dos sistemas agrícolas sendo que seu estresse limita o desenvolvimento e produtividade das culturas. Para isso é necessário à utilização de ferramentas tecnológicas capazes de mitigar estes efeitos. Neste sentido objetiva-se com este estudo verificar qual o comportamento do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de milho submetido a diferentes pH's em solução, umidade do solo. Foram realizados dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado em ambiente controlado submetendo o *A. brasilense* aos estresses abióticos. No primeiro experimento foram testados diferentes níveis de umidade do solo em vasos (100, 75, 50 e 25% da capacidade de campo) com quatro repetições. Para testar o potencial hidrogênico (pH 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5) foi realizado o segundo experimento utilizando solução nutritiva com omissão de nitrogênio em três repetições. Em ambos os experimentos se testou com e sem *A. brasilense*. A umidade baixa favoreceu o crescimento radicular, mas restringiu o desenvolvimento de folhas e colmos em plantas de milho em estágio fenológico V4. O maior desenvolvimento radicular proporcionado pelo *A. brasilense* sob restrição hídrica diminuiu a eficiência do uso da água nas folhas. Os potenciais hidrogênicos mais ácidos e/ou mais alcalinos também reduziram o aporte de matéria seca de raiz e parte aérea, e a eficiência de carboxilação da rubisco, mas aumentaram a eficiência do uso da água. A utilização de *A. brasilense* proporcionou maior desenvolvimento da cultura com incremento em volume e comprimento radicular, e em área foliar. Plantas de milho apresentam um melhor desenvolvimento inicial sem restrição hídrica e em solo com potencial hidrogênico de 5,9, mas a utilização de *A. brasilense* pode ampliar a faixa de pH para cultivo desde 5,1 a 5,9 sem comprometer o desenvolvimento da planta.

Palavras-chave: Déficit hídrico; nutrientes; sistema radicular; massa seca, fitohormônios.

INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE UNDER DIFFERENT pH VALUES, HUMIDITY AND PRESENCE OF *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT - Abiotic factors have great importance in the productive capacity of the agricultural systems and its stress limits crop development and productivity. This requires the use of technological tools able to mitigate such effects. In this sense, the objective of this

study was to verify the behavior of *Azospirillum brasilense* in the early development of maize subjected to different solutions of pH and soil humidity. Two experiments were carried out in completely randomized design in a controlled environment by submitting *A. brasilense* to abiotic stress. Different levels of soil humidity in vases (100, 75, 50 and 25% of field capacity) with four repetitions were tested in the first experiment. To test the hydrogenic potential (pH 4.5; 5.5; 5.0; 6.0 and 6.5), the second experiment used nutrient solution with the omission of nitrogen in three repetitions. Both experiments were tested with and without *A. brasilense*. The low humidity favored root growth but restricted the development of leaf and stalk in maize plants in the phenological stage V4. The highest root development provided by *A. brasilense* under water restriction decreased the efficiency of water use in the leaves. The more acidic and/or more alkaline hydrogenic potentials also reduced dry matter intake of root and shoot, and carboxylation efficiency of rubisco, but increased water use efficiency. *A. brasilense* provided the highest crop development with increment in volume root length and leaf area. Maize plants present better initial development without water restriction and in soil with hydrogenic potential of 5.9, but the use of *A. brasilense* may extend pH range for cultivation from 5.1 to 5.9 without hindering plant development.

Keywords: Water deficit; nutrients; root system; dry mass, phytohormones.

INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem um papel indiscutível no mundo e na economia brasileira, devido à sua posição entre as espécies agrícolas exploradas, e por fazer parte da alimentação humana e animal, tendo destaque na suinocultura, avicultura e bovinocultura (Moro & Fritsche, 2015; Purwanto & Minardi, 2015). Segundo a FAO (2009) mundialmente o milho incrementa a dieta da população em 14 países, fornecendo 25 a 50% da dieta de energia total dos humanos e mais 27 países onde este índice extrapola 10 a 25% do consumo total de energia.

A maioria das áreas agrícolas apresentam algum tipo de limitação para aumentar a sua produtividade, sendo a acidez do solo, um problema comum em muitos sistemas produtivos. O baixo teor de cálcio e a toxicidade de alumínio (Al) encontrada em solos ácidos afetam o crescimento das raízes, a absorção de água e nutrientes, geralmente causando uma redução na produtividade (Sumner, Shahandeh, Bouton & Hammel, 1986; Tang, Rengel, Diatloff & Gazey, 2003; Caires, Garbuió, Churka, Barth & Correa, 2008). A fitotoxicidade de Al é uma grande preocupação na agricultura em áreas com baixo pH do solo (Foy, 1984) associados a

grande sensibilidade de muitas culturas (Delhaize & Ryan, 1995; Reddy, Wang & Gloss, 1995).

A falta de água é outro fator limitante na produção agrícola, podendo causar grandes perdas na produtividade (Brito et al., 2013). A limitação da umidade do solo afeta negativamente o crescimento das plantas (Rivera-Hernández et al. 2009), afetando processos enzimáticos, fisiológicos (Mansouri-Far, Modarres-Sanavy & Jalali-Javaran, 2005), taxa de assimilação de CO₂ e transpiração (Melo et al., 2010).

O déficit de água causa uma redução da absorção de nutrientes da solução do solo pelas raízes e seu transporte para a parte aérea. Segundo Garg (2003) e Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita & Basra (2009), as necessidades de nutrientes e de água estão intimamente relacionados, sendo que a aplicação de fertilizantes e sua absorção são susceptíveis à água disponível no solo para que ocorra o processo. Isso indica uma interação significativa entre os déficits de umidade do solo e aquisição de nutrientes.

Em zonas áridas e semi-áridas a disponibilidade de água é a principal restrição na produção agrícola (Bannayan, Nadjafi, Azizi, Tabrizi & Rastgoo, 2008). Para melhorar a eficiência de plantas nesses ambientes, Basan & Holguin (1997), inocularam sementes com *Azospirillum* e obtiveram alterações significativas em vários parâmetros de crescimento da planta, principalmente em condições não-ideais para o crescimento (Fertilidade e água limitada). Os efeitos positivos da inoculação foram demonstrados em vários parâmetros do sistema radicular, incluindo o aumento no comprimento radicular, em particular na zona de alongamento da raiz (Sarig, Blum & Okon, 1988).

A bactéria *A. brasilense* tem comprovado seus efeitos positivos sobre o crescimento e produtividade de várias culturas, incluindo o milho (Pedraza et al., 2010; Piccinin et al., 2011; Saikia, Bora, Goswami, Mudoi & Gogoi, 2012). A associação da bactéria com as plantas estimula o crescimento das mesmas por um conjunto de mecanismos incluindo a produção e a secreção de fitormônios, aumentando a disponibilidade de nutrientes e a fixação biológica de nitrogênio (Bottini, Fulchieri, Pearce & Pharis, 1989; Bashan & De-Bashan, 2005; Hungria et al., 2010; De-Bashan, Hernandez & Bashan, 2012).

O aumento do sistema radicular das plantas inoculadas além de aumentar a absorção de nutrientes, melhora a absorção de água que por sua vez beneficia o crescimento de culturas em solos deficientes em água (Saikia et al., 2012). Sarig et al. (1988) trabalhando com sorgo em nível de campo na presença de déficit hídrico submetidos a inoculação com *Azospirillum*, observaram maior potencial de água na folha, condutância estomática, transpiração e senescência de folhas.

Ressalta-se ainda, além do suporte ao crescimento maior por efeito dos fitormônios sintetizados pelo *A. brasilense*, a fixação biológica de nitrogênio é outro benefício proporcionado pela bactéria, resultando em aporte no crescimento e mitigação dos impactos ambientais negativos associados à adubação nitrogenada (Walker et al., 2011; Filgueiras & Meneses, 2015). Há muito conhecimento sobre formulações e tecnologias de inoculação com essas bactérias (Basan et al., 2015), mas estudos abordando seu comportamento sob diferentes estresses abióticos de acidez e umidade do solo são necessários para compreender sua eficiência nos cenários agrícolas atuais. Diante do exposto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho sob solução nutritiva com diferentes pH's e em solo com diferentes níveis de umidade, cultivados em ambiente protegido.

MATERIAIS E MÉTODOS

A realização do estudo compreendeu dois experimentos desenvolvidos entre os meses de novembro de 2015 a abril de 2016 em ambiente protegido pertencente ao departamento de Biologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), situada na região central do Rio Grande do Sul (coordenadas geográficas 29°43'02.93''S e 53°44'00.10''O) a uma altitude de 119 metros. As estufas utilizadas para realização dos experimentos correspondem a ambiente protegido para o estudo do pH em solução nutritiva sob condição controlada para temperatura e umidade, e estufa convencional para a mensuração do efeito da umidade do solo.

O primeiro experimento avaliou o pH em solução nutritiva sendo inserido em 27/11/2015 sob o delineamento experimental inteiramente casualizado com dez tratamentos distribuídos em um bifatorial com três repetições. Os tratamentos corresponderam a cinco variações de pH's em solução nutritiva de cultivo (4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5), inoculadas ou não com *A. brasilense*.

A inoculação do *Azospirillum brasilense* nas sementes de milho (híbrido DEKALP 240) ocorreu no momento em que se procedeu com a colocação das sementes para germinar em papel de germinação, dez dias anteriormente a instalação do experimento, utilizando a dosagem de 300 mL do produto "AzoTotal" (líquido) contendo as estirpes AbV5 e AbV6 numa concentração de $2,0 \times 10^8$ Ufc ml⁻¹ de *A. brasilense* para 60.000 sementes. A germinação antecipada das sementes foi realizada com o intuito de obter plântulas com tamanho aproximado de 10 cm de radícula para sua fixação prévia no suporte de sustentação (isopor) situado sobre o recipiente de solução nutritiva.

As unidades experimentais foram compostas por caixas plásticas com capacidade para 17 litros de solução nutritiva com dimensões de 30x23x17cm, onde se acondicionou doze plântulas de milho pré-germinadas com radícula em perfeita sanidade e uniformidade. Estas plântulas foram fixadas em isopor com auxílio de uma tira de espuma envolta na radícula, flutuando-as sobre a solução aonde permaneceu todo sistema radicular submerso.

Na solução nutritiva utilizada no cultivo não se utilizou nitrogênio na sua formulação sendo balanceada na concentração de: 221,96 de CaCl_2 , 246,4 de MgSO_4 e 544,4 mg L^{-1} de KH_2PO_4 . A solução de micronutrientes foi composta por molibdato de sódio 0,9 g L^{-1} , ácido bórico 1,5 g L^{-1} , sulfato de cobre 2,5 g L^{-1} , sulfato de manganês 2,0 g L^{-1} e sulfato de zinco na concentração de 1 g L^{-1} de solução. Durante o cultivo a solução nutritiva permaneceu aerada e o pH ajustado diariamente conforme o tratamento, usando-se, respectivamente, HCl e NaOH a 0,5 mol L^{-1} para a sua calibração. A cada sete dias fez-se a substituição da solução nutritiva por uma nova.

O segundo experimento englobou a avaliação dos diferentes níveis de umidade do solo com e sem inoculação de semente com *A. brasilense* no delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições para cada tratamento, totalizando 32 unidades experimentais, sendo instalado em 29 de março de 2016. Os níveis de umidade constituíram 25%, 50%, 75% e 100% da umidade do solo na capacidade de campo (Ucc).

Para a determinação da Ucc, foi coletado solo seco ao ar livre, o qual posteriormente foi peneirado antes do preenchimento dos vasos em peneira com malha de 5 mm, para retirada de possíveis destroços e agregados maiores. Em seguida, foi acomodado nos vasos e colocado para saturar por um período de 24 h. Logo após, foram cobertos com filme plástico, para evitar a evaporação, e colocados para drenar livremente, sendo medidas suas massas nos tempos zero, 16, 24, 48, 60, 84 e 120 horas. Para determinação, considerou-se a metodologia descrita por Kiehl (1979) e Casaroli & Van Lier (2008).

As unidades experimentais corresponderam a vasos de plástico com capacidade de 8 L de solo, alocados sobre bancadas situadas a 0,70 m do solo. O solo utilizado para o cultivo compreendeu a um Argissolo Vermelho Distrófico arênico (SiBCS, 2006), retirado em uma camada de 0-0,20 m de profundidade com respectivas características químicas: 5,5 pH em H_2O ; 87,76 mg dm^{-3} de P (Extrator Mehlich-1); 68,1 mg dm^{-3} de K; 12,4 g kg^{-1} de matéria orgânica; 1,77 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Ca^{+2} ; 0,60 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Mg^{+2} e $\text{CTC}_{\text{pH}7,0}$ de 6,92 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ (Tedesco, Volkweiss & Bohmen, 1995).

A adubação de base empregada para a semeadura utilizou como fontes superfosfato triplo (46% P_2O_5) e cloreto de potássio (60% K_2O) conforme a necessidade obtida através da análise de solo (CQFS, 2004). A adubação foi misturada anteriormente ao enchimento dos vasos para uma uniformização do solo para cultivo, com a adição de ureia para tratamentos com este elemento. O manejo nitrogenado utilizado compreendeu a 20% no momento da semeadura e mais uma aplicação em estágio fenológico V3 (Ritchie, Hanway & Benson, 1993) com 40% da recomendação obtida pela interpretação da análise de solo, $210\text{kg de N ha}^{-1}$ para expectativa de rendimento de 12 Mg ha^{-1} (EMBRAPA, 2013).

A semeadura foi realizada em 29 de março de 2016, utilizando-se o híbrido DEKALP 240. A inoculação com estirpes de *A. brasilense* ocorreu momentos antes da semeadura na dosagem e produto previamente descritos. Foram semeados quatro sementes por unidade experimental igualmente distribuídas nos vasos numa profundidade de 2 cm. Quando emergidas foi realizado o raleio deixando apenas duas plantas por vaso igualmente distribuídas.

As avaliações realizadas constituíram a medição do volume do sistema radicular (VR), comprimento radicular (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) (folhas e colmo) e massa de raiz (MSR), área foliar (AF) e trocas gasosas das folhas para o experimento pH de solução nutritiva. Para a umidade do solo foram mensurados MSR, MSPA, trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e total).

As trocas gasosas para ambos experimentos seguiram mesma metodologia, sendo realizadas quando as plantas se encontravam em estágio de desenvolvimento com três folhas completamente expandidas (V3) (Ritchie et al., 1993). A determinação das trocas gasosas foi realizada com a utilização do medidor portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA), marca LICOR, modelo LI-6400 XT, utilizando uma radiação fotossintética de $1000\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 de $400\ \mu\text{mol mol}^{-1}$. Na determinação das trocas gasosas, avaliaram-se a eficiência do uso da água (EUA - $\text{mol CO}_2\ \text{mol H}_2\text{O}^{-1}$) obtida pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e quantidade de água transpirada e a eficiência da carboxilação da rubisco (EiC) obtida pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e a concentração interna de CO_2 . Essas variáveis foram medidas durante o período entre 10h e 12h em todas as plantas.

O VR, CR, AF, e matéria seca das plantas de milho cultivados em solução nutritiva foram determinados em estágio fenológico V4, em três plantas por unidade experimental. As raízes e as folhas das plantas foram digitalizadas com auxílio de um scanner Epson 11000 XL, as quais foram dispostas em uma pequena lâmina de água cuidando-se para não sobrepor

principalmente as raízes, após quantificadas com auxílio do Software WinRhizo Pro, para a determinação do comprimento total e volume total para raízes e área foliar. Após a digitalização, as raízes e as folhas foram alocadas em sacos de papel para realizar a secagem estufa com circulação de ar forçada, numa temperatura de 65°C por 72 horas até massa constante. A pesagem foi realizada com auxílio de uma balança de alta precisão (0,0001 g).

Para a determinação da MSR e MSPA nas diferentes U_{cc} , foram coletadas 2 plantas em estágio fenológico V4, separando-se suas estruturas previamente em raiz, caule e folhas que foram secadas em uma estufa de circulação forçada de ar, numa temperatura 65°C, por 72 horas, e posterior pesagem em balança digital analítica de alta precisão 0,0001 g. Os pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e total) foram determinados nas folhas do milho em V3, em duas posições medianas da última folha expandida conforme Argenta, Silva, Bortolini, Forsthofer & Strieder, (2001). A estimativa do teor de pigmentos foi feita com o clorofilômetro Clorofilog CFL1030, em duas plantas por vaso e expresso em índice SPAD.

Todos os parâmetros mensurados foram submetidos ao teste das pressuposições do modelo matemático (Barbin, 2003) e posteriormente a análise da variância dos dados pelo teste F. Quando significativos, as médias dos fatores qualitativos foram submetidas o teste de Scott-Knott (5% de probabilidade) e para as médias dos fatores quantitativos, submetidas à análise de regressão polinomial até terceiro grau. Para todos os resultados expressos graficamente determinou-se o intervalo de confiança ($P \leq 0,05$). Para as análises foi utilizado o software SISVAR (Ferreira, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa seca de raiz e parte aérea de milho em estágio fenológico inicial foram influenciados pela redução da umidade do solo e a presença de *A. brasilense* (Figura 7). Na produção de MSR a diminuição da umidade do solo para 25% da U_{cc} aumentou a produção de MSR em 4,6% (Figura 7a). Em restrição hídrica, as plantas destinam maior concentração de fotoassimilados e reservas para a formação de raízes mais longas (Kang, Shib & Zhong, 2000; Ali, Rawat, Meghvansi & Mahna, 2009) e novas raízes laterais (Cesari et al., 2016), buscando explorar um volume maior de solo.

A utilização de *A. brasilense* em solos com restrição hídrica também apresentou influência na MSR. Os níveis de umidade até 85% da U_{cc} não apresentaram diferença para a presença da bactéria, mas nas umidades inferiores, o uso da bactéria incrementou a produção de MSR. Na U_{cc} de 25% este aumento chegou a 14,1%. Estes resultados estão atrelados ao

fornecimento de N pela FBN (De-Basan et al., 2012) e a síntese de fitormônios (Hungria, Campo, Souza & Pedrosa, 2010). Dentre os fitormônios, as auxinas, citocininas e giberelinas atuam na divisão celular do meristema apical da raiz, alongação e divisão celular, conferindo um maior desenvolvimento do sistema radicular (Chavarria & Mello, 2011).

Outro aspecto associado à eficiência do *A. brasilense* no desenvolvimento radicular em ambientes com estresse hídrico está à capacidade da bactéria em proporcionar alterações morfológicas que garantam sua adaptabilidade. O *Azospirillum* pertence ao grupo de bactérias diazotróficas facultativas de vida livre, colonizando tanto a parte interna das raízes como a rizosfera (Hungria, 2011) e estão sujeitas às intempéries do meio que colonizam. Cesari et al. (2016) em seus estudos encontrou uma rápida alteração dinâmica e estrutural da fluidez da membrana da *A. brasilense* inoculado em amendoim (*Arachis hypogaea*) quando variou a pressão osmótica do meio.

Para a MSPA (Figura 7b) o déficit hídrico no solo influenciou o acúmulo de fitomassa seca negativamente. A menor disponibilidade de umidade do solo até 25% da Ucc resultou numa redução de 46,33% na quantidade de biomassa acumulada comparado com solo sem restrição hídrica. Este comportamento está associado à mobilização da maior concentração dos carboidratos para os pontos de crescimento radicular, pois há a necessidade de um sistema radicular maior para suprir sua demanda de água. Os resultados obtidos na MSPA corroboram com Wu, Huang & Warrington (2011), em estudo com milho, sendo que valores de 80 para 50% da capacidade de campo condicionaram uma redução de 50% no massa seco da parte aérea.

O uso da inoculação no cultivo de milho proporcionou incremento de MSPA somente para níveis de umidade acima de 52% da Ucc, com maior produtividade para 100% da Ucc sendo 6,5% superior comparado com a ausência da bactéria. Nos níveis de umidade do solo abaixo deste patamar ocorreu uma redução na produção de folhas e colmos, sendo que para 25% da Ucc esta variação foi 23% menor no acúmulo de MSPA (Figura 7b). Este resultado está associado ao papel biológico da auxina, sendo que a mesma em altas concentrações na planta sob estresse hídrico, reduz a síntese de citocinina endógena e aumenta a expressão de citocinina oxidase (Spaepen, Vanderleyden & Okon, 2009; Guimarães, Stone, Oliveira, Rangel & Rodrigues, 2011; Taiz & Zaiger, 2013) reduzindo a concentração final deste fitormônio atrelado ao crescimento da parte aérea das plantas e meristemas apicais aéreos.

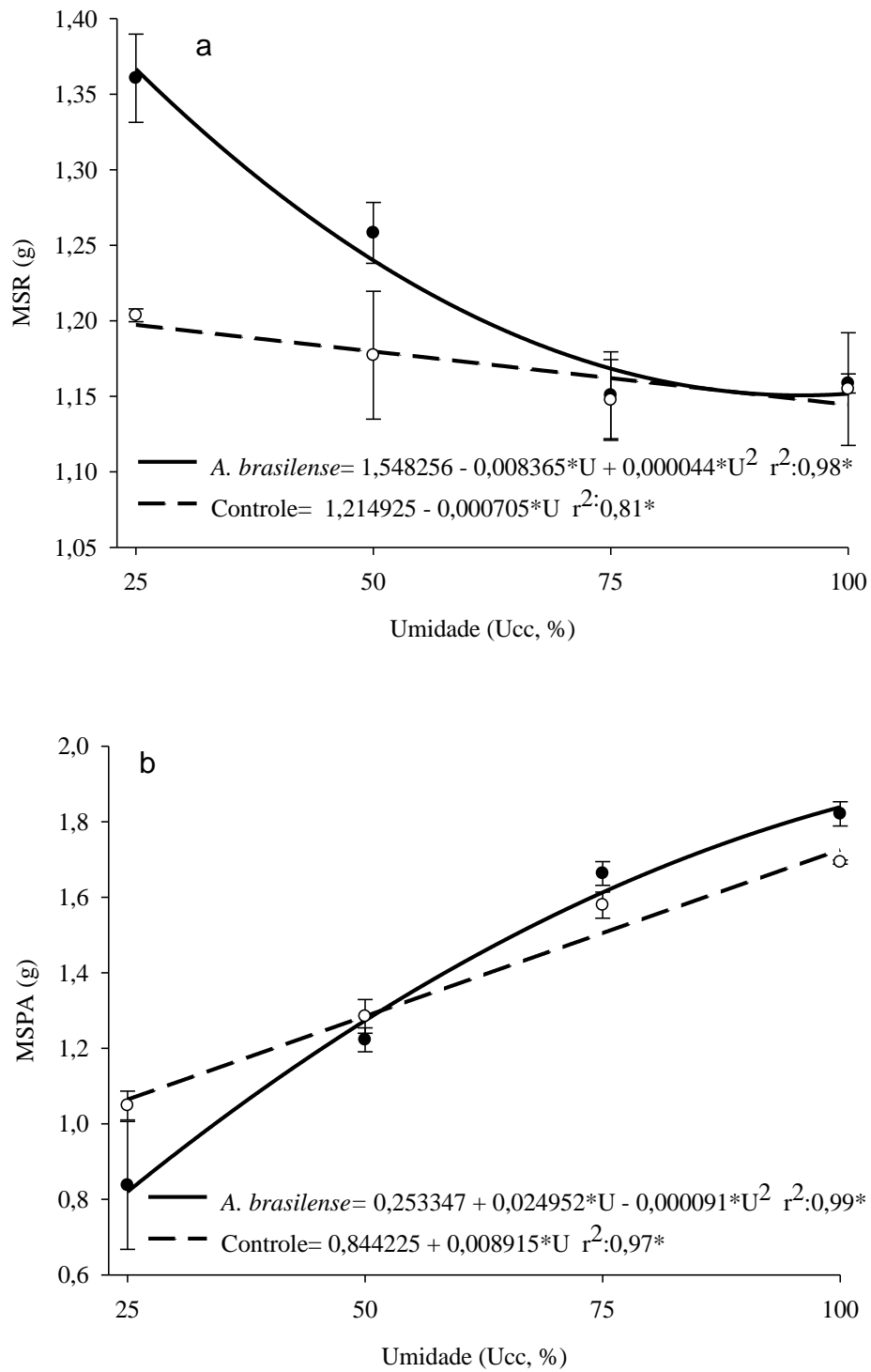


Figura 7 - Matéria seca da raiz (MSR, a) e parte aérea (MSPA, b) de plantas de milho no estágio fenológico V4 submetidas a diferentes níveis de umidade de solo. Santa Maria, RS. 2016.

Na comparação entre a produção de MSR e MSPA observa-se comportamento inverso para acúmulo de matéria seca, sendo que o maior acúmulo do sistema radicular repercutiu em menor acúmulo de massa seca da parte aérea (Figura 7a e 7b). Neste sentido, o potencial produtivo da cultura é severamente inibido com diminuição da parte aérea das plantas, em especial, folhas (Fernández, Mcinnes & Cothren, 1996; Naseri, Moghadam, Darabi, Hatami & Tahmasebei, 2013) sob déficit hídrico. Bittman & Simpson (1987) e Cirilo & Andrade (1996), ambos trabalhando com milho em condições de déficit hídrico, verificaram que biomassa seca menor comparadas às plantas em condições normais de umidade de solo, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho.

Na figura 8(a) é representada a eficiência do uso da água nos diferentes níveis de umidade do solo e na presença de *A. brasilense*. Observa-se que para a umidade 76% da Ecc existe a menor eficiência técnica para a utilização da água, sendo no déficit hídrico 25% da Ucc otimizada a absorção do carbono, absorvendo 16% mais por mol de água perdido. Estes resultados estão atrelados ao aumento do sistema radicular e diminuição do aporte de folhas das plantas de milho em estágio inicial de desenvolvimento. A maior absorção de água em sistema radicular com maior área superficial radicular, juntamente com os processos regulatórios de perda de água pela transpiração e a entrada de dióxido de carbono para o processo fotossintético são diretamente relacionados com a eficiência do uso da água (Ryan, 2011; Silva, Jifon, Santos, Jadoski & Silva, 2013).

A utilização da bactéria promotora de crescimento reduziu 7% à eficiência na utilização da água (EUA) na umidade de 25% da Ucc. Este comportamento neste nível de umidade está associado a maior formação de biomassa radicular, conseqüentemente maior suprimento de água a planta. (Figura 8a). Segundo Davies & Zhang (1991), sob déficit hídrico, as plantas apresentam mecanismos de regulação fisiológica mais eficiente, como a menor condutância estomática, responsáveis pela menor perda de água em relação à quantidade de carbono assimilado.

Aumentando a umidade do solo, pode ser observada uma redução na diferença da EUA entre plantas icocoladas e não inoculadas com *A. brasilense*. Este fato está associado a maior capacidade de água disponível para compensar gastos com perda de água para a assimilação do carbono atmosférico.

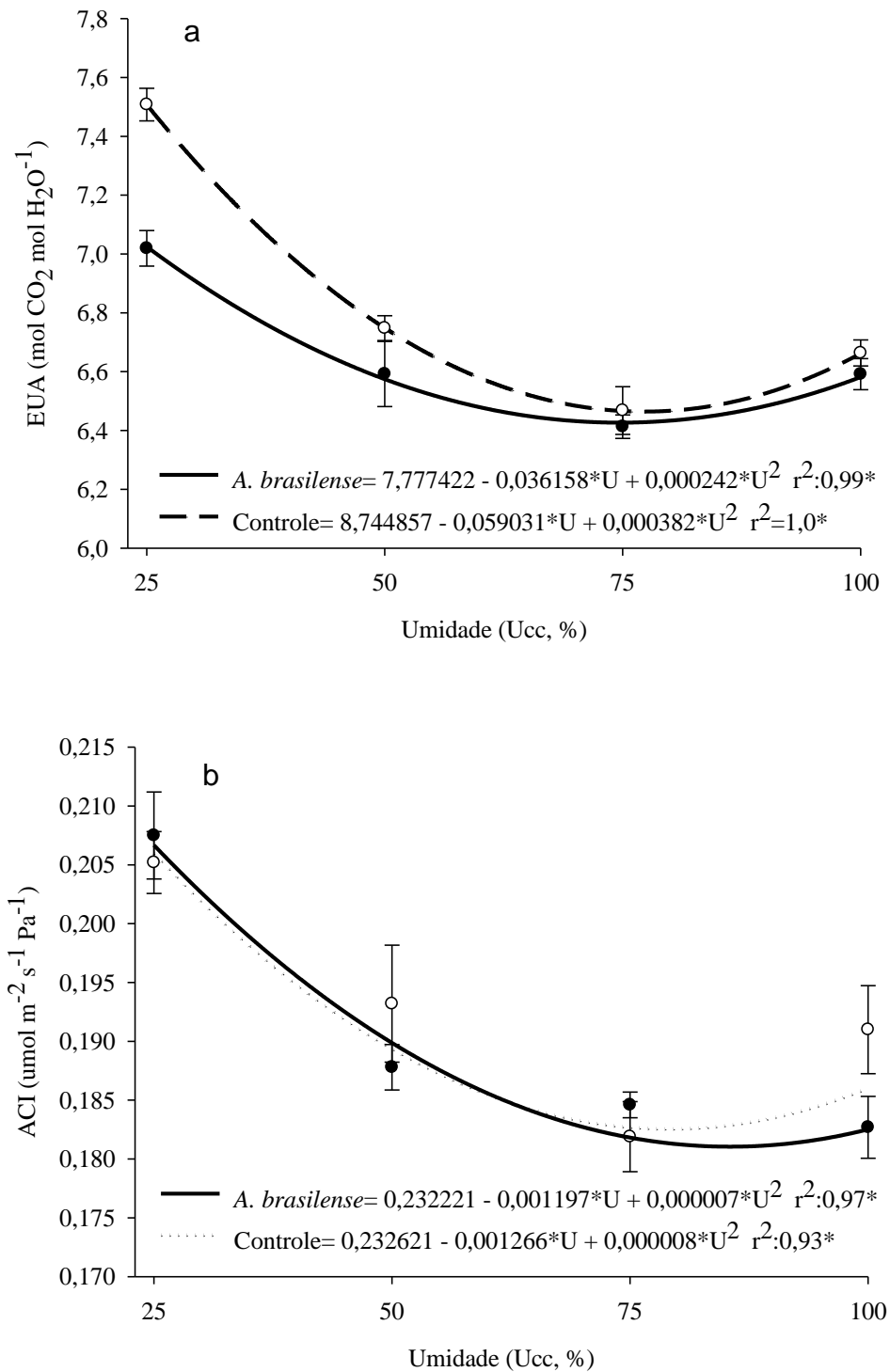


Figura 8 - Eficiência do uso da água (EUA, a) e eficiência instantânea de carboxilação da rubisco (EiC, b) na folha do milho no estágio fenológico V3 submetido a diferentes níveis de umidade do solo. Santa Maria, RS. 2016.

O estresse hídrico também aumentou a eficiência instantânea de carboxilação sendo para a umidade do solo de 25% da Ucc obtida a maior EiC, sendo 13% maior em relação a menor EiC observada 80% da Ucc para a ausência de inoculação das sementes (Figura 8b). A partir da umidade 63% da Ucc, existe uma diferença para a utilização de *A. brasilense*, sendo na umidade do solo de 100% da Ucc a máxima variação observada, com redução de 2% para a assimilação de carbono em relação à concentração de CO₂ na presença da bactéria. Os resultados encontrados podem ser referidos ao que foi mencionado por Silva et al. (2013) e Silva et al. (2015), que salientam sob déficit hídrico ocorre uma menor concentração intercelular de dióxido de carbono em relação à quantidade assimilada pela planta através do processo de fotossíntese.

Os pigmentos fotossintéticos também apresentam interação com o teor de umidade do solo. O índice SPAD para a clorofila a, b e total (Tabela 2) nos diferentes níveis de umidade do solo submetidos à inoculação com *A. brasilense* diferem estatisticamente ($P > 0,05$). Os maiores valores para clorofila foram observados sob nenhuma restrição hídrica (100% da Ucc) e conforme o aumento do déficit hídrico as plantas apresentaram um menor índice SPAD. Estes resultados estão associados a redução da quantidade de biomassa nos ambientes com redução da umidade do solo, por consequência menor área foliar, menor concentração de pigmentos formados nas folhas.

Para os diferentes pigmentos a variação encontrada foi 11,16; 14,12 e 11,85% menor na submissão da cultura do milho ao déficit hídrico (25% da Ucc) para a clorofila a, clorofila b e clorofila total. Resultados foram similares encontrados por Schlichting et al. (2014), submetendo o milho a diferentes tensões de água no solo (15 a 55 kPa), os quais obtiveram comportamento similar para índice SPAD na cultura do milho, sendo na proximidade da capacidade de campo (10 kPa) obteve-se incremento de 15% no teor de clorofila total.

A utilização das bactérias diazotróficas contribuiu para incremento dos pigmentos fotossintéticos nas folhas do milho quando em déficit hídrico. Para o índice SPAD da clorofila total, foi observado um incremento médio de 1% nos níveis de umidade 75 e 50% da Ucc (Tabela 2). Este aumento pode estar associado à síntese de citocinina, um fitormônio produzido pela bactéria diazotrófica que auxilia na retardação da degradação de proteínas e clorofilas nas folhas das plantas (Fancelli, 2010).

Para a umidade 100 e 25% da Ucc não foi constatado diferença significativa em plantas que utilizavam a bactéria diazotrófica no tratamento de sementes e o controle, para a clorofila total (Tabela 2). Esse resultado pode ser explicado pelo fato que em solos com excesso ou a falta severa de umidade é condicionado nas plantas rápidas mudanças hormonais

que alteram o equilíbrio entre síntese, degradação e transporte de hormônios (Grzesiak et al., 2016).

Tabela 2 - Índice de clorofila (SPAD) de plantas de milho em estágio fenológico V3 para diferentes níveis de umidade do solo (Ucc, %) e presença de inoculação de sementes em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2016.

Inoculação	Níveis de umidade do solo			
	25	50	75	100
Clorofila a				
<i>A. brasilense</i>	37,06 aD	37,67 aC	39,70 aB	40,62 bA
Controle	37,14 aC	36,60 bD	38,81 bB	41,81 aA
Média	38,68			
CV%	0,59			
Clorofila b				
<i>A. brasilense</i>	10,07 aC	8,17 bD	11,34 aB	12,39 aA
Controle	9,85 aB	8,62 aC	11,25 aA	11,47 bA
Média	10,39			
CV%	2,1			
Clorofila Total				
<i>A. brasilense</i>	47,14 aC	45,80 aD	51,04 aB	53,01 aA
Controle	46,99 aC	45,22 bD	50,06 bB	53,29 aA
Média	49,07			
CV%	0,66			

CV%: coeficiente de Variação, médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não apresentam significância a 5% pelo teste de Scott-Knott.

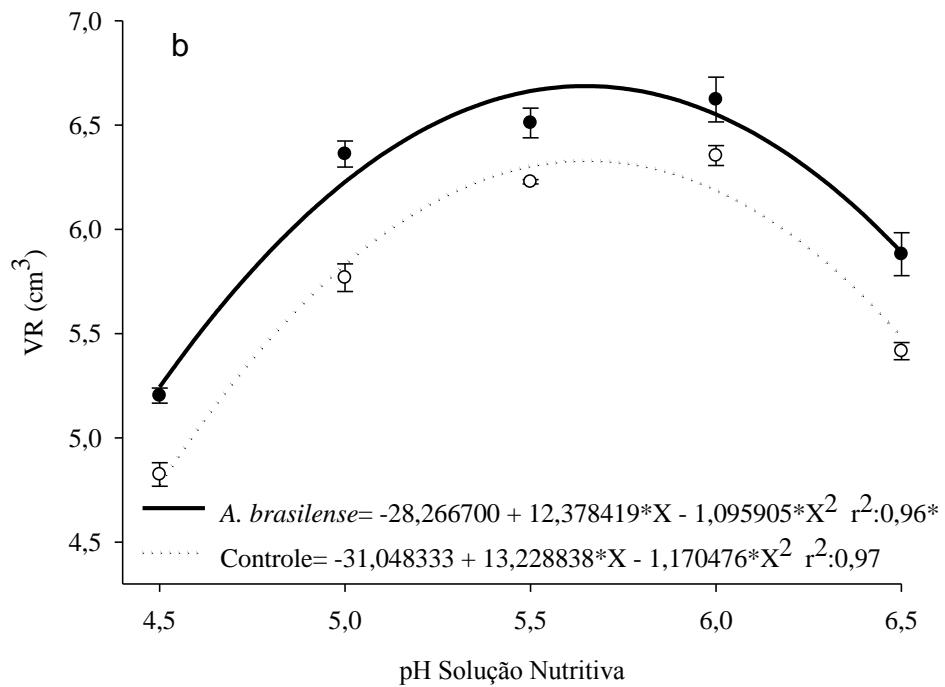
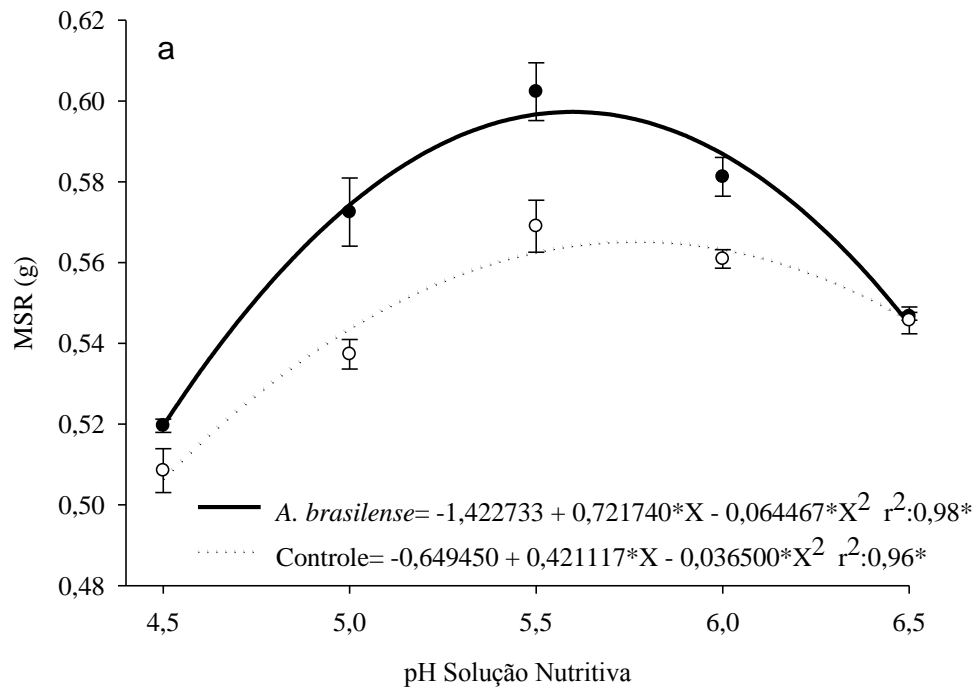
O pH, é outro fator preponderante sobre o desenvolvimento das plantas bem como afeta diretamente a solução do solo, em especial a rizosfera. Incide diretamente sobre a disponibilidade de nutrientes e é considerado um fator limitante ao desenvolvimento da biota do solo. Neste sentido avaliando a interação do *A. brasilense* na cultura do milho em diferentes potenciais hidrogênicos, observa-se a influência tanto para pH's mais ácidos como alcalinos nas respostas de desenvolvimento e metabolismo da planta.

O desenvolvimento radicular foi afetado pela variação do pH de solução, sendo a máxima eficiência técnica observada entre os pH's 5,5 e 6,0 para as diferentes variáveis MSR, VR e CR (Figura 9). Nesta variação de pH levemente ácido ocorre a maior disponibilidade de nutrientes para a planta, sendo mais propício para a absorção pelo sistema radicular das plantas (Taiz & Zeiger, 2013). Estes resultados condizem com Anderson et al. (2013), para pH levemente acima de 5,5 ocorre melhor desenvolvimento das plântulas de milho no acúmulo de biomassa radicular.

Para a produção de MSR, foi obtida a máxima eficiência técnica no pH 5,8, sendo que na variação do potencial hidrogênico superior ou inferior reduzido o acúmulo de biomassa radicular (Figura 9a). No decréscimo observado até o pH 4,5 ocorre uma redução de 11,8% na MSR. Resultados esses associados ao aumento da solubilidade do alumínio, elemento mineral tóxico que condiciona a redução do sistema radicular, pela inibição dos meristemas apicais (Anderson et al, 2013).

Na utilização de *A. brasilense* na inoculação de sementes, as plantas de milho também foram influenciadas pela acidez da solução, apresentando uma redução para MSR nos pH's mais ácidos e alcalinos, mas em relação a ausência da bactéria apresentou incremento superior do sistema radicular. Sua máxima eficiência técnica foi obtida para o pH 5,6 com 6,2% a mais de massa radicular (Figura 9a), perfazendo o incremento superior numa variação de amplitude de 4,9 a 6,3 para MSR em relação a ausência do *A. brasiliense*. Conforme Inagaki et al. (2015) estudando o efeito *A. brasilense* em diferentes pH's, obteve para a massa seca radicular de milho um incremento de 3,5% no potencial hidrogênico 5,5. O maior desenvolvimento do sistema radicular proporcionado pelas bactérias promotoras de crescimento advém de diferentes mecanismos, como a síntese de hormônios, fixação biológica de N e solubilização de nutrientes (Kang et al., 2009; Steenhoudt, Vanderleyden & Janssens, 2011; Walpola & Yoon, 2013).

No volume radicular (VR) de plantas de milho submetidas à variação de pH's observa-se um efeito semelhante como na MSR para os diferentes níveis de pH da solução (Figura 9b). A inoculação favoreceu um aumento no volume de raízes para todos os níveis dos potenciais hidrogênicos, com maior variação no pH 4,5 com 9,7%. O aumento do pH até 5,7 esta variação do VR diminui a menor diferença, mas mesmo assim apresentando incremento de 5,6% no volume de raízes entre plantas que receberam inoculação em relação a sementes não inoculadas. Em relação à máxima eficiência técnica o tratamento sem a presença da bactéria atingiu o máximo valor de VR no pH 5,7, sendo na presença de *A. brasilense* este VR foi igual e/ou para a amplitude de pH's entre 5,1 até 6,2, com a máxima eficiência em pH 5,6. Este efeito pode estar associado ao desenvolvimento maior de raízes secundárias e pêlos radiculares, que aumentam consideravelmente a área de superfície proporcionados pela síntese de fitormônios e a Fixação biológica de N pelo *Azospirillum* (Chavarria & Mello, 2011), além da maior disponibilidade de nutrientes nesta magnitude de pH (Taiz & Zeiger, 2013).



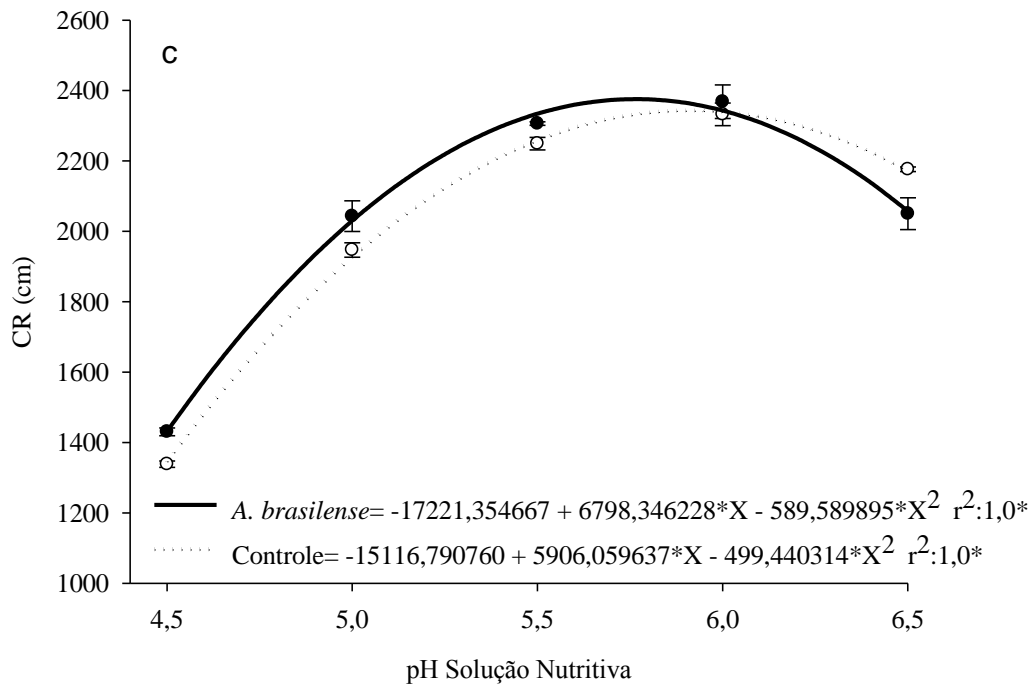


Figura 9 - Massa seca de raiz (MSR, a), volume radicular (VR, b) e comprimento radicular (CR, c) de milho submetido a diferentes potenciais hidrogênicos de solução nutritiva e inoculação com *A. brasilense* em casa de vegetação. Santa Maria, RS, 2015.

Quanto ao comprimento radicular (CR), observa-se que a redução do pH para níveis mais ácidos limitou a elongação radicular, divisão celular e crescimento dos meristemas apicais nas raízes, reduzindo 74% o CR com a diminuição do pH de 5,9 a 4,5 (Figura 9c). Em relação à utilização do *A. brasilense* no cultivo, este proporcionou um pequeno incremento de 6,3% no tamanho de raízes no pH 4,5, sendo que até pH 5,9 a presença da bactéria proporcionou maior CR em relação a plantas sem a presença do *A. brasilense* (Figura 9c). Para a máxima eficiência técnica no VR em milho entre os tratamentos com e sem inoculante foi constatado uma pequena variação, no pH 5,8 e em pH 5,9 respectivamente. Estes resultados para sistema radicular reforçam a importância de o potencial hidrogênico estar acima de 5,5 e até 6,0, para um melhor crescimento radicular das plantas em desenvolvimento inicial, e para a presença do *A. brasilense* variações maiores de pH são contornados com os benefícios proporcionados pela bactéria.

O crescimento de folhas e colmos também foi afetado por diferentes potenciais hidrogênicos, sendo uma variação maior de pH ideal para a desenvolvimento de massa seca e área foliar (Figura 10). Na MSPA a máxima eficiência técnica obtida no pH 5,9 para o controle foi 4,4% menor ao acúmulo de massa seca encontrado na presença do *A. brasilense*

em pH 5,5. Além disto, a superioridade no incremento pode ser observado para uma ampla variação de pH, entre 4,9 a 6,1 em relação a maior produção de MSPA obtida no controle (Figura 10a). Este maior desenvolvimento da planta na parte aérea é efeito direto da maior biodisponibilidade nitrogênio e benefícios proporcionados pela bactéria diazotrófica em estudo (De-Basan et al., 2012). Dentre estes benefícios destaca-se a síntese de citocinina, fitormônio envolvido no desenvolvimento dos meristemas apicais aéreos, síntese de proteínas e pigmentos fotossintéticos, mobilização de nutrientes e no retardamento da senescência das folhas (Taiz & Zeiger, 2013).

No cultivo de milho sem a utilização da bactéria, a diminuição de pH reduziu drasticamente o acúmulo de matéria seca. Na variação de 5,9 para 4,5, esta perda correspondeu a 19%. Estes resultados condizem com os encontrados por Caires, Barth, Garbuio & Kusman (2002) estudando doses de calcário aplicados em sistema plantio direto, os quais constataram redução de incremento na produção de matéria seca em 7,5% pela redução do pH de 5,6 para 4,5. A baixa disponibilidade de nutrientes em solos ácidos, aliados ao menor desenvolvimento do sistema radicular pela ação tóxica do alumínio são fatores que estão associados na redução do aporte de MSPA.

Para a área foliar pode se observar um comportamento similar ao obtido na produção de MSPA, visto sua direta relação na sua composição juntamente com o colmo desta fração da planta. Pode se observar a maior AF em milho no pH 5,6, sendo para potenciais mais ácidos como alcalinos, uma redução no desenvolvimento foliar, semelhantemente ao obtido por (Pires, Souza, Queiroz, Miranda & Galvão, 2003; Caires, Garbuio, Churka, Barth & Correa, 2004). Com a inserção do *A. brasilense* observa-se um incremento de 4,9% da AF atingindo a maior área em pH de solução 5,3. Para a redução do pH até 4,5 apesar da menor AF acumulada, existe ainda um incremento de folha de 10,7% para a utilização da bactéria em relação a sua ausência (Figura 10b). Neste sentido, a utilização do *A. brasilense* em solos com pH's mais baixos se apresenta vantajoso, pois a área foliar é uma importante característica condicionadora da produção, através dos processos de interceptação da luz e produção de fotoassimilados.

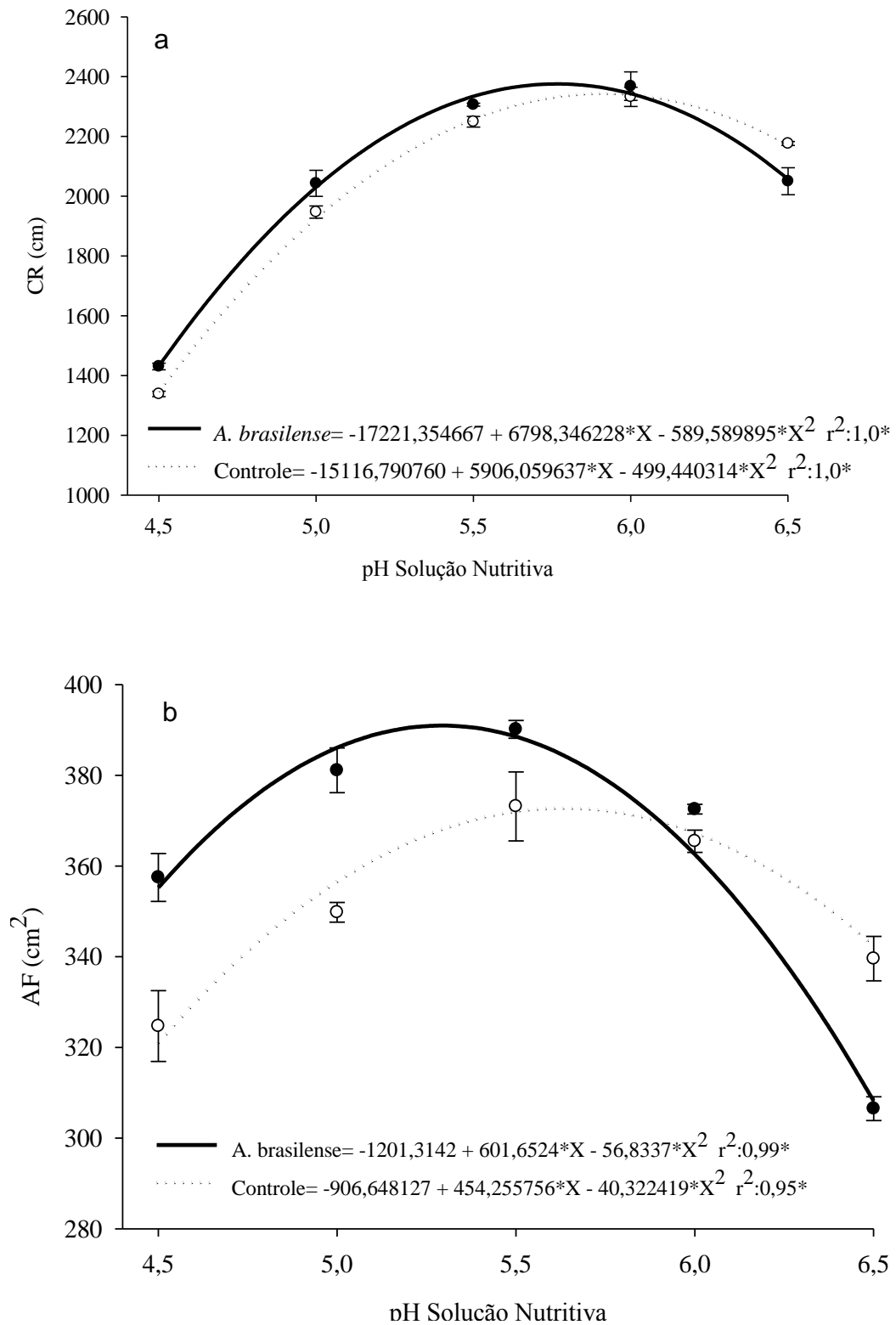


Figura 10 - Massa seca de parte aérea (MSPA, a) e área foliar (AF, b) de plântulas de milho submetidas a diferentes pH's de solução nutritiva em casa de vegetação. Santa Maria, RS, 2015.

A eficiência do uso da água (EUA) na variação do pH apresentou maior desempenho para a inoculação de sementes com *A. brasilense* (Figura 11a). A maior EUA foi observada em pH 6,5 na presença da bactéria, sendo esta maior eficiência atribuída a menor área foliar neste potencial hidrogênico. Quando aumentou a AF e a MSR diminui a EUA, sendo que para a presença da bactéria a menor eficiência foi obtida no pH 5,3. Neste sentido, o aumento da capacidade de absorção da água proporciona no desenvolvimento foliar mecanismos menos especializados no controle de perda de água para a atmosfera durante o processo associado a captura do carbono para a folha. Esses resultados encontrados vêm de acordo com Bashan & De-Bashan (2005) que salientam os benefícios provocados pelo *A. brasilense* no desenvolvimento radicular perfazendo uma maior absorção de água.

Para a eficiência instantânea de carboxilação obteve-se os pontos de máxima eficiência técnica no pH 5,4 e 5,7, respectivamente com e sem inoculação com *A. brasilense*, sendo para a presença da bactéria uma EiC maior de 6,9% observada. A maior eficiência de assimilação de dióxido de carbono em relação à concentração intercelular de CO₂ pode ser observada em superioridade desde o pH 4,6 até 6,2 para presença da *A. brasilense*. Estes resultados demonstram a influência da *A. brasilense* nas plantas de milho, aumentando a capacidade de absorção de água, conseqüentemente com a demanda suprida é evitado o fechamento estomático, aumentando a concentração interna do CO₂ e com isso uma maior atividade de carboxilação pela RUBISCO (Bertolli, Souza & Souza, 2015).

Outro aspecto observado na utilização da *A. brasilense*, foi que apesar da resposta para EiC ser quadrática, a acidificação da solução proporcionou um aumento na diferença de EiC em relação ao controle sendo para pH 4,5 esta eficiência superior em 12,2% e para pH 6,5 nula. Este comportamento indica que a maior eficiência de carboxilação para a presença do *Azospirillum* ocorre em pH's decrescentes. Esse resultado pode estar associado ao maior desenvolvimento da parte aérea do milho e uma otimização mais eficiente de absorção de CO₂ quando foi submetido a pH's mais ácidos, visto que a acidez do solo condiciona o fechamento estomático e a redução da assimilação de CO₂ (Inagaki et al., 2015).

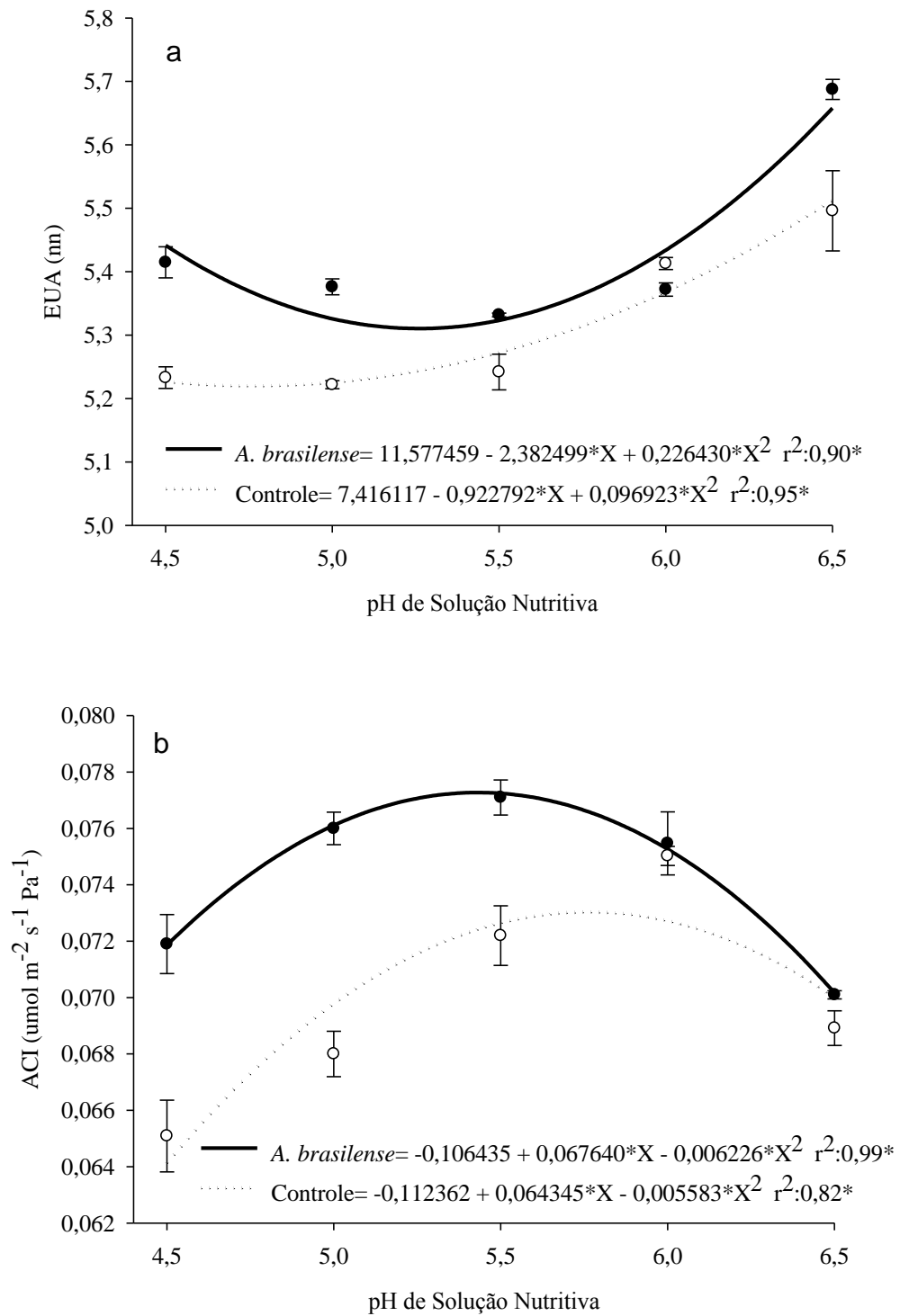


Figura 11 - Eficiência do uso da água (EUA, a) e índice de carboxilação da rubisco (EiC, b) em milho no estágio v4 submetido a diferentes pH's de solução e inoculação de sementes de milho. Santa Maria, RS, 2015.

CONCLUSÕES

A utilização do *Azospirillum brasilense* amplia a magnitude de pH's com possibilidade de cultivo para milho sem prejudicar seu desenvolvimento, entre 5,1 a 5,9. Sua utilização associada à cultura em solos mais ácidos minimiza perdas no desenvolvimento inicial.

Em solos com restrição hídrica a utilização da *A. brasilense* aumenta à capacidade de suprimento de água a planta, auxiliando a planta num maior desenvolvimento de um sistema radicular.

REFÊRENCIAS

- Ali, S. F., Rawat, L. S., Meghvansi, M. K., & Mahna, S. K. (2009). Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of Rajasthan, India. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 4(1), 13-18.
- Anderson, N. P., Hart, J. M., Sullivan, D. M., Hulting, A. G., Horneck, D. A., & Christensen, N. W. (2013). *Soil acidity in Oregon: understanding and using concepts for crop production*. Corvallis. Oregon, USA: Extension Service, Oregon State University.
- Argenta, G., Silva, P. R. F., Bortolini, C. G., Forsthofe, R. E. L., & Strieder, M. L. (2001). Relação entre teor de clorofila extraível e leitura do clorofilômetro na folha de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(1), 1101-1106.
- Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L., & Rastgoo, M. (2008). Yield and seed quality of *Plantago ovate* and *Nigella sativa* under diferente irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*. 27(1), 11-16.
- Barbin, D. (2003). *Planejamento e análise de experimentos agrônômicos*. Arapongas: Midas.
- Basan, M., Zhu, M., Dai, X., Warren, M., Sévin, D., Wang, Y. P., & Hwa, T. (2015). Inflating bacterial cells by increased protein synthesis. *Molecular systems biology*, 11(10), 836.

- Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth-A critical assessment. *Advances in Agronomy*, 108(1), 77-136.
- Bashan, Y., & De-Bashan, L. E. (2005). Plant growth-promoting. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 1(1), 103-115.
- Bashan, Y., & Holguin, G. (1997). *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103-121.
- Bertolli, S. C., Souza, J. de, & Souza, G. M. (2015). Caracterização fotossintética da espécie isohídrica pata-de-elefante em condições de deficiência hídrica. *Revista Caatinga*, 28(3), 196-205.
- Bittman S., & Simpson, G. M. (1987). Soil water deficit effect on yield, leaf area, and net assimilation rate of three forage grasses: Crested wheatgrass, Madison smooth brome grass, and altai wildrye. *Agronomy Journal*, 79(5), 768- 774.
- Bottini, R., Fulchieri, M., Pearce, D., & Pharis, R. P. (1989). Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiology*, 90(1), 45-47.
- Brito, M. E. B., Araújo filho, G. D., Wanderley, J. A. C., Melo, A. S., Costa, F. B., & Ferreira, M. G. P. (2013). Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. *Bioscience Journal*, 29(1), 1244-1254.
- Caires, E. F., Garbuió, F. J., Churka, S., Barth, G., & Correa, J. C. L. (2008). Effects of soil acidity amelioration by surface liming on no-till corn, soybean, and wheat root growth and yield. *European Journal of Agronomy*, 28(1), 57-64.
- Caires, E. F., Kusman, M. T., Barth, G., Garbuió, F. J., & Padilha, J. M. (2004). Alterações químicas do solo e resposta do milho à calagem e aplicação de gesso. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 28(1), 125-136.
- Caires, E. F., Barth, G., Garbuió, F. J., & Kusman, M. T. (2002). Correção da acidez do solo, crescimento radicular e nutrição do milho de acordo com a calagem na superfície em sistema plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 26(4), 1011-1022.

- Casaroli, D., & Van Lier, Q. J. (2008). Critérios para determinação da capacidade de vaso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(1), 59-66.
- Cesari, A. B., Paulucci, N. S., Biasutti, M. A., Reguera, Y. B, Gallarato, L. A., Kilmurray, C., & Dardanelli, M. S. (2016). Reorganization of *Azospirillum brasilense* cell membrane is mediated by lipid composition adjustment to maintain optimal fluidity during water deficit. *Journal of Applied Microbiology*, 120(1), 185-194.
- Chavarria, G., & Mello, N. (2011). Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. *Revista Plantio Direto*. 125(1), 38-43.
- Cirilo, A. G., & Andrade, F. H. (1996). Sowing date and kernel weight in maize. *Crop Science*, 36(2), 325-331.
- Comissão de Química e Fertilidade do Solo (2004). *Manual de adubação e decalagem para os estados do RS e SC*. 10. ed. Porto Alegre, RS: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul.
- Davies, W. J., & Zhang, J. (1991). Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42(1), 55-76.
- De-Bashan, L. E., Hernandez, J. P., & Bashan, Y. (2012). The potential contribution of plant growth-promoting bacteria to reduce environmental degradation-A comprehensive evaluation. *Applied Soil Ecology*, 61(1), 171-189.
- Delhaize, E., & Ryan, P. R. (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant physiology*, 107(2), 315.
- EMBRAPA.Centro Nacional de Pesquisa de Solos. (2013). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 3 ed. Rio de Janeiro, RJ, Embrapa.
- Fancelli, A. L. (2010) *Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho*. Piracicaba, SP: International Plant Nutrition Institute.

FAO (2009). *Food security statistics*. Roma, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/ess/food-security-statistics/en>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., & Alberola, C. ed. *Sustainable agriculture*. Springer Netherlands, 153-188.

Fernández, C. J., McInnes, K. J., & Cothren, J. T. (1996). Water status and leaf area production in water- and nitrogen-stressed cotton. *Crop Science*, 36(5), 1224-1233.

FERREIRA, D. F. (2010). *Sisvar 5.3 : análises estatísticas por meio do Sisvar para windows*. Lavras, RS: Universidade Federal de Lavras.

Filgueiras, L. M. B., & Meneses, C. H. S. G. (2015). Efeito das bactérias promotoras de crescimento de plantas na proteção contra o estresse hídrico. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, 11(1), 1-10.

Foy, C. D. (1984). Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil.. In Adams F. (2ed.) *Soil acidity and liming*. SSSA, Madison, WI.

Garg, B. K. (2003). Nutrient uptake and management under drought: nutrient-moisture interaction. *Current Agriculture*, 27(1) 1–8.

Grzesiak, M. T., Janowiak, F., Szczyrek, P., Kaczanowska, K., Ostrowska, A., Rut, G., & Grzesiak, S. (2016). Impact of soil compaction stress combined with drought or waterlogging on physiological and biochemical markers in two maize hybrids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(5), 1-15.

Guimarães, C. M., Stone, L. F., Oliveira, J. P., Rangel, P. H. N., & Rodrigues, C. A. P. (2011). Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 41(1), 126-134.

Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil*. 331(1), 413-425.

Hungria, M. (2011). *Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo*. Londrina, PR: Embrapa Soja.

Inagaki, A. M., Guimarães, V. F., Lana M. C., Klein, J., Costa, A. C. P. R., Rodrigues, L. F. O. S., & Rampim, L. (2015). Maize initial growth with the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) under different soil acidity levels. *Australian Journal of Crop Science*, 9(4), 271-280.

Kang, S., Shib, W., & Zhangc, J. (2000). An improved water-use efficiency for maize grown under regulated deficit irrigation. *Field Crops Research*, 67(207), 214.

Kang, S. M., Joo, G. J., Hamayun, M., Na, C. I., Shin, D. H., Kim, H. Y., Hong, J. K., & Lee, I. J. (2009). Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. *Biotechnology Letters*, 31(1), 277-281.

Kiehl, E. J. (1979). *Manual de edafoogia*. São Paulo, SP: Agronômica Ceres.

Mansouri-Far, C., Modarres-Sanavy, S. A. M., & Jalali-Javaran, M. (2005). Effect of drought stress and nitrogen deficit on quality and quantity of soluble proteins in Maize (*Zea mays* L.) leaf. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36(3), 625-637.

Melo, A. D., Suassuna, J. F., Fernandes, P. D., Brito, M. E. B., Suassuna, A. F., & Aguiar Netto, A. D. O. (2010). Crescimento vegetativo, resistência estomática, eficiência fotossintética e rendimento do fruto da melancia em diferentes níveis de água. *Acta Scientiarum Agronomy*, 32(1), 73-79.

Môro, G. V., & Fritsche, N. R. (2015). Importância e usos do milho no Brasil. Milho: do plantio à colheita. In: Borém A., Galvão J. C. C., & Pimentel, M. A. (Ed.). *Milho: do plantio à colheita*. 1.ed. Viçosa: UFV.

Naseri, R, Moghadam, A., Darabi, F., Hatami, A., & Tahmasebei, G. R. (2013). The Effect of deficit irrigation and *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on grain yield, yield components of maize (S.C. 704) as a second cropping in western Iran. *Bull. Environmental Pharmacol Life Science*, 2(10), 104-112.

Pedraza, R. O., Motok, J., Salazar, S. M., Ragout, A. L., Mentel, M. I., Tortora, M. L., Guerrero-Molina, M. F. ... & Díaz-Ricci, J. C. (2010). Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 265-272.

Piccinin, G. G., Dan, L. G. M., Braccini, A. L., Mariano, D. C., Okumura, R. S., Bazo, G. L., & Ricci, T. T. E. (2011). Agronomic efficiency of *Azospirillum brasileinse* in physiological parameters and yield components in wheat crop. *Journal of Agronomy*, 10(4), 132-135.

Pires, F. R., Souza, C. M., Queiroz, D. M., Miranda, G. V., & Galvão, J. C. C. (2003). Alteração de atributos químicos do solo e estado nutricional e características agrônômicas de plantas de milho, considerando as modalidades de calagem em plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27(1), 121-131.

Purwanto, S., & Minardi, S. Optimization of Nitrogen Fertilization Input on *Zea mays* L. Cultivation through the Biological Inhibition of Nitrification. *Agricultural Sciences*, v6(2), 201.

Reddy, K. J., Wang, L., & Gloss, S. P. (1995). Potential solid phases controlling dissolved aluminum and iron in acidic soils. In Date, R. A. (ed.) *Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management*. Springer, Netherlands.

Ritchie, S. W., Hanway, J. J., & Benson, G. O. (1993). *How a corn plant develops*. Ames, ESA: Iowa State University of Science and Technology.

Rivera-Hernández, B., Carillo-Ávila, E., Obrador-Olán, J. J., Juárez-Lopez, J. F., Aceves-Navarro, L. A., & García-López, E. (2009). Soil moisture tension and phosphate fertilization on yield components of A-7573 sweet corn (*Zea mays* L.) hybrid, in Campeche, Mexico. *Agricultural Water Management*, 96(1), 1285-1292.

Ryan, M. G. (2011). Tree responses to drought. *Tree Physiology*, v.31(1), 237-239.

Saikia, S. P., Bora, D., Goswami, A., Mudoi, K. D., & Gogoi, A. (2012). A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non leguminous crops. *African Journal of Microbiology Research*, 6(6), 1085-1102.

- Sarig, S., Blum, A., & Okon, Y. (1988). Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Journal of Agricultural Science*, 110(2), 271-277.
- Schlichting, A. F., Koetz, M., Bonfim-Silva, E. M., & Silva, T. J. A. (2014). Desenvolvimento do milho submetido a doses de nitrogênio e tensões de água no solo. *Irriga*, 19(4), 598.
- Silva, F.G., Dutra, W.F., Dutra, A.F., Oliveira, I.M., Filgueiras, L.M., & Melo, A.S. (2015). Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 19(10), 946-952.
- Silva, M. D. A., Jifon, J. L., Santos, C. M. D., Jadoski, C. J., & Silva, J. A. G. D. (2013). Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(5), 735-748.
- Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (2006). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa Solos.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Okon, O. (2009). Plant growth-promoting actions of rizobacteria. *Advances in Botanical Research*, 51(2), 283-320.
- Steenhoudt, O., Vanderleyden, J., & Janssens, F. A. (2011). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1), 197–205.
- Sumner, M. E., Shahandeh, H., Bouton, J., & Hammel, J. (1986). Amelioration of an acid soil profile through deep liming and surface application of gypsum. *Soil Science Society of America Journal*, 50(5), 1254-1258.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2013). *Fisiologia vegetal*. 5ed., Porto Alegre, RS: Artmed.
- Tang, C., Rengel, Z., Diatloff, E., & Gazey, C. (2003). Responses of wheat and barley to liming on a sandy soil with subsoil acidity. *Field Crops Research*, 80(3), 235-244.

Tedesco, M. J., Volkweiss, S. J., & Bohmen, H. (1995). *Análises de solos, plantas e outros materiais*. 2.ed. Porto Alegre, RS: UFRGS.

Walker, V., Couillerot, O., Von Felten, A., Bellvert, F., Jansa, J., Maurhofer, M., Bally, R. ... & Comte, G. (2011). Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under Field conditions. *Plant and Soil*, 356(1), 151–163.

Walpola, B. C., & Yoon, M. H. (2013). Phosphate solubilizing bacteria: Assessment of their effect on growth promotion and phosphorous uptake of mung bean (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(3), 275-281.

Wu, Y., Huang, M., & Warrington, D. N. (2011). Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 65-71.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio (N) na cultura do milho contribui para a redução dos custos produtivos, visto a essencialidade deste nutriente para a planta obter um crescimento pleno e atingir altos índices produtivos. A diminuição do aporte de fertilizantes nitrogenados ao solo também contribui para redução dos riscos ambientais ocasionados pela cadeia produtiva dos adubos ou processos de contaminação dos mananciais hídricos.

A *Azospirillum brasilense* é uma bactéria que trouxe benefícios às gramíneas, em especial a cultura do milho. Os processos de fixação biológica de nitrogênio bem como a produção de fitohormônios pela bactéria proporcionam a planta um maior crescimento radicular, acúmulo de biomassa aérea e incremento na produtividade.

Outro benefício associado à bactéria está atrelado a sua utilização em ambientes com presença de fatores abióticos desvantajosos a cultura do milho, como em estresse hídrico e acidez do solo. Estes fatores são determinantes no desenvolvimento da cultura do milho, limitando o desenvolvimento da parte aérea, folhas e colmos, podendo comprometer o desenvolvimento e conseqüentemente o rendimento da cultura. A utilização da *Azospirillum brasilense* nestas condições visa promover um maior desenvolvimento da cultura do milho, como nos resultados obtidos neste estudo, os quais observou-se um maior desenvolvimento radicular, maior acúmulo de biomassa, incremento de pigmentos fotossintéticos e maior área foliar.

A utilização da cultura do milho em uma variação mais ampla de potencial hidrogênico entre valores de 5,1 a 5,9 apresentaram desenvolvimento igual ou superior à ausência da bactéria no sistema produtivo. Condição esta que permite a utilização de uma gama maior de solos nos sistemas produtivos sem comprometer o desenvolvimento inicial da cultura. Desta maneira observa-se os benefícios proporcionados pela adoção da bactéria no sistema produtivo, almejando sempre obter rendimentos maiores com redução dos custos produtivos mesmo em ecossistemas que apresentem adversidades ao cultivo do milho.

REFERÊNCIAS

- AMARAL FILHO, J. P. R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.467-473, 2005.
- APPUNU, C.; DHAR, B. Symbiotic effectiveness of acid-tolerant Bradyrhizobium strains with soybean in low pH soil. **African Journal Biotechnology**, v.5, n.10, p.842-845, 2006.
- ARDAKANI M.R., MAZAHARI D., MAFAKHERI S., MOGHADDAM A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.17, p.181-192. 2011.
- ASSMANN, J. M. et al. Carbon and nitrogen cycling in an integrated soybean–beef cattle production system under different grazing intensities. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.10, p.967–978, Oct., 2015
- ASSMUS, B. et al. In situ localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labelled, rRnatargeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.3, p.1013–1019, Mar. 1995.
- BADAWI, F. S. H.; BIOMY, A. M. M.; DESOKY, A. H. Peanut plant growth and yield as influenced by co-inoculation with Brady-rhizobium and some rhizo-microorganisms under sandy loam soil conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, v.56, n.1, p.17-25, 2011.
- BAGYARAJ, D. J. Ecology of vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: ARORA, D. K. et al. (Coord). **Handbook of applied micology: soil and plant**. New York. Marcel Dekker. v.1, 1991. p.4–34.
- BALDANI, J.I. BALDANI, V.L.D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, p.549-579 , 2005.
- BANO, Q. et al. Effect of *Azospirillum* inoculation on maize (*zea mays* l.) under drought stress. **Pakistan Journal of Botany**, v.45, n.1, p.13-20, 2013.
- BASHAN Y.; BASHAN L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, v.108, p.77-136. 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and envi-ronmental advances (1997–2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521–577, 2004.
- BAUER, A. et al. Soil property comparisons in virgin grassland between grazed and nongrazed management systems. **Soil Science Society of America Journal**, v.51, p.176-182, 1987.

BAYOUMI H. E. A. et al. Effects of some environmental factors on Rhizobium and Bradyrhizobium strains. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica Journal**, v.42, p.61-69, 1995.

BHOGAL, A.; YOUNG, S. D.; SYLVESTER-BRADLEY, R. Straw incorporation and immobilization of spring-applied nitrogen. **Soil Use and Management**, v.13, n.3, p.111-116, Sept. 1995.

BORTOLINI, C. G. et al. Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em respostas a adubação nitrogenada e regime hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.1101-1106, set. 2001.

CANFIELD, D. E.; GLAZER, A. N.; FALKOWSKI, P. G. The evolution and future of earth's nitrogen cycle. **Science**, v.330, n.6001, p.192-196, Oct. 2010.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. (Coord). **Fertilidade do solo**. 2007. p.375-471.

CASSAN, F. et al. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v.45, n.1, p.28-35, Jan./Fev. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento de safra brasileira: Grãos, décimo levantamento, julho 2016. **CONAB**, Brasília, v.3 n.10, p.1-179, jul. 2016.

CORREA, O. S. et al. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA, D. E.; SALAMONE, I. (Coord). **Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina: 2008. p.87- 95.

DAMBREVILLE, C., MORVAN, T., GERMON, J.C. N₂O emission in maize-crops fertilized with pig slurry, matured pig manure or ammonium nitrate in Brittany. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.123, p.201-210. 2008.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e ambiental**, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.

DEBRUIN, J.; BUTZEN, S. Nitrogen uptake in corn. **Dupont Pioneer Agriculture Science**, v.24, n.4, p.1-6, 2014.

DING, Y et al. Isolation and identification of nitrogen-fixing bacilli from plant rhizosphere in Beijing region. **Journal apple Microbiology**, v.99, n.5, p.1271-1281, Nov. 2005.

DOBBELAERE, S. et al. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, n.4, p.284-297, Oct. 2002.

DOS REIS, F. et al. Inoculation of *Azospirillum amazonense* in two maize genotypes under different N treatments. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.3, p.1139-1146, 2008.

EIRAS, P.P.; COELHO, F.C. Utilização de leguminosas na adubação verde para a cultura de milho. **Inter Science Place**, v.17, n.4, p.96-124, 2011.

FANCELLI, A. L. Milho: ambiente e produtividade. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D., (Coord). Milho: **Estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003. p.174-197.

FANCELLI, A. L.. DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: 2.ed., Agropecuária. 2008. 360p

FASCIGLIONE, G. et al. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. **Scientia Horticulturae**, v.195, p.154-162, Nov. 2015.

FOWLER, D. et al. Effects of global change during the 21st century on the nitrogen cycle. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v.15, n.24, p.13849-13893, Dec. 2015.

FRANCHE, C.; LINDSTRO, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, v.321, n.1-2, p.35-59, Aug. 2009.

FRANZLUEBBERS, A. J.; STUEDMANN, J. A. Early Response of Soil Organic Fractions to Tillage and Integrated Crop-Livestock Production. **Soil Science Society of America Journal**, v.72, n.3, p.613-625, 2008

GALLOWAY, J. N. et al. Nitrogen fixation: anthropogenic enhancement environmental response. **Global Biogeochemical Cycles**, v.9, n.2, p.235-252, 1995.

GONZALEZ, A. J.; LARRABURU, E. E.; LLORENTE, B. E. *Azospirillum brasilense* increased salt tolerance of jojoba during in vitro rooting. **Industrial Crops Products**, v.76, p.41-48, Dec. 2015.

GRAHAM, P.H. et al. Variation in acid soil tolerance among strains of *Rhizobium phaseoli*. **Field Crops Research**, v.5, p.121-128, 1982.

HAMAYUN, M. et al. Effect of salt stress on growth attributes and endogenous growth hormones of soybean cultivar Hwangkeumkong. **Pakistan Journal of Botany**, v.42, n.5, p.3103-3112, 2010.

HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant Soil**, v.311, n.1-2, p.1-18, July 2008.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v.331, n.1, p.413-425, Jun. 2010.

INAGAKI, A. M. et al. Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. **African Journal Agricultural Research**, v.9, n.48, p.3480-3487, Nov. 2014.

INAGAKI, A. M. et al. Maize initial growth with the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) under different soil acidity levels. **Australian Journal of Crop Science**, v.9, n.4, p.271, 2015.

JAYNES, D. B. et al. Nitrate loss in subsurface drainage as affected by nitrogen fertilizer rate. **Journal of Environmental Quality**, v.30, n.4, p.1305-1314, 2001.

KONG, W. D. et al. Effect of long-term application of chemical fertilizers on microbial biomass and functional diversity of a black soil. **Pedosphere**, v.18, n.6, p.801-808. Dec. 2008.

LANZANOVA, M. E.; NICOLOSO, R. S.; LOVATO, T.; ELTZ, F. L. F.; AMADO, T. J. C.; REINERT, D. J. Atributos físicos do solo em sistema de integração lavoura-pecuária sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.5, p.1131-1140, 2007.

LINDÉN, B.; ENGSTRÖM, L. Winter oilseed rape, oats and field peas as crops preceding winter wheat – effect on nitrogen dynamics in the soil and on wheat yields. **Agricultural Science**, v.4. n.1, p.1-7, 2006.

LOPES, M. L. T. et al. Sistema de integração lavoura-pecuária: desempenho e qualidade da carcaça de novilhos superprecoce terminados em pastagem de aveia e azevém manejada sob diferentes alturas. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p.178-184, jan./fev. 2008.

LOSS, A. et al. Carbon and nitrogen content and stock in no-tillage and crop-livestock integration systems in the Cerrado of Goiás State, **Journal of Agricultural Science**, v.4, p.96-105, 2012.

LOSS, A. et al. Agregação, carbono e nitrogênio em agregados do solo sob plantio direto com integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.1269-1276, out. 2011.

MANSHER, R. et al. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. **Plant Science**, v.163, p.961-969, Nov. 2002.

MANSOURI-FAR, C.; SANAVY, S. A. M. M. Maize yield response to deficit irrigation during low-sensitive growth stages and nitrogen rate under semi-arid climatic conditions. **Agric. Water Manage.**, v.97, p.12–22, Jan. 2010.

MARY, B. et al. Interaction between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. **Plant Soil**, v.181, n.1, p.71-82, Apr. 1996.

MEHNAZ, S.; WESELOWSK, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. **International journal of systematic bacteriology Impact & Description**, v.57, n.3, p.620-624, May. 2007.

MORAES, A. et al. Integrated crop-livestock systems in the Brazilian subtropics. **European Journal of Agronomy**, v.57, p.4-9, July. 2014.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2 ed. UFLA, Lavras, Brasil. 2006. 729 p.

NADEEM, S. M. et al. Microbial ACC-deaminase; prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.29, n.6, p.360-393, Nov. 2010.

NAUREEN, Z. et al. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of maize grown in Indonesian and Pakistani soils. **Journal of Basic Microbiology**, v.45, n.6, p.447-459, Nov. 2005.

NICOLOSO, R. S.; LANZANOVA, M. E.; LOVATO, T. Manejo das pastagens de inverno e potencial produtivo de sistemas de integração lavoura-pecuária no estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1799-1805, nov./dez. 2006.

NYBORG, M.; MALHI, S. S. Effects of zero and conventional tillage on barley yield and nitrate nitrogen content, moisture and temperature of soil in North-Central Alberta. **Soil & Tillage Research**, v.15, n.1, p.1-9, Dec. 1989.

OHLAND, R. A. A. et al. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.3, p.538-544, 2005.

OKON, Y.; HEYTLER, P. G.; HARDY, R. W. F. N₂ fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.46, p.694-697. 1983.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1591-1601, Dec. 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.366-370. 1997.

OLIVEIRA, F. A. et al. Crescimento do milho adubado com nitrogênio e fósforo em um Latossolo Amarelo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.3, p.238-244, jul./set. 2009.

PARSONS, S. A.; CONGDON, R. A. Plant litter decomposition and nutrient cycling in north Queensland tropical rain-forest communities of differing successional status. **Journal of Tropical Ecology**, v.24, n.2, p.317-327, May. 2008.

- PATRIQUIN, D. G.; DÖBEREINER, J. Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, n.6, p.734-742, 1978.
- PAVINATO, P. S. et al. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.358-364, mar./abr. 2008.
- PERIN, L. et al. Diazotrophic Burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.5, p.3103-3110, May. 2006.
- PETER, V. M. et al. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. **Biogeochemistry**, v.57, n.1, p.1-45, Apr. 2002.
- RAMBO, L. et al. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.3, p.401-409, mar. 2008.
- RAUN, W. R.; JOHNSON, G. V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, v.91, n.3, p.357-363, 1999.
- REIS JR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.3, p.1139-1146, 2008.
- REIS, J. R. et al. Influence of nitrogen fertilisation on the population of diazotrophic bacteria *Herbaspirillum spp.* and *Acetobacter diazotrophicus* in sugarcane (*Saccharum spp.*). **Plant Soil**, v.219, p.153-159, 2000.
- RHYKERD, C. L.; NOLLER, C. H. The role of nitrogen in forage production, In: MAYS D. A. (Coord.). **Forage fertilization**, Madison: American Society of Agronomy, 1985, p.416-424.
- RUBIO, L. M.; LUDDEN, P. W. Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. **Annual Review of Microbiology**, v.62, p.93-111, Oct. 2008.
- RUFINI, M. et al. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro comum em diferentes valores de pH. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.1, p.81-88, jan. 2011.
- SAIKIA, S. P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: An achievable target or a dogma. **J. Current Science**, v.92, n.3, p.317-322, Feb. 2007.
- SANDHYA, V. et al. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas spp.* on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. **Plant Growth Regulation**, v.62, n.1, p.21-30, Sept. 2010.
- SANGOI, L. et al. Desempenho Agronômico do Milho em Razão do Tratamento de Sementes com *Azospirillum sp.* e da Aplicação de Doses de Nitrogênio Mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, n.4, p.1141-1150, 2015.

SANGOI, L. et al. Perfilhamento como característica mitigadora dos prejuízos ocasionados ao milho pela desfolha do colmo principal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.11, p.1605-1612, nov. 2012.

SANTI C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany Journal Impact & Description**, v.111, n.5, p.743-767, Mar. 2013.

SHAO, H. B. et al. Water déficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, p.215-225, Mar. 2008.

SILVA, R. F. da et al. Análise conjunta de atributos físicos e biológicos do solo sob sistema de integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.1277-1283, out. 2011.

SINGH, R. S.; RAGHUBANSHI, A. S.; SINGH, J. S. Nitrogen mineralization in dry tropical savanna: Effects of burning and grazing. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, n.3, p.269-273, 1991.

SINGH, S., NANDITA, G., SINGH, K.P. Synchronizing nitrogen availability through application of organic inputs of varying resource quality in a tropical dryland agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, v.36, p.164-175. Jun. 2007.

SOUZA, E. D. et al. Carbono orgânico e fósforo microbiano em sistemas de integração agricultura-pecuária submetidos a intensidades de pastejo em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1273-1282, mai./jun. 2008.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v.38, n.4, p.401-419, out./dez., 2015.

TARIQ, M.; IQBAL, H. Maize in Pakistan-An overview. **Journal of Natural Sciences**, v.44, p.757-763, 2010.

VAN KESSEL, C.; HARTLEY, C. Agricultural management of grain legumes: has it led to na increase in nitrogen fixation. **Field Crops Research**, v.65, n.2, p.165-181, Mar. 2000.

WAHBI, A.; SINCLAIR, T.R. Transpiration response of Arabidopsis, maize, and soybean to drying of artificial and mineral soil. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.188-192, Mar. 2007.

WISNIEWSKI-DYÉ, F. et al. *Azospirillum* genomes reveal transition of bacteria from aquatic to terrestrial environments. **PLOS Genetics**. v.7, n.12, p.1002430, Dec. 2011.

ZHAO, R. et al. Fertilization and Nitrogen Balance in a Wheat–Maize Rotation System in North China. **Agronomy Journal**, v.98, p.938–945. 2006.

ANEXO A. Resumo da análise de variância para as variáveis de matéria seca (MS), número de fileiras por espiga(NF), número de grãos por fileira (GF), massa de mil grãos (MMG) e produtividade de grãos (PG) de milho em sistema intergração lavoura-pecuária, inoculados com *A. brasilense* e submetidos a diferentes doses de nitrogênio, para a safra 2014/15. Santa Maria, RS, 2016.

FV ¹	GL ³	MS	NFG	NGF	MMG	PROD
QM						
Bloco	2	756749,9	0,151	1,669	236,710	102807,99
Massa	4	20520847,27*	0,153	0,386	670,010	2981786,54*
Erro (M)	8	2031382,82	0,114	0,466	212,370	155141,01
Inoculação	1	133006880,22*	1,964	2,171	11,160	14110625,67*
M*I	4	16195818,68*	0,059	7,775*	1693,69*	364942,40*
Erro (I)	10	1755139,844	0,709	0,529	451,920	71094,49
N	4	125909138,52*	1,109*	336,570*	18506,31*	104483641,19*
M*N	16	8640881,37*	0,242	2,223*	656,83*	444612,51*
I*N	4	1587355,95	0,123	5,708*	468,040	1456917,99*
M*I*N	16	11360179,78*	0,216	3,143*	793,52*	516380,61*
Erro	80	2088828,29	0,300	0,436	289,080	103515,59
CV ² (%)		8,27	2,48	1,91	5,85	4,66
CV (%)		7,68	6,18	2,03	8,54	3,15
CV (%)		8,38	4,04	1,84	6,83	3,80
Média		17241,47	13,62	35,80	248,93	8460,00

¹Fator de variação; ²Coefficiente de variação para os diferentes erros experimentais em parcelas subdivididas. ³Graus de liberdade. *significativo a 5% de probabilidade (01 = < p > 05). M: Massa residual, I: Inoculação, N: Nitrogênio.

ANEXO B. Resumo da análise de variância para as variáveis de matéria seca (MS), número de fileiras por espiga(NF), número de grãos por fileira (GF), massa de mil grãos (MMG) e produtividade de grãos (PG) de milho em sistema interação lavoura-pecuária, inoculados com *A. brasilense* e submetidos a diferentes doses de nitrogênio, para a safra 2015/16. Santa Maria, RS, 2016.

FV ¹	GL ³	MS	NFG	NGF	MMG	PROD
QM						
Bloco	2	212246,24	0,098	0,027	16,434	55222,66
Massa	4	11071881,76*	1,489*	10,473*	4146,407*	4064499,61*
Erro (M)	8	175086,22	0,187	0,230	19,409	65128,70
Inoculação	1	5443617,22*	0,362	4,662*	76,195	1036995,46*
M*I	4	9607759,70*	0,454	5,202*	186,395*	2080755,38*
Erro (I)	10	273302,23	0,196	0,209	17,576	75880,64
N	4	450533146,81*	5,982*	291,411*	9721,689*	81603966,96*
M*N	16	5695130,30*	0,628*	4,573*	245,128*	509057,60*
I*N	4	3644634,49*	0,282*	1,642*	74,752*	677568,81*
M*I*N	16	4770915,35*	0,326	1,533*	274,337*	41752612*
Erro	80	254802,78	0,098	0,182	19,536	64476,79
CV ² (%)		2,25	3,08	1,47	1,60	3,28
CV (%)		2,82	3,15	1,40	1,52	3,54
CV (%)		2,72	2,22	1,31	1,60	3,26
Média		18566,24	14,07	32,64	275,65	7786,72

¹Fator de variação; ²Coefficiente de variação para os diferentes erros experimentais em parcelas subdivididas. ³Graus de liberdade. *significativo a 5% de probabilidade (01 = < p > 05). M: Massa residual, I: Inoculação, N: Nitrogênio.

ANEXO C. Resumo da análise de variância para as variáveis de matéria seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), clorofila A (CLO A), clorofila B (CLO B), clorofila Total (CLO Total), eficiência do uso da água (EUA) e índice de carboxilação da enzima rubisco (EiC) de milho em estágio fenológico V4 submetido a diferentes níveis de umidade do solo e inoculação de sementes com *A. brasilense*. Santa Maria, RS, 2016.

FV ¹	GL ³	MSR	MSPA	CLO A	CLO B	CLO Total	EUA	AcI
QM								
Umidade	4	0,0307*	1,0843*	31,0746*	19,5596*	94,2541*	1,0163*	0,000827*
Inoculação	1	0,0299*	0,0019	0,2450	0,3003	1,0878*	0,2975*	0,000038
U*I.	4	0,0108*	0,0472*	2,1577*	0,6288*	0,5969*	0,0816*	0,000060*
Erro	20	0,0007	0,0045	0,0528	0,0476	0,1053	0,0042	0,000010
CV ² (%)		2,29	4,84	0,59	2,10	0,66	0,96	1,65
Média		1,201	1,394	38,670	10,397	49,075	6,750	0,192

¹Fator de variação; ²Coeficiente de variação. ³Graus de liberdade. *significativo a 5% de probabilidade (01 = < p > 05). U: Umidade do solo, I: Inoculação de sementes com *A. brasilense*.

ANEXO D. Resumo da análise de variância para as variáveis de matéria seca de raiz (MSR), volume radicular (VR), comprimento radicular (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), área foliar (AF), eficiência do uso da água (EUA) e índice de carboxilação da enzima rubisco (EiC) de milho em estágio fenológico V4 submetido a diferentes pH's de solução e inoculação de sementes com *A. brasilense*. Santa Maria, RS, 2016.

FV ¹	GL ³	MSR	VR	CR	MSPA	AF	EUA	AcI
QM								
pH	4	0,00394*	2,160*	883083,66*	0,08247*	3349,45*	0,08677*	0,00007*
Inoculação	1	0,00334*	1,184*	7166,97*	0,04887*	515,61*	0,11517*	0,0014*
pH*I.	4	0,00056*	0,027*	12534,74*	0,02458*	1191,96*	0,01092*	0,00005*
Erro	20	0,00003	0,004	824,880	0,00050	21,756	0,00065	0,00011
CV ² (%)		0,97	1,12	1,42	1,45	1,31	0,48	2,13
Média		0,55	5,92	2024,20	1,55	355,99	5,3846	0,0714

¹Fator de variação; ²Coefficiente de variação. ³Graus de liberdade. *significativo a 5% de probabilidade (01 = < p > 05). pH: potencial hidrogênio, I: Inoculação de sementes com *A. brasilense*.