

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA

LUAN FERNANDO ORMOND SOBREIRA RODRIGUES

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS DO TRIGO EM
FUNÇÃO DA COMBINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA ESTABILIZADA,
Azospirillum brasilense **E DOSES DE NITROGÊNIO**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM AGRONOMIA

LUAN FERNANDO ORMOND SOBREIRA RODRIGUES

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E AGRONÔMICAS DO TRIGO EM
FUNÇÃO DA COMBINAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA ESTABILIZADA,
Azospirillum brasilense **E DOSES DE NITROGÊNIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

R696c	Rodrigues, Luan Fernando Ormond Sobreira Características fisiológicas e agronômicas do trigo em função da combinação de matéria orgânica estabilizada, <i>Azospirillum brasilense</i> e doses de nitrogênio / Luan Fernando Ormond Sobreira Rodrigues. – Marechal Cândido Rondon, 2014. 73 p. Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2014. 1. Trigo. 2. Trigo – Adubação. 3. Nitrogênio – Fixação. I. Guimarães, Vandeir Francisco. II. Título. CDD 22.ed. 633.11 CIP-NBR 12899
-------	---



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

Ata da reunião da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação do Engenheiro Agrônomo **LUAN FERNANDO ORMOND SOBREIRA RODRIGUES**. Aos vinte e sete dias do mês de junho de 2013, às 14 horas, sob a presidência do Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães, em sessão pública, reuniu-se a Comissão Julgadora da Defesa da Dissertação do Engenheiro Agrônomo Luan Fernando Ormond Sobreira Rodrigues, discente do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Agronomia – Nível Mestrado e Doutorado com área de concentração em **"PRODUÇÃO VEGETAL"**, visando à obtenção do título de **"MESTRE EM AGRONOMIA"**, constituída pelos membros: Prof. Dr. Valdir Zucareli (UEM), Prof. Dr. José Barbosa Duarte Júnior (Unioeste), Pesq. Dr. Jeferson Klein (Pós-Doutorando CAPES/PNPD) e Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães (Orientador).

Iniciados os trabalhos, o candidato apresentou seminário referente aos resultados obtidos e submeteu-se à defesa de sua Dissertação, intitulada: **"Características fisiológicas e agrônômicas do trigo em função da combinação de matéria orgânica estabilizada, *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio"**.

Terminada a defesa, procedeu-se ao julgamento dessa prova, cujo resultado foi o seguinte, observada a ordem de arguição:

Prof. Dr. Valdir Zucareli.....	Aprovado
Prof. Dr. José Barbosa Duarte Júnior.....	Aprovado
Pesq. Dr. Jeferson Klein.....	Aprovado
Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães (Orientador).....	Aprovado

Apurados os resultados, verificou-se que o candidato foi habilitado, fazendo jus, portanto, ao título de **"MESTRE EM AGRONOMIA"**, área de concentração: **"PRODUÇÃO VEGETAL"**. Do que, para constar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos senhores membros da Comissão Julgadora.

Marechal Cândido Rondon, 27 de junho de 2013.

	_____ Prof. Dr. Valdir Zucareli
	_____ Prof. Dr. José Barbosa Duarte Júnior
	_____ Pesq. Dr. Jeferson Klein
	_____ Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães (Orientador)

À Deus pai

À minha mãe Shirley Ormond Sobreira

À minha avó Adimair Ormond Sobreira (in memoriam)

À minha namorada Mônica Bartira

Ao meu tio Adriano Ormond Sobreira e

À minha tia Herley Ormond Sobreira

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela luz, energia e sabedoria frente aos desafios vividos nessa jornada.

À minha mãe Shirley Ormond Sobreira pelos conselhos dados nas horas mais importantes da minha vida, além do amor incondicional.

À minha avó Adimair Ormond Sobreira (in memoriam) por se dedicar a minha educação e formação moral, pelo amor empregado e por me guiar de onde é que esteja.

À minha namorada Mônica Bartira pela amizade, companheirismo, compreensão e colaboração.

Aos meus tios Adriano Ormond Sobreira e Herley Ormond Sobreira pelos ensinamentos, compreensão e apoio.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, pela oportunidade de realização do curso e à Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Vandeir Francisco Guimarães pela orientação, apoio, incentivo e principalmente amizade, minha admiração e sincera gratidão.

Aos professores Edmar Soares de Vasconcelos, Élcio Silvério Klosowski, José Barbosa Duarte Júnior e Maria do Carmo Lana pelas orientações, amizades e disponibilização do laboratório para as análises químicas. E aos demais professores da Unioeste, do programa de Pós-Graduação em Agronomia de Marechal Cândido Rondon, e a todos os outros professores que fizeram parte, direta ou indiretamente, da minha educação profissional.

À todos os funcionários da Unioeste, em especial Alceu, Jonas, Marcelo, Joarez e Rodrigo pelo auxílio prestado nos experimentos.

Aos meus amigos Adriano Mitio Inagaki, Artur Soares Pinto Júnior, Ana Raquel Rheinheim, Luiz Claudio Offemann, Marla Silvia Diamante, Paulo Evandro Jandrey e Vanessa Daniele Mattiello.

Aos parceiros Andréia Cristina Peres Rodrigues da Costa, Charles Douglas Rossol, Cristiane Cláudia Meiners, Daniel Schwantes, Edilaine Della Valentina Gonçalves, Jeferson Klein, Karoline Branco Bandeira, Leandro Rampim, Lucas Guilherme Bulegon, Luiz Néri Berté, Michele Alessandra Hartmann Schmidt, Renan Felipe Bellé e Thyago Roberto Dias Rodrigues pela colaboração nas análises e outras atividades relacionadas aos experimentos.

Agradeço a todas as demais pessoas, que direta ou indiretamente fizeram parte da conclusão de mais uma etapa em minha vida.

O que sabemos, saber que o sabemos.
Aquilo que não sabemos, saber que não o
sabemos: eis o verdadeiro saber

Confúcio

RESUMO

RODRIGUES, Luan Fernando Ormond Sobreira, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Junho – 2013. **Características fisiológicas e agronômicas do trigo em função da combinação de matéria orgânica estabilizada, *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio.** Orientador: Vandeir Francisco Guimarães.

O Brasil apresenta uma baixa contribuição na produção de trigo, em relação ao panorama mundial. Diante disso, algumas técnicas foram desenvolvidas para aumentar a produtividade de grãos de trigo no país e diminuir os custos produtivos. Entre essas técnicas, pode-se destacar a inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal, que contribuem tanto com a fixação biológica de nitrogênio em não leguminosas, quanto com a liberação de reguladores vegetais para as raízes das plantas em que se associam. Contudo, a fixação biológica de nitrogênio por essas bactérias, não é suficiente para máxima produção dessas culturas, sendo necessário, portanto, a associação com alguma outra técnica, como a pulverização de matéria orgânica estabilizada em ácido húmico, pode ser uma alternativa viável no processo produtivo do trigo. Face ao exposto, objetivou-se com este trabalho verificar a eficiência agronômica da combinação entre *Azospirillum brasilense* em relação ou associada à utilização de ácido húmico e diferentes níveis de adubação nitrogenada na cultura do trigo em condições de casa de vegetação e a campo. Foram conduzidos três experimentos, sendo dois simultaneamente, no ano agrícola 2011/2012, em casa de vegetação e, um experimento a campo, no ano agrícola 2012/2013. Ambos os experimentos foram instalados nas estações experimentais pertencentes ao núcleo de estações experimentais da Unioeste, do município de Marechal Cândido Rondon-PR. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x4, com quatro repetições. O primeiro fator refere-se aos promotores do crescimento vegetal (Controle; estirpe Ab-V5 de *A. brasilense*; matéria orgânica estabilizada em ácido húmico – AH e; Ab-V5+AH) e o segundo fator aos níveis de nitrogênio (0; 30; 60 e; 90 kg ha⁻¹ de N). Utilizou-se como material vegetal a cultivar de trigo CD 150, em que se avaliou altura de plantas, massa de matéria seca das folhas, colmo mais bainhas, das estruturas reprodutivas e da parte aérea, área foliar, medidas de trocas gasosas, índice SPAD, componentes de produção e a produtividade de grãos da cultura. De maneira geral, em casa de vegetal foi observado que o uso combinado de Ab-V5+AH, favoreceu o incremento em matéria seca da parte aérea, na absorção de N e K, pelas folhas, e de K e P, pelos grãos de trigo, no número de espigas por vaso, no comprimento médio das espigas e na massa de cem grãos. No experimento a campo observou-se que Ab-V5+AH promoveu incremento em matéria seca da parte aérea, nas trocas gasosas, no teor de K dos grãos, e no número de espigas por metro quadrado. A produtividade de grãos da cultura foi influenciada por nenhum dos tratamentos em casa de vegetação e somente pelas doses de nitrogênio no experimento a campo. Conclui-se com este trabalho que o uso combinado de Ab-V5+AH favorece nas características de desenvolvimento da cultura do trigo, porém mais estudos devem ser realizados pois a produtividade dos grãos é influenciada apenas pelas doses de nitrogênio utilizadas.

Palavras-chaves: *Triticum aestivum* L., ácido húmico, fixação biológica de nitrogênio, adubação nitrogenada.

ABSTRACT

RODRIGUES, Luan Fernando Ormond Sobreira, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, June – 2013. **Physiological and agronomic characteristics of wheat due to the combination of stabilized organic matter, *Azospirillum brasilense* and levels of nitrogen.** Advisor: Vandeir Francisco Guimarães.

Brazil has a low contribution to the production of wheat in relation to world stage. Therefore, some techniques have been developed to increase the productivity of wheat grains in the country and reduce production costs. Among these techniques, we can highlight inoculation with plant growth promoting bacteria which contribute both to the biological nitrogen fixation in non-legumes, as with the release of plant growth regulator to the roots of the plants in which they associate. However, the biological nitrogen fixation by these bacteria is not sufficient for maximum yield of these crops and it is necessary, therefore, association with some other technique such as spraying organic material stabilized in humic acid, it may be a viable alternative in the process production of wheat. Given the above, the aim of this work was to verify the agronomic effectiveness of the combination of *Azospirillum brasilense* in relation to or associated with the use of humic acid and different levels of nitrogen fertilizer in wheat crop conditions in the greenhouse and field. Three experiments were conducted, two simultaneously in the agricultural year 2011/2012, in the greenhouse and in a field experiment in the agricultural year 2012/2013. Both experiments were carried out in experimental stations belonging to the core of experimental stations Unioeste, from Marechal Cândido Rondon, PR. The experimental design was randomized blocks in a 4x4 factorial with four replications. The first factor relates to plant growth promoters (Control; Ab-V5 strain of *A. brasilense*; organic material stabilized humic acid – HA and Ab-V5+HA) and the second factor levels of nitrogen (0, 30, 60 and, 90 kg ha⁻¹ of N). Was used as plant material wheat cultivar CD 150, which evaluated the plant height, dry weight of leaves, stems and sheaths, reproductive structures and shoots, leaf area, leaf gas exchange measurements, SPAD, yield components and grain yield of the crop. In general, home vegetable was observed that the combined use of Ab-V5+AH, favored the increase in dry matter of shoots, the absorption of N and K, the leaves, and P and K, the grains wheat, number of ears per pot, the average length of the ears and the weight of one hundred grains. In the field experiment showed that Ab-V5+HA promoted increase in shoot dry matter, gas exchange, the K content of grain, and the number of ears per square meter. The grain yield of the crop was influenced by any of the treatments under greenhouse and only levels of nitrogen in field experiment. The conclusion of this work that the combined use of Ab-V5+AH favors the growth characteristics of wheat crop, but more studies are needed because grain yield is only influenced by nitrogen fertilizer rates.

Key words: *Triticum aestivum* L., humic acid, biological nitrogen fixation, nitrogen fertilization.

Lista de figuras

- Figura 1.** O ciclo do nitrogênio terrestre. O nitrogênio atmosférico (N_2) é convertido em amônio (NH_4^+) por meio da fixação industrial, fixadores de N_2 de vida livre ou fixadores simbiotes de N_2 , ou em nitrato (NO_3^-), por meio da fixação atmosférica. Microrganismos do solo também convertem NH_4^+ em NO_3^- (via nitrificação). Plantas (via absorção pelas raízes) e microrganismos do solo (via imobilização) absorvem NH_4^+ e NO_3^- do solo. Herbívoros comem as plantas para obter o nitrogênio e os carnívoros, comem os herbívoros. Fezes e cadáveres de todos esses organismos, incluindo folhas caídas e todas as plantas depois de sua morte, contribuem para o conjunto de matéria orgânica em decomposição no solo. Os microrganismos do solo decompõem essa matéria orgânica para produzir NH_4^+ (via amonificação). Outros microrganismos, particularmente sob condições anaeróbicas, convertem algum NO_3^- do solo de volta em N_2 (via denitrificação). Algum NO_3^- é dissolvido na água subterrânea (via lixiviação) e algum NH_4^+ se converte na forma gasosa NH_3 e se dissipa na atmosfera (via volatilização, não mostrada).22
- Figura 2.** A reação de redução catalisada pela nitrogenase. A ferredoxina reduz a Fe-proteína. Acredita-se que a ligação e a hidrólise do ATP à Fe-proteína provoca uma mudança na conformação dessa proteína, o que facilita as reações redox. A Fe-proteína reduz a MoFe-proteína e esta última reduz o N_225
- Figura 3.** Temperatura do ar (T - °C) e umidade relativa do ar (UR - %), médias diárias, durante a condução do experimento a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.33
- Figura 4.** Precipitação pluvial e volume de água aplicada via irrigação por aspersão, durante a condução do experimento a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.....33
- Figura 5.** Matéria seca de folhas (MSF_1) – A, e matéria seca de colmo mais bainhas ($MSC+B_1$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.. ...44
- Figura 6.** Área foliar (AF_1) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.45
- Figura 7.** Matéria seca das estruturas reprodutivas ($MSER_1$) – A, e matéria seca da parte aérea ($MSPA_1$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.45
- Figura 8.** Matéria seca de folhas (MSF_2) – A, e matéria seca de colmo mais bainhas ($MSC+B_2$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.46
- Figura 9.** Área foliar (AF_2) – A, e altura (H_2) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.47
- Figura 10.** Matéria seca da parte aérea ($MSPA_2$) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.47

Figura 11. Índice SPAD ($SPAD_1$) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	49
Figura 12. Taxa de assimilação líquida de CO_2 (A_2) – A, e condutância estomática (gs_2) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	49
Figura 13. Concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (Ci_2) – A, e taxa de transpiração (E_2) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	50
Figura 14. Diferença de pressão de vapor folha-ar ($VPDL_2$) – A, e temperatura foliar computadorizada (CT_{leaf_2}) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	51
Figura 15. Relação A/Ci – A, e eficiência no uso da água (EUA_2) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	52
Figura 16. Teor de nitrogênio (Nf_1) - A, potássio (Kf_1) – B e, fósforo (Pf_1) – C, nas folhas de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	54
Figura 17. Teor de fósforo ($P_{grão_1}$) - A, potássio ($K_{grão_1}$) – B e, nitrogênio ($N_{grão_1}$) – C, nos grãos de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	55
Figura 18. Número de espigas (NE_1) - A, comprimento médio das espigas (CE_1) – B e, massa de cem grãos ($M100_1$) – C, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	58
Figura 19. Número de espigas (NE_2) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	59
Figura 20. Número de espiguetas por espiga (NEE_2) – A, comprimento médio de espigas (CE_2) – B e, produtividade de grãos ($PROD_2$) – C, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasilense</i> , em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	60

Lista de tabelas

Tabela 1. Alguns mecanismos empregados por bactérias promotoras do crescimento vegetal.	24
Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados nos experimentos.	34
Tabela 3. Características químicas e granulométricas do solo utilizado para o experimento. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	35
Tabela 4. Características químicas e granulométricas do solo da área experimental. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	37
Tabela 5. Resumo das análises de variância para matéria seca de folhas (MSF), matéria seca de colmo e bainhas (MSC+B), matéria seca das estruturas reprodutivas (MSER), matéria seca da parte aérea (MSPA), área foliar (AF) e altura (H), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasiliense</i> , em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011	42
Tabela 6. Incremento médio e F calculado da análise de variância dos contrastes ortogonais para a matéria seca da parte aérea de plantas de trigo conduzidas em casa de vegetação (MSPA ₁), matéria seca de colmo mais bainhas (MSC+B ₂), matéria seca das estruturas reprodutivas (MSER ₂) e matéria seca da parte aérea de plantas de trigo conduzidas a campo (MSPA ₂), cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.	43
Tabela 7. Resumo das análises de variância para taxa de assimilação líquida de CO ₂ (A), condutância estomática (gs), matéria concentração de CO ₂ nos espaços intercelulares (Ci), taxa de transpiração (E), diferença de pressão de vapor folha-ar (VPDL), temperatura foliar computadorizada (CTleaf), eficiência no uso da água (EUA) e índice SPAD (SPAD), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasiliense</i> , em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011	48
Tabela 8. Resumo das análises de variância para o teor de nitrogênio, fósforo e potássio das folhas (Nfolha, Pfolha e Kfolha, respectivamente) e dos grãos (Ngrão, Pgrão e Kgrão, respectivamente), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasiliense</i> , em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011	53
Tabela 9. Incremento médio e F calculado da análise de variância dos contrastes ortogonais para o teor de potássio nos grãos (Kgrão ₂) de plantas de trigo conduzidas a campo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.	56
Tabela 10. Resumo das análises de variância para o número de espigas (NE), comprimento médio de espigas (CE), número de espiguetas por espiga (NEE), número de grãos por espiga (NGE), número de grãos por espiguetas (NGEG), massa de 100 grãos (M100) e	

produtividade de grãos (PROD) de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.57

Tabela 11. Análises de correlação de Pearson de características agronômicas e nutricionais de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon (PR), Unioeste, PPGA, 2012.61

Lista de abreviaturas e siglas

(-): tratamento controle

₁: resultados provenientes do estudo em casa de vegetação

₂: resultados provenientes do estudo à campo

A: taxa de assimilação líquida de CO₂ nas folhas

A/Ci: taxa de assimilação líquida de CO₂ por concentração interna de CO₂ nos espaços intercelulares

Ab-V5: estirpe de *Azospirillum brasilense*

Ab-V5+AH: estirpe de *Azospirillum brasilense* mais ácido húmico

AF: área foliar

AFs: ácidos fúlvicos

AH: ácido húmico

ATP: trifosfato de adenosina

BPCV: bactérias promotoras do crescimento vegetal

CE: Comprimento médio das espigas

Ci: Concentração interna de CO₂ nos espaços intercelulares das folhas

CTleaf: temperatura foliar computadorizada

DAE: dias após a emergência

E: taxa de transpiração foliar

EUA: eficiência no uso da água

gs: condutância estomática

H⁺-ATPase: enzima bombeadora de prótons, acionada por trifosfato de adenosina

Kfolha: teor de potássio foliar

Kgrão: teor de potássio nos grãos

M100: massa de cem grãos

MP: membrana plasmática

MSC+B: matéria seca dos colmos mais bainhas

MSER: matéria seca das estruturas reprodutivas

MSF: matéria seca das folhas

MSPA: matéria seca da parte aérea

NE: número de espigas

NEE: número de espiguetas por espiga

Nfolha: teor de nitrogênio foliar

Ngrão: teor de nitrogênio nos grãos

NGE: número de grãos por espiga

NGEG: número de grãos por espiguetas

Pfolha: teor de fósforo foliar

Pgrão: teor de fósforo nos grãos

PROD: produtividade de grãos

T: plantas tratadas com Ab-V5 e/ou ácido húmico

VPDL: diferença de pressão de vapor folha-ar

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
Lista de figuras	10
Lista de tabelas	12
Lista de abreviaturas e siglas	14
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 A cultura do trigo	19
2.2 Nitrogênio	20
2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas	23
2.3.1 Fixação biológica de nitrogênio	24
2.3.2 Produção de fitormônios.....	26
2.5 Matéria orgânica estabilizada	27
2.5.1 Bioatividade de substâncias húmicas	29
2.6 Interações entre bactérias promotoras do crescimento vegetal e substâncias húmicas	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Localização dos experimentos	32
3.1.1 Casa de vegetação.....	32
3.1.2 Campo.....	32
3.2 Material vegetal	33
3.3 Delineamento experimental	34
3.4 Instalação e condução dos experimentos	35
3.4.1 Casa de vegetação	35
3.4.2 Campo.....	36
3.5 Características Avaliadas	38
3.5.1 Variáveis biométricas	38
3.5.2 Medidas de trocas gasosas e índice SPAD	39
3.5.3 Determinação de macronutrientes nas folhas e grãos.....	40
3.5.4 Componentes de produção e produtividade de grãos	40
3.6 Análise dos dados	41

4 RESULTADOS	42
4.1 Variáveis biométricas	42
4.2 Medidas de trocas gasosas e índice SPAD	47
4.3 Determinação de macronutrientes nas folhas e nos grãos	52
4.4 Componentes da produção e produtividade de grãos	56
5 DISCUSSÃO	62
6 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS.....	68

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é o segundo cereal mais cultivado no mundo, com produção estimada para 2013/2014 de 690 milhões de toneladas, 28 milhões de toneladas a mais do que no ano de 2012 (FAO, 2013). Nessa perspectiva o Brasil apresenta uma baixa taxa de contribuição, pois no ano agrícola de 2012/2013 a produção nacional de grãos de trigo foi de apenas 4,30 milhões de toneladas, sendo que o Estado do Paraná foi responsável por 2,11 milhões de toneladas, conforme dados da CONAB (2013).

De acordo com as estimativas realizadas pelo MAPA (2012), o consumo de trigo no Brasil até 2021/2022, será da ordem de 11,70 milhões de toneladas e o país, nessa projeção, produzirá aproximadamente 6,90 milhões de toneladas.

No intuito de minimizar a quantidade de trigo importada ou até se tornar auto-suficiente na produção desse cereal, o Brasil precisa de pesquisas para estabelecer condições mais viáveis de cultivo, de forma a aumentar sua produtividade e incentivar o produtor. Nesse sentido, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos tendendo para a maximização da produtividade, através de diversas técnicas.

Dentre os insumos utilizados, para elevação da produtividade da cultura do trigo, destaca-se a adubação nitrogenada devido ao nitrogênio se constituir o macroelemento mais limitante na produtividade desse cereal, visto que determina o número de aflios ou perfilhos, sendo essencial na fase de formação dos nós e no início do alongamento do colmo (SALA et al., 2005). Porém essa tecnologia, apesar de indispensável, eleva significativamente o custo de produção da cultura, desestimulando muitos produtores ao cultivo de trigo e abrindo espaço para o milho de segunda safra.

Com o sucesso da inoculação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* na cultura da soja, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em gramíneas também se tornou um objetivo através de microrganismos como *Azospirillum brasilense*, que pode ser beneficiado em associação com outros métodos como a aplicação de ácido húmico (AH).

A *A. brasilense* vem sendo avaliada por se tratar de uma bactéria associativa de raiz, preferencialmente alocada na região rizosférica e que normalmente pode ser encontrada no trigo, segundo Döbereiner (1990). Estes organismos, apesar de não formarem nódulos nas raízes de gramíneas como ocorre para a FBN de leguminosas, também realizam a fixação do nitrogênio para a planta, diminuindo significativamente os custos que se tem com a adubação nitrogenada.

As bactérias diazotróficas, sob condições de laboratório, foram suficientes para suprir a necessidade por nitrogênio (N) de plântulas de trigo e promoveram o aumento no comprimento radicular (ROESCH et al., 2005) o que possivelmente ocasiona maiores produtividades, devido a captação de água e nutrientes à maiores profundidades.

Delfine et al. (2005) observaram que a aplicação de ácido húmico via foliar promoveu o crescimento, aumento de produtividade e qualidade do trigo duro, e que também afetou o metabolismo fotossintético de forma positiva, quando em comparação com o parcelamento da adubação nitrogenada. Esses autores concluíram que o ácido húmico pode ser utilizado como fonte imediata de N no enchimento dos grãos.

Trabalhos referentes a associações entre a inoculação de *A. brasilense* e aplicações via foliar de ácido húmico em trigo são escassos, sendo uma motivação para condução desta pesquisa, visto que ambos apresentam efeitos fisiológicos positivos (quando comparados efeito único ou combinado com adubação nitrogenada) em plantas de trigo, gerando em alguns casos incrementos na produtividade de grãos.

Portanto, o presente estudo tem como hipótese que, com o uso combinado de bactérias promotoras do crescimento vegetal e matéria orgânica estabilizada em ácido húmico, pode-se diminuir a quantidade de nitrogênio aplicado na cultura do trigo, sem prejudicar o rendimento de grãos da planta.

Neste contexto, este trabalho objetiva verificar a eficiência agrônômica da combinação entre *A. brasilense* em relação ou associada à utilização de ácido húmico e diferentes níveis de adubação nitrogenada na cultura do trigo em condições de casa de vegetação e a campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do trigo

O trigo (*Triticum spp.*) é originário de regiões montanhosas do sudoeste da Ásia em uma área que abrange Irã, Iraque e Turquia, os quais são os locais mais prováveis de centro de origem e domesticação da espécie, onde foram encontrados, em escavações arqueológicas, grãos de trigo carbonizados que datam de 7500 a 6500 a.C. (FELDMAN, 1976).

No Brasil, o trigo foi introduzido em 1534, por Martim Afonso de Souza, na antiga Capitania de São Vicente, hoje Estado de São Paulo (SILVA et al., 1996) e apenas a partir da década de 1940 começou a expandir-se comercialmente no estado do Rio Grande do Sul, com a introdução de cultivares de trigo de porte alto, tolerante a toxidez por alumínio, cultivares aquelas que eram provenientes de áreas com solos pobres, na Europa (FEDERIZZI et al., 2005).

O *Triticum aestivum* L. é pertencente à família *Poaceae*, e é caracterizado como uma planta anual, hermafrodita, autógama, que apresentam baixa taxa de polinização cruzada em condições normais nos campos de cultivo (FEDERIZZI et al., 2005).

Entre os anos de 1975 a 1985, pela análise de dados referentes à área plantada, produção e produtividade de grãos de trigo, foi possível verificar um forte deslocamento no centro de gravidade, saindo do noroeste do Rio Grande do Sul, para o oeste do Paraná, e posteriormente para o centro sul do estado, com expressivos aumentos de produtividade desse cereal (IGNACZAK et al., 2006).

Ignaczak et al. (2006) verificaram que apesar de haverem mudanças das sub-regiões responsáveis pela colaboração de uma maior quantidade de trigo produzida no Brasil, de 1975 a 2003, pouca foi a variação em termos de região que mais contribuiu com a produção nacional de trigo. Conforme as projeções realizadas pelo CONAB (2013) é evidente que as principais zonas de produção de grãos de trigo no país estão localizadas nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul, entretanto as regiões sudeste e centro-oeste do país vêm aumentando constantemente, com destaque para os estados de Minas Gerais e Goiás.

A necessidade nutricional da cultura do trigo pode ser caracterizada como medianamente exigente quanto à necessidade de fósforo e potássio e, em estudos realizados

no estado do Paraná, não houve respostas na produção de grãos pela cultura, mediante a aplicação de micronutrientes (MARCHIORO e FRANCO, 2010). Com relação ao nitrogênio, de acordo com Marchioro e Franco (2010) a necessidade de adubação nitrogenada, na cultura do trigo, para o Estado do Paraná é da ordem de 30 kg ha^{-1} de N na semeadura e 60 kg ha^{-1} de N a lanço, na fase de afilhamento pela escala Zadoks, Chang e Konzak (1974).

Atualmente o trigo é cultivado em diversos países do mundo sendo considerado o segundo cereal mais produzido, ficando atrás apenas do milho (FAO, 2013). Ainda de acordo com os dados da FAO (2013), a Argentina e o Brasil, são os principais produtores de grãos de trigo da América do Sul, apresentaram queda significativa de produção a partir do ano agrícola 2009/2010, saindo de 15,9 para 11,5 milhões de toneladas (2012/2013), no caso da Argentina e, de 6,0 para 4,8 milhões de toneladas no caso do Brasil. A FAO afirma ainda que apenas 12 % das áreas produtivas da Argentina foram afetadas pelo estresse hídrico enquanto que no Brasil o cultivo desse cereal foi fortemente afetado pelas condições climáticas desfavoráveis na safra atual.

Com relação ao cenário de produção nacional do trigo, no ano agrícola 2012/2013, foram produzidos 4,30 milhões de toneladas (0,5 milhão de toneladas a menos que o previsto pela FAO, 2013). Sendo que o estado do Paraná, nesse cenário, colaborou com aproximadamente 50% do total de grãos de trigo produzidos (CONAB, 2013). De modo geral o sul do Brasil é o responsável por praticamente toda a produção do país, mesmo com cultivares adaptadas para outras regiões.

Conforme os dados da CONAB (2013), a área de cultivo de trigo no país foi reduzida em 12,5% com relação ao ano anterior, reduzindo de 2.166,2 para 1.895,4 ha. Ainda de acordo com esses dados, verifica-se uma queda de 15,1% na produtividade da cultura, em nível nacional, sendo de 2.672 kg ha^{-1} no ano anterior e de 2.269 na safra atual.

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio (N) é um elemento que normalmente está inserido nos sistemas de produção vegetal através de fertilizantes, sendo que isso só foi possível a partir do século XX no qual pesquisadores conseguiram transformar N_2 atmosférico em amônia (NH_3), possibilitando sua adição em meios agrícolas por meio de adubos nitrogenados, conforme Moiser e Galloway (2005) que afirmam ainda que se não houvesse essa descoberta, 40% da população mundial não existiria por falta de alimentos.

Quanto ao processo de fixação industrial do N_2 , o nitrogênio e hidrogênio moleculares são submetidos à temperaturas entre 400 °C – 650 °C, pressões entre 20 – 40 MPa e utilizam um catalisador metálico, normalmente o ferro, esse processo foi desenvolvido na Alemanha durante a primeira guerra mundial, e é chamado de *Processo Haber-Bosch* (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

O N_2 representa 78% dos gases da atmosfera (SOUZA e FERNANDES, 2006). Mas porque então 40% da população mundial não existiriam se não houvesse a descoberta do *Processo Haber-Bosch*? Epstein e Bloom (2006); Souza e Fernandes (2006) e Raij (2011) destacam a alta estabilidade do N_2 atmosférico, que ao contrário de outras moléculas diatômicas, não é passível de reações químicas em condições naturais.

Não existe nenhum agente oxidante suficientemente forte para oxidar o N_2 nas condições ambientais, e nenhum outro agente redutor, para reduzir esta molécula, pode existir em meio aquoso, considerando-se que a água seria preferencialmente reduzida, produzindo hidrogênio (CHATT e LEIGH, 1968).

Conforme apresentado na Figura 1, e descrito por Epstein e Bloom (2006); Souza e Fernandes (2006) e Raij (2011), após fixado em amônio ou nitrato, o nitrogênio inicia um ciclo biogeoquímico e passa por várias formas orgânicas e inorgânicas antes de retornar a nitrogênio molecular.

As plantas normalmente absorvem pelas raízes grande quantidade de N, nas formas de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) que são reduzidos formando aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, entre outros. Esse processo é denominado de assimilação de nitrogênio e, dependendo da espécie pode ocorrer tanto nas raízes como nas folhas, sendo este último o mais comum na cultura do trigo (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

No solo de regiões tropicais, é possível a absorção de aminoácidos pelas raízes de plantas, porém existe grande competição com os microrganismos, que preferencialmente utilizam os aminoácidos como fonte de N (CHAPIN III, et al., 1993). Mas a forma com que predominante o N é absorvido pelas plantas, é o NH_4^+ , que está em maior concentração na maioria dos solos tropicais (EPSTEIN e BLOOM, 2006; SOUZA e FERNANDES, 2006).

Existe uma forte correlação entre a taxa de assimilação de NO_3^- na parte aérea das plantas com a fotorrespiração. Em estudos realizados com trigo, observou-se que altas concentrações de CO_2 ou baixas de O_2 inibem a assimilação de NO_3^- e que de maneira geral a fotoassimilação torna-se significativa em condições de 360 $\mu\text{mol de } CO_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 21% de O_2 , associados ainda a taxas de luminosidades próximas a 1800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

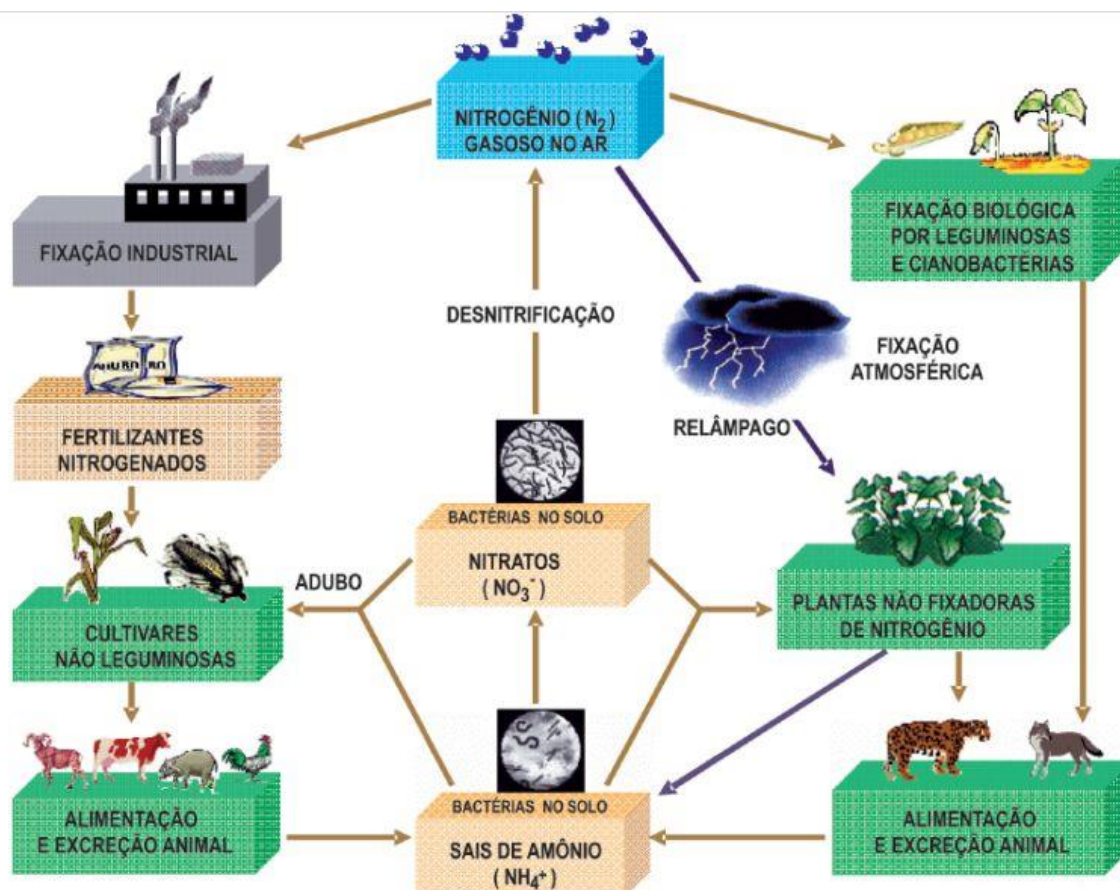


Figura 1. O ciclo do nitrogênio terrestre. O nitrogênio atmosférico (N₂) é convertido em amônio (NH₄⁺) por meio da fixação industrial, fixadores de N₂ de vida livre ou fixadores simbióticos de N₂, ou em nitrato (NO₃⁻), por meio da fixação atmosférica. Microrganismos do solo também convertem NH₄⁺ em NO₃⁻ (via nitrificação). Plantas (via absorção pelas raízes) e microrganismos do solo (via imobilização) absorvem NH₄⁺ e NO₃⁻ do solo. Herbívoros comem as plantas para obter o nitrogênio e os carnívoros, comem os herbívoros. Fezes e cadáveres de todos esses organismos, incluindo folhas caídas e todas as plantas depois de sua morte, contribuem para o conjunto de matéria orgânica em decomposição no solo. Os microrganismos do solo decompõem essa matéria orgânica para produzir NH₄⁺ (via amonificação). Outros microrganismos, particularmente sob condições anaeróbicas, convertem algum NO₃⁻ do solo de volta em N₂ (via denitrificação). Alguns NO₃⁻ são dissolvidos na água subterrânea (via lixiviação) e algum NH₄⁺ se converte na forma gasosa NH₃ e se dissipa na atmosfera (via volatilização, não mostrada).

Fonte: Epstein e Bloom (2006), adaptado.

Aproximadamente 25% dos gastos energéticos das plantas estão relacionados com o N, em reações que englobam desde a redução de NO₃⁻ a NH₄⁺ e a subsequente incorporação do N às formas orgânicas nas plantas (EPSTEIN e BLOOM, 2006; CANTARELLA, 2007).

O nitrogênio é o elemento mineral que as plantas exigem em maiores quantidades (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em contradição a isso, mais de 50% do N aplicado

como adubo é perdido por processos de lixiviação do NO_3^- (que não é adsorvido no complexo de troca catiônica e circula relativamente livre na solução do solo) e pela denitrificação (CHO, 2003).

Por essa razão, o cultivo de não-leguminosas importantes no cenário agrícola global, como o trigo e o milho, têm seus custos produtivos elevados significativamente. Além de causarem impactos ambientais, tais como a produção de gases que causam o efeito estufa, diminuição do ozônio atmosférico, chuvas ácidas, mudanças no ciclo global de N, e a eutrofização de águas superficiais e subterrâneas (BHATTACHARJEE et al., 2008).

Em virtude desses efeitos, vários cientistas começaram a estudar o potencial das bactérias fixadoras de nitrogênio em gramíneas, a partir da década de 1970 (MARX, 2004), com destaque para o grupo de cientistas liderados por Johanna Döbereiner, nos seus estudos com a FBN em não-leguminosas, iniciados no Brasil.

2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas

As bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) em gramíneas foram re-descobertas em meados da década de 1970, por Johanna Döbereiner. Nesse período, acreditava-se que a principal contribuição desses microrganismos, para muitas espécies de plantas, era principalmente a fixação de nitrogênio molecular em compostos assimiláveis (BASHAN et al., 2004), por isso então foram denominadas de bactérias diazotróficas.

Na atualidade, esse grupo de bactérias vem sendo constantemente chamadas de BPCV, por estarem relacionadas não apenas com a fixação biológica do nitrogênio, mas também por liberarem reguladores vegetais (que são produzidos pelo próprio vegetal), o que consequentemente ocasiona o crescimento de raízes, maior capacidade de absorção de água e nutrientes e, em alguns casos, incremento na produtividade (DOBBELAERE & CROONENBORGH, 2002).

Bashan e Bashan (2005) fizeram um levantamento referente aos mecanismos empregados por BPCV, seus efeitos no crescimento de plantas e quais gêneros estão relacionados com o mecanismo em questão, sendo esses dados apresentados na Tabela 1.

As BPCV, diferentemente dos rizóbios nas culturas leguminosas, não apresentam formação de nódulos, apesar de realizarem a fixação biológica de nitrogênio, e são classificadas não como simbiotes, mas associativas de raízes. Dentre as mais estudadas estão as bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente *A. brasilense* e *A. lipoferum*, que

são mais frequentemente encontradas colonizando a maioria das plantas de regiões tropicais e temperadas (REIS et al., 2006).

Tabela 1. Alguns mecanismos empregados por bactérias promotoras do crescimento vegetal.

Mecanismos	Efeitos no crescimento de plantas	Exemplos de espécie de bactéria
Fixação de nitrogênio em associação com raízes	Incrementos no conteúdo de nitrogênio e de biomassa	<i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Cyanobacteria</i> , <i>Herbaspirillum</i>
Produção de reguladores vegetais (auxina, giberelina, citocinina)	Estímulo à ramificação de raízes, incremento na biomassa de folhas e raízes, e indução ao ciclo reprodutivo	<i>Azospirillum</i>
Solubilização de fosfato	Incremento em biomassa e conteúdo de P	<i>Bacillus lichiniiformis</i> , <i>Vibrio</i>
Introdução de resistência às condições de estresse (seca, salinidade, compostos tóxicos)	Melhorar a sobrevivência das mudas e aumentar a biomassa	<i>Azospirillum</i>

Fonte: Bashan e Bashan (2005), adaptado.

Bashan e Bashan (2005) e Reis et al. (2006), destacam também que algumas BPCV são endofíticas, essa classificação se refere ao grupo de bactérias que possuem a capacidade de colonizar tecidos internos de plantas e neles perpetuarem, sem causarem nenhum sintoma de patogenicidade, mas sim promoverem o crescimento do hospedeiro. Esses pesquisadores citam como exemplo *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans* e *Azoarcus* spp.

2.3.1 Fixação biológica de nitrogênio

A fixação biológica de N_2 (FBN) de maneira geral é a redução de N_2 atmosférico em NH_3 , realizada por microrganismos procariotos que possuem o complexo enzimático da nitrogenase, conhecidos como diazotróficos (CANTARELLA, 2007). O complexo nitrogenase é formado por duas subunidades: um heterotetrâmero, a dinitrogenase $\alpha_2\beta_2$, e um homodímero, a dinitrogenase redutase γ_2 , em que a região α possui um sítio ativo para redução de N_2 , chamado de FeMo-co-fator, conforme pode ser verificado na Figura 2 (EPSTEIN e BLOOM, 2006; REIS et al., 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

A FBN é semelhante à fixação industrial do nitrogênio, pois produz amônia (NH_3) a partir do nitrogênio molecular N_2 em que a reação geral é a seguinte: $N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16ATP \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16Pi$, reação catalisada pelo complexo nitrogenase (TAIZ

e ZEIGER, 2013). Esses pesquisadores ressaltam ainda que um método para avaliar a atividade da nitrogenase, se baseia na quantificação do etileno, pois uma das reações catalisadas por essa enzima é a redução do acetileno a etileno.

Em teoria, existe liberação de energia na redução de N_2 a NH_3 , entretanto, as fixações, industrial e biológica de nitrogênio, requerem grande quantidade de energia para a quebra da tripla ligação do N_2 (EPSTEIN e BLOOM, 2006). A partir de cálculos baseados no metabolismo de carboidrato por leguminosas, Heytler et al. (1985) proferiram que uma planta consome 12 gramas de carbono orgânico por grama de N_2 fixado.

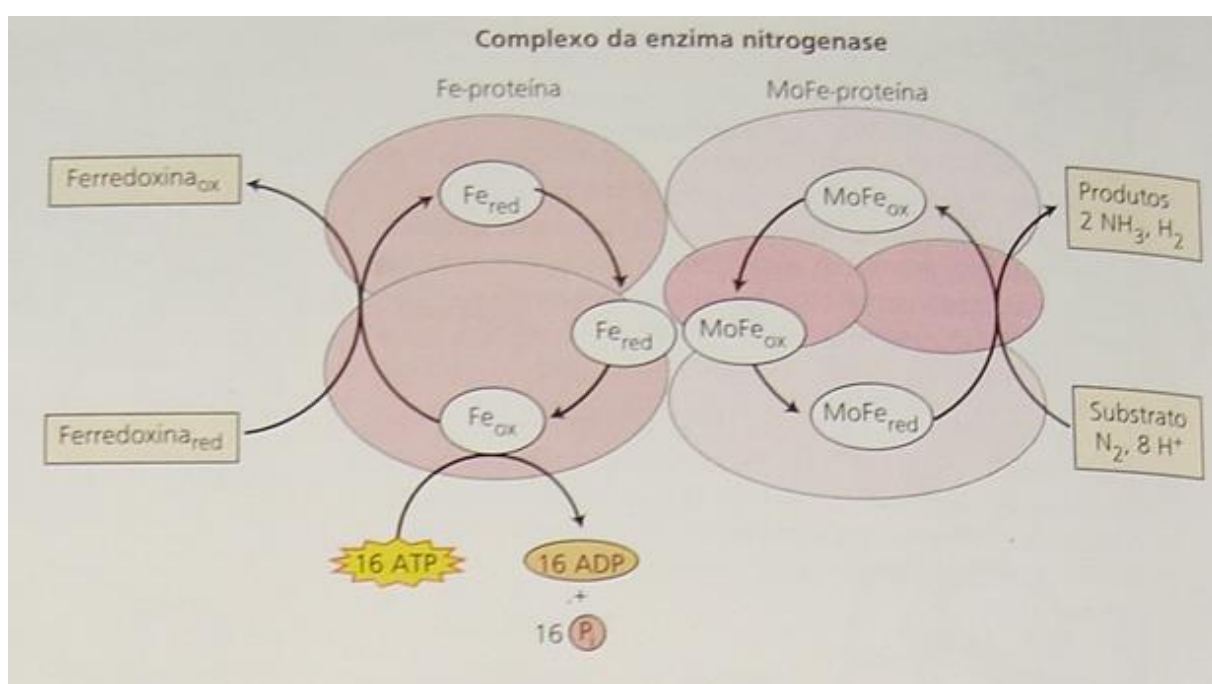


Figura 2. A reação de redução catalisada pela nitrogenase. A ferredoxina reduz a Fe-proteína. Acredita-se que a ligação e a hidrólise do ATP à Fe-proteína provoca uma mudança na conformação dessa proteína, o que facilita as reações redox. A Fe-proteína reduz a MoFe-proteína e esta última reduz o N_2 .

Fonte: Epstein e Bloom (2006); Taiz e Zeiger (2013).

Apesar do sucesso obtido com a FBN na cultura da soja e demais leguminosas, a utilização de inoculantes para cereais como o trigo, ainda é uma estratégia pouco habitual, pois existe certa especificidade entre bactéria e hospedeiro, ou seja, é necessário que mais estudos sejam realizados, com diferentes estipes; variedades e, regiões do país, para a obtenção de resultados consistentes que apontem ganhos significativos em produtividade (SALA, 2002; CANTARELLA, 2007).

Conforme reportado por Bashan et al. (2012), as BPCV isoladas da mesma variedade de planta que se deseja inocular, são mais eficientes, principalmente quando

associadas na presença da população nativa. Roesch et al. (2005) sugerem que organismos adaptados às condições ambientais do local, proporcionam melhores condições para competir com a microbiota nativa, por estarem adaptados às condições edafoclimáticas e também pelo aumento na população em razão de sua inoculação.

De acordo com Reis et al. (2006) cerca de 20% do total de N requerido pela cultura do trigo, pode ser assimilado por via da FBN. Resultados semelhantes foram obtidos em leguminosas, sendo que ficou caracterizado que a amplitude de absorção é definida por fatores como a variedade, local de plantio, método utilizado para estimar a contribuição, e também a estirpe avaliada além de outros fatores abióticos.

2.3.2 Produção de reguladores vegetais

Um dos mecanismos de atuação de BPCV é o de promover o crescimento pela produção de reguladores vegetais, também denominados fitormônios (BASHAN e BASHAN, 2005). Thuler et al. (2003) apontam que as bactérias do gênero *Azospirillum* são conhecidas pela habilidade de produzir fitormônios, bem como poliaminas e aminoácidos para as culturas. E dentre esses fitormônios podem-se destacar também os indóis, como ácido indolacético (AIA) e as giberelinas, que desempenham um papel importante no crescimento vegetal (BASHAN et al., 2004).

A produção de fitormônios por bactérias é um dos fatores responsáveis pelo efeito estimulatório observado no crescimento de plantas, como no caso da inoculação de estirpes de *Azospirillum* (BOTTINI et al., 1989). Sala (2002) ressalta que ao lado da fixação biológica do nitrogênio, a produção de fitormônios surge como uma evidência dos benefícios causados por BPCV.

A estimulação do crescimento de raízes, pela produção de fitormônios e fixação biológica de nitrogênio no desenvolvimento inicial de plântulas de trigo, pode ser responsável pelo impacto positivo da inoculação (BHATTARAI e HESS, 1993). Dobbelaere et al. (1999) verificaram redução do comprimento radicular, entretanto ocorreu aumento no número de pêlos radiculares de plantas de trigo devido à secreção de auxina por *Azospirillum* spp.

Bashan e Bashan (2005) destacam que a produção de fitormônios por *Azospirillum* spp. reflete como efeito fisiológico, na planta, pelo estímulo à ramificação das raízes, incremento na biomassa de folhas e raízes e, indução ao ciclo reprodutivo.

Até então são conhecidas três vias biossintéticas para a produção de AIA em *Azospirillum*: duas dependentes de triptofano, via índole-3-acetamida (IAM) e índole-3-piruvato (IpyA), e uma outra independente do triptofano (DOBBELAERE et al., 1999). A enzima índole-3-piruvato descarboxilase é comum às duas vias IpyA, e à via independente de triptofano, a qual o precursor é desconhecido, se acredita na possibilidade de que todas tenham início num intermediário comum, que é o IpyA (LAMBRECHT et al., 2000).

Parte dos efeitos benéficos obtidos pela inoculação de plantas com *Azospirillum* spp. pode ser explicado pela produção de giberelina (GA), pois a aplicação de reguladores vegetais à base de GA, também ocasiona aumento no número de pêlos radiculares (BASHAN et al., 2004).

Cassán et al. (2001) avaliaram o efeito da inoculação de *A. brasilense* e *A. lipoferum* em plântulas de arroz mutantes, em que as giberelinas produzidas formam conjugados e se tornam inativas, fazendo com que as plantas tenham nanismo. Esses pesquisadores observaram que a inoculação promove o incremento nos níveis de GA fisiologicamente ativas, acarretando no crescimento da planta e também no incremento em produtividade dos grãos.

Durante a maior parte do período de crescimento das plantas, os níveis de concentração de etileno se mantêm baixos, com exceção da fase de germinação em que os níveis aumentam para se quebrar a dormência das sementes (BASHAN et al., 2004). Esses autores citam que a manutenção de baixos níveis de etileno durante o crescimento das plantas pode prevenir perdas consideráveis de produção na agricultura. Considerando-se que de acordo com Glick et al. (1999), o aumento na concentração de etileno nas raízes, podem ser causados por estresses biológicos e ambientais, gerando murchamento e senescência.

Nesse sentido, Rojas et al. (2001) verificaram que vários microrganismos do solo bem como BPCV, produzem uma enzima conhecida pela degradação do ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), à ACC deaminase. Glick et al. (1999) concluem que baixando-se os níveis de etileno, potencializa-se a promoção do crescimento vegetal.

2.5 Matéria orgânica estabilizada

A matéria orgânica presente no solo é oriunda da mistura de diversos produtos de vários processos de decomposição, resultantes da degradação química e biológica de resíduos vegetais e da atividade microbiana (AGUIAR, 2012), e as substâncias húmicas (SHs)

constituem o produto final de decomposição de resíduos orgânicos e representam o principal componente da matéria orgânica em água, solos e sedimentos (CANELLAS et al., 2006).

As características da natureza definida das substâncias não húmicas é o que as diferem das substâncias húmicas como, por exemplo, a presença de carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos, ao contrário das substâncias húmicas, em que a estrutura química é indefinida, formando-se uma mistura de compostos (STEVENSON, 1994).

As SHs tratam-se de materiais coloidais do tipo ácidos fúlvicos (AFs), ácidos húmicos (AHs) e humina, em um esquema simplificado de classificação; trata-se de classes de moléculas que possuem variação em cor, grau de condensação e massa molar e que apresentam anéis aromáticos e grupos funcionais com potencial de desenvolvimento de cargas elétricas (VAUGHAN et al., 1985).

Por as SHs compreenderem uma mistura de materiais coloidais, com moléculas que possuem muitas variações, é necessário o fracionamento de acordo com seus atributos para se obter frações diferentes, com características semelhantes (AGUIAR, 2012). Conforme a autora, geralmente o material é fracionado em função de sua solubilidade em três frações principais: os AHs (fração solúvel a pH alcalino e insolúvel em pH fortemente ácido), AFs (solúvel em todo intervalo de pH) e huminas (fração residual e insolúvel em meio aquoso em qualquer valor de pH).

Piccolo et al. (1996) postularam por observações de AHs submetidos à cromatografia de exclusão por tamanho molecular, em função da redução do pH de AHs de 9,2 para 2,0, que em vez de consistir num polímero estável em pH neutro ou alcalino, os AHs se comportam como uma associação supramolecular de moléculas relativamente pequenas e heterogêneas que se mantêm unidas pela ação de forças fracas dispersivas, como forças de Van der Waals e interações π - π , CH- π em valores de pH na neutralidade ou por meio de pontes de H em valores de pH mais baixos.

A estrutura básica da molécula de ácido húmico é constituída por: 50-60% de C; 30-35% de O; 4-6% de H; 2-6% de N e; 0-2% de S, tendo alta afinidade aos íons metálicos no solo onde formam complexados de grande importância para as culturas, tanto no tocante a necessidade da cultura quanto redução indireta da acidez (ABATE, 1998). Porém Stevenson (1994) destaca que há uma alta complexidade e heterogeneidade estrutural das SHs, que são influenciadas pelo grau e mecanismo de decomposição, de tal forma que provavelmente não exista uma proposta estrutural totalmente satisfatória para essa fração da matéria orgânica.

2.5.1 Bioatividade de substâncias húmicas

As SHs são reportadas como condicionadores de solo, ocasionando maior estabilização dos íons nutritivos presentes na solução do solo e consequentemente proporcionando para planta, quando em condições de ambientes favoráveis, aumento no tamanho e número de raízes, incremento da absorção de nutrientes e elevação da taxa de crescimento (ARANCON, et al., 2006; CUNHA et al., 2009; PINHEIRO, SILVA e FURTINI NETO, 2010). Canellas et al. (2006) apontam que esses efeitos que as SHs exercem no solo, são conhecidos como efeitos indiretos da matéria orgânica humificada sobre o crescimento vegetal.

Com relação aos efeitos diretos das substâncias húmicas sobre o metabolismo das plantas, Nannipieri et al. (1993) apontam como resultados: 1) influência positiva sobre o transporte de íons, facilitando a absorção; 2) aumento da respiração e da velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs, resultando em maior produção de energia metabólica sob a forma de ATP; 3) aumento no conteúdo de clorofila; 4) aumento da síntese de ácidos nucleicos; 5) efeito seletivo sobre a síntese protéica e; 6) aumento ou inibição da atividade de diversas enzimas.

A H^+ -ATPase de membrana plasmática (MP) exerce papel fundamental de crescimento das células vegetais, pois essa enzima funciona como uma bomba de prótons acionada pela hidrólise de ATP, sendo responsável pelo transporte primário de H^+ do interior da célula para o apoplasma, gerando gradiente de H^+ através da MP, favorecendo o transporte secundário de íons e demais metabólitos, contra um gradiente de concentração (CANELLAS et al., 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

A partir disso e considerando-se a teoria do crescimento ácido proposta por Rayle e Cleland (1992), que consiste na acidificação da parede celular causada pela ativação de H^+ -ATPase de MP, desencadeando vários processos que findam com a expansão celular, Canellas et al. (2006) afirmam que um dos fenômenos que têm sido mais relacionados com a bioatividade das SHs correspondem ao mecanismo tipicamente auxínico da teoria do crescimento ácido. Pois a presença de auxina (hormônio vegetal) ativa H^+ -ATPase de membrana, ação fisiológica que esses autores reportam como realizada também por SHs e por uma toxina fúngica (fusiocina), utilizando-se de vários mecanismos, entre eles o da indução de síntese de H^+ -ATPase, moduladas por genes Mha1 e Mha2, conforme Frias et al. (1996).

Em experimento realizado com sementes de milho, o ácido húmico apresentou grupamentos de auxinas e efeito de bioatividade, sendo que o indicador para isso foi a

capacidade de ativar a bomba de prótons da membrana plasmática, que ocasiona a acidificação do apoplasto e o consequente aumento da plasticidade da parede celular (FAÇANHA et al., 2002).

Canellas e Façanha (2004) trabalharam com SHs oriundas de Argissolo Amarelo em avançado estágio de intemperismo, verificaram que o estímulo no transporte de prótons através de vesículas enriquecidas de MP isoladas de raízes de milho, foi mais forte quando as SHs foram coletadas das camadas superficiais em relação às camadas mais profundas.

A aplicação foliar de AHs provenientes tanto do solo de origem quanto de composto, promoveu efeitos positivos com relação aos aspectos qualitativos de uva de mesa cv. 'Itália' sendo os principais efeitos observados em incrementos significativos no tamanho das bagas e decréscimo na acidez titulável do fruto (FERRARA e BRUNETTI, 2008).

Baldotto et al. (2009) avaliando o efeito de ácido húmico aplicado via hidroponia no abacaxizeiro em fase de aclimação, e verificaram que houveram incrementos no crescimento da parte aérea, sistema radicular e conteúdo de N, P, K, Ca e Mg, e também ocorreu aumento na relação clorofila a/ clorofila b na planta.

Katkat et al. (2009) observaram que a aplicação foliar de $0,1 \text{ \% p v}^{-1}$ de AHs pulverizados no trigo, cultivado em solo alcalino, promoveu acréscimo em matéria seca das plantas, além de elevar os teores de N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn e Mn nas folhas, quando não se realizou a aplicação de calcário ao solo, e que em condições de adição de calcário ao solo, a dose de $0,2 \text{ \% p v}^{-1}$ de AHs gerou maiores valores de matéria seca e de teor de N nas folhas, em relação à testemunha.

Em experimento semelhante Katkat et al. (2009), utilizaram porém a técnica de salinização do solo pela aplicação de cloreto de sódio, Asik et al. (2009) observaram que não houve interação significativa para KCl x AHs, porém a pulverização foliar de AHs promoveu o incremento dos teores de P, K, Mg, Na, Cu e Zn, e que a melhor concentração é de $0,1 \text{ \% p v}^{-1}$ de AHs para a cultura do trigo.

2.6 Interações entre bactérias promotoras do crescimento vegetal e substâncias húmicas

AGUIAR (2012) realizou em sua dissertação a prospecção de BPCV associadas à vermicomposto, no intuito de observar microrganismos capazes de utilizar AHs como única fonte de carbono, em que foram caracterizados 89 isolados, separados em três grupos, onde foi possível observar que grande parte desses isolados foram eficientes na

fixação biológica de N₂ atmosférico e que todos eles produziram AIA a partir do triptofano. A inoculação dos isolados do terceiro grupo em raízes de milho, promoveu efeitos significativos em relação a testemunha quanto às matérias fresca e seca de raízes, parte aérea e da relação raiz/parte aérea.

Estudos com aplicação de AHs em milho inoculado com *Herbaspirillum seropedicae*, indicam que não há interferência negativa no crescimento das bactérias e que o AH estimula a colonização da microbiota nativa (CONCEIÇÃO et al., 2009).

A utilização de AHs com a bactéria endofítica *H. seropedicae* proporcionou aos microtoletes de cana-de-açúcar maior desenvolvimento de raízes e também da parte aérea (MARQUES Jr et al., 2008), sendo que a utilização de AHs não afetou na população de bactérias.

A aplicação foliar de *H. seropedicae* e SHs, em condições de casa de vegetação, ativou o metabolismo de plantas de milho, incluindo aumento na atividade de H⁺-ATPase da MP, alterações nos metabolismos de açúcar e do N, elevadas taxas de fotossíntese líquida, e no campo, incremento em produtividade de grãos de milho em 65 % com relação à testemunha sem inoculação (CANELLAS et al., 2012).

Em um trabalho realizado no intuito de verificar se a inoculação de BPCV, aplicadas com vermicomposto, afetam aspectos da nutrição e do crescimento inicial de milho, Baldotto et al. (2012) observaram que as BPCV, quando comparadas ao controle, apresentam maiores teores foliares de N e P, acompanhadas por características de crescimento mais elevadas, sugerindo um efeito sinérgico do uso combinado dessas bactérias com vermicomposto, favorecendo o desenvolvimento inicial das plântulas de milho.

Baldotto et al. (2010) verificaram a possibilidade de redução do período de aclimação de mudas de abacaxizeiro 'Vitória' utilizando da aplicação de AHs nas axilas das folhas basais e imersão das raízes em meio bacteriano contendo *Burkholderia* spp. Nesse experimento foi constatado que o uso combinado de AHs e BPCV influenciou no crescimento da planta, resultando maiores massas da parte aérea (147 %), raiz (105 %) e conteúdo de nutrientes (N, 132 %; P, 131 %; K, 80 %) quando comparado com as mudas sem inoculação e sem aplicação de AHs, caracterizando-se então como uma ferramenta biotecnológica promissora nesse sentido.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

3.1.1 Casa de vegetação

Dois experimentos foram conduzidos simultaneamente no ano agrícola 2011/2012, na Estação de Horticultura e Cultivo Protegido “Prof. Dr. Mário César Lopes”, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon-PR. As coordenadas geográficas do local são: latitude de 24°33'29,48” S e longitude de 54°02'44,13” W, com altitude média de 410 m.

A casa de vegetação utilizada está orientada no sentido norte-sul, coberta com filme duplo de polietileno de baixa densidade (PEBD), aditivados contra raios UV (ultravioletas). Os experimentos foram conduzidos em duas bancadas, com orientação também norte-sul com altura de aproximadamente 1,0 m.

3.1.2 Campo

O trabalho realizado a campo foi conduzido em uma área que se praticava o sistema de semeadura direta na palhada de milho, sendo a mesma utilizada por um período aproximado de cinco anos somente com esse cereal, localizada na Estação Experimental “Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, pertencente a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon-PR. As coordenadas geográficas do local são: latitude de 24°31'56,92” S e longitude de 54°01'12,90” W, com altitude média de 390 m.

A região é classificada climaticamente como Cfa - Clima subtropical, com temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (KÖPPEN, 1948).

Os dados meteorológicos foram obtidos da Estação Meteorológica Automática de Marechal Cândido Rondon (A820). As médias diárias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) são apresentadas na Figura 3. Os dados referentes às precipitações pluviais

acumuladas (mm) e quantidade de água aplicada por irrigação, durante a condução do experimento, podem ser visualizados na Figura 4.

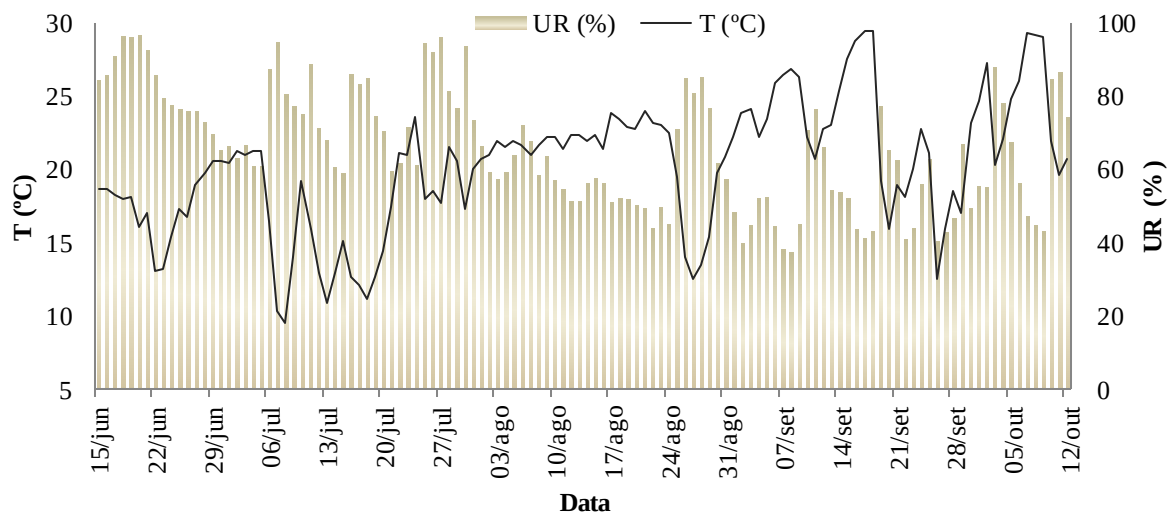


Figura 3. Temperatura do ar (T - °C) e umidade relativa do ar (UR - %), médias diárias, durante a condução do experimento a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.

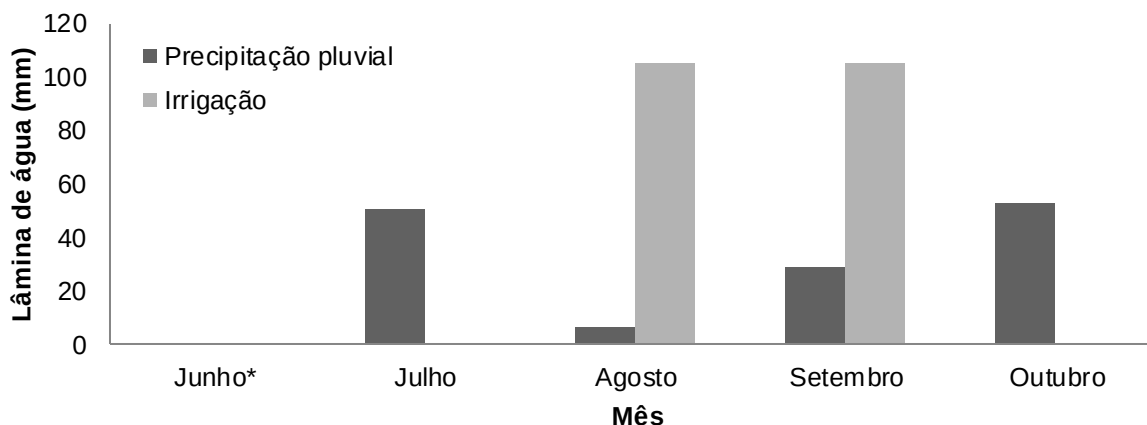


Figura 4. Precipitação pluvial e volume de água aplicada via irrigação por aspersão, durante a condução do experimento a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.

*Entre os dias 2 de junho e 10 de julho, não foi registrada a quantidade de precipitação pluviométrica acumulada, pois o pluviômetro estava inoperante.

3.2 Material vegetal

Foi utilizado como material vegetal a cultivar de trigo CD 150, obtido pela COODETEC – Cooperativa Central Agropecuária de Desenvolvimento Tecnológico e Econômico Ltda, lançada no ano de 2009. Essa cultivar tem origem genética do cruzamento de CD 104 e CD 108, é recomendada tanto para os sistemas de cultivo irrigado quanto

sequeiro. O ciclo médio para a região de Marechal Cândido Rondon-PR é de 110 dias. O material é moderadamente resistente ao acamamento, os grãos apresentam qualidade industrial como trigo melhorador e a cultivar é exigente quanto à fertilidade do solo (COODETEC, 2013).

3.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 4x4, com quatro repetições, totalizando 64 unidades experimentais. O primeiro fator referiu-se à combinação de bactérias promotoras do crescimento vegetal e matéria orgânica estabilizada, utilizando-se os seguintes tratamentos: controle; estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*; ácido húmico (AH) e; Ab-V5 + AH. O segundo fator referiu-se às doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹ de N). Dessa forma, formaram-se os 16 tratamentos contidos na Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados nos experimentos.

Tratamentos	Doses de N (kg ha ⁻¹)	Descrição dos tratamentos
1	0	Controle sem aplicação de nitrogênio e ácido húmico e sem inoculação
2	30	Dose de 30 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
3	60	Dose de 60 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
4	90	Dose de 90 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
5	0	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, sem aplicação e nitrogênio
6	30	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de 30 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
7	60	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de 60 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
8	90	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de 90 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
9	0	Aplicação de ácido húmico sem aplicação de nitrogênio
10	30	Aplicação de ácido húmico, com aplicação de 30 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
11	60	Aplicação de ácido húmico, com aplicação de 60 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
12	90	Aplicação de ácido húmico, com aplicação de 90 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
13	0	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de ácido húmico sem aplicação e

nitrogênio		
14	30	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de ácido húmico e com aplicação de 30 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
15	60	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de ácido húmico e com aplicação de 60 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio
16	90	Inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> , estirpe Ab-V5, com aplicação de ácido húmico e com aplicação de 90 Kg ha ⁻¹ de nitrogênio

3.4 Instalação e condução dos experimentos

3.4.1 Casa de vegetação

Os experimentos em casa de vegetação foram instalados no dia 21 de maio de 2011 e a colheita procedeu-se no dia 13 de setembro de 2011. Como unidades experimentais foram utilizados vasos de polietileno número 5, com capacidade para 15,0 dm³, preenchidos com aproximadamente 13,5 dm³ de solo peneirado em malha de 5,0 mm. O solo utilizado nos experimentos é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (LVef) (EMBRAPA, 2006), de textura muito argilosa, sendo retirado da camada de 0 à 20 cm, coletado no próprio município. As características químicas e granulométricas do solo estão apresentadas na Tabela 3.

O solo foi peneirado e em seguida misturado em betoneira, juntamente com o calcário e os adubos, no intuito de uma distribuição mais homogênea, seguindo as recomendações de adubação e calagem propostas por Marchioro e Franco (2010). Nesse momento, foram utilizados: calcário dolomítico - para calagem, pelo método de elevação da saturação de bases para 70 %; superfosfato simples e cloreto de potássio, para o fornecimento de fósforo e potássio, respectivamente.

Tabela 3. Características químicas e granulométricas do solo utilizado para o experimento. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.

P	MO	pH CaCl ₂	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC
mg dm ⁻³	g dm ⁻³								
32,01	12,30	4,80	3,87	0,20	0,58	2,45	0,95	3,98	7,85
V	m	Cu	Zn	Mn	Fe	Argila	Silte	Areia	
-----%		-----mg dm ⁻³				-----g kg ⁻¹			
50,70	4,78	4,10	3,00	45,00	59,10	721,0	108,0	171,0	

* Análise realizada no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental. Unioeste.

A adubação nitrogenada foi realizada em dois momentos, sendo 30 kg ha⁻¹ de N aplicados na base de semeadura e o restante aos 15 dias após a emergência (DAE) das plântulas, no estágio de afilamento, respeitando-se os limites propostos de N para cada tratamento em questão, e adotando-se a uréia para o fornecimento desse nutriente.

Antes de proceder-se com a semeadura, foram realizadas as inoculações das sementes de trigo com a estirpe Ab-V5 de *A. brasilense*. O inoculante foi obtido pelo Núcleo de Fixação Biológica de Nitrogênio do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Campus III, Centro Politécnico, Curitiba – PR. Este continha cerca de 2×10^8 UFC mL⁻¹, dos quais se aplicou a proporção de 2,0 mL para cada 1000 sementes e em seguida deixou-se à sombra por quatro horas. Foram semeadas seis sementes por vaso e no momento da aplicação foliar de N, realizou-se o desbaste, conduzindo-se duas plantas por vaso.

O ácido húmico foi obtido da purificação de vermicomposto, pelo Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, estabelecida em Campos dos Goytacazes-RJ. O material foi previamente dissolvido em água destilada a uma proporção de 13,5 mg L⁻¹, sendo pulverizados nas plantas 20 mL por vaso dessa solução, no estágio de alongamento do colmo, aos 27 DAE.

O controle de plantas daninhas foi realizado manualmente e os demais tratamentos culturais para o controle de pragas e doenças foram realizados de acordo com as recomendações de Marchioro e Franco (2010).

O primeiro experimento foi conduzido até o início do estágio de emborrachamento do trigo, aos 52 DAE, em que se realizaram as medidas de trocas gasosas, e as análises biométricas e nutricionais. O segundo experimento foi conduzido até a maturação fisiológica do trigo, aos 106 DAE, momento em que se realizou a colheita e foram analisados os componentes de produção e a produtividade da cultura.

3.4.2 Campo

O experimento foi instalado no dia 15 de junho de 2012 e a colheita procedeu-se no dia 7 de outubro de 2012. As unidades experimentais foram compostas por 14 linhas com 4,0 m de comprimento e espaçamento de 0,17 m entre linhas, onde foram semeadas 450 sementes m⁻², obtendo-se um estande final de aproximadamente 420 sementes viáveis m⁻², levando-se em consideração um poder germinativo de 93 %.

O solo do local é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (LVef) (EMBRAPA, 2006), de textura argilosa e as suas características químicas e granulométricas estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Características químicas e granulométricas do solo da área experimental. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.

P	MO	pH CaCl ₂	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC
mg dm ⁻³	g dm ⁻³		-----cmol _c dm ⁻³ -----						
23,99	15,04	4,75	4,77	0,45	0,33	4,89	1,36	6,58	11,35
V	m	Cu	Zn	Mn	Fe	Argila	Silte	Areia	
-----%		-----mg dm ⁻³ -----				-----g kg ⁻¹ -----			
57,97	6,40	10,30	127,00	2,30	38,00	566,00	393,41	40,59	

* Análise realizada no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental. Uniãoeste.

A correção do solo foi realizada 30 dias antes da semeadura, com aplicação de calcário dolomítico. Para a adubação foi utilizado superfosfato simples e cloreto de potássio, para o fornecimento de fósforo e potássio, respectivamente. Tanto a correção do solo quanto a adubação foram seguidos conforme recomendação proposta pela Embrapa (2011)

Assim como no experimento em casa de vegetação, a adubação nitrogenada também foi realizada em dois momentos, sendo 30 kg ha⁻¹ de N aplicados na base e o restante aos 15 dias após a emergência (DAE) das plântulas, no estágio de afilamento, a lanço, respeitando-se os limites propostos de N para cada tratamento em questão, e adotando-se a uréia para o fornecimento desse nutriente.

Antes de proceder-se com a semeadura, foram realizadas as inoculações das sementes de trigo com a estirpe Ab-V5 de *A. brasilense*. O inoculante foi obtido pelo Núcleo de Fixação Biológica de Nitrogênio do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Paraná (UFPR), *Campus* III, Centro Politécnico, Curitiba – PR. Este continha cerca de 2x10⁸ UFC mL⁻¹, dos quais se aplicou a proporção de 4,0 mL para cada 1000 sementes e em seguida deixou-se à sombra por quatro horas. Inoculou-se um maior volume de bactérias por unidade de sementes no experimento a campo, pois nessas condições tem-se uma maior competição com outros microorganismos.

O ácido húmico foi obtido da purificação de vermicomposto, pelo Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Norte Fluminense – UENF, estabelecida em Campos dos Goytacazes-RJ. O material foi previamente dissolvido em água destilada a uma proporção de 20,0 mg L⁻¹, sendo pulverizados nas plantas no estágio de alongamento do colmo (27 DAE), com auxílio de um pulverizador manual com capacidade para 2,5 L, pressurizado por CO₂ a uma pressão de 45 lib pol⁻², gerando um volume de calda de 166,7 L

ha⁻¹. A barra utilizada apresenta 2,5 m de extensão, e se adotou quatro bicos do tipo jato plano defletor (TT 110.03), espaçados a 0,50 m.

Os tratos culturais empregados para o controle de plantas daninhas, de pragas e doenças do trigo, foram realizados de acordo com as recomendações da Embrapa (2011). Foram necessárias irrigações a partir do estágio de florescimento do trigo, realizando-se seis irrigações, por um período de meia hora cada. Utilizou-se a irrigação do tipo aspersão, em que a lâmina aplicada foi de 35 mm, totalizando-se um valor acumulado de 210 mm. As irrigações foram realizadas entre a terceira semana do mês de agosto e a primeira semana do mês de setembro de 2012.

No início do estágio de emborrachamento do trigo, aos 56 DAE, foram realizadas as medidas de trocas gasosas, e as análises biométricas e nutricionais. O experimento foi conduzido até a maturação fisiológica do trigo, aos 109 DAE, momento em que se realizou a colheita e foram analisados os componentes de produção e a produtividade da cultura.

3.5 Características Avaliadas

3.5.1 Variáveis biométricas

Para obtenção dos dados referentes às variáveis biométricas, foram utilizadas as duas plantas de cada vaso, no experimento conduzido em casa de vegetação, e no experimento a campo adotou-se 1,0 m linear da parcela útil, definido aleatoriamente. Antes de cada coleta das plantas, suas respectivas alturas foram determinadas com auxílio de uma régua graduada de 0 a 100 cm, de onde se coletou três pontos, os quais originaram a média aritmética da unidade experimental.

Após medir a altura, as plantas foram cortadas rente ao solo e levadas ao Laboratório de Controle Biológico da Estação de Horticultura e Cultivo Protegido “Prof. Dr. Mário César Lopes” – no experimento em casa de vegetação e; para o Laboratório da Estação Experimental “Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa” – no experimento a campo. Onde se separaram as diferentes estruturas da parte aérea, tais como: a lâmina para o cálculo de área foliar, folhas, colmo+bainhas, e estruturas reprodutivas, quando presentes.

Esses materiais foram então acondicionados em sacos de papel Kraft, etiquetados e levados à estufa de circulação forçada de ar, mantida sob temperatura de 65 ± 3

°C, por um período de 72 h, para determinação da matéria seca de folhas (MSF), matéria seca de colmo e bainhas (MSC+B) e matéria seca das estruturas reprodutivas (MSER) e, a partir da soma dos valores desses órgãos obteve-se a matéria seca da parte aérea (MSPA). As pesagens foram realizadas em balança digital, modelo FA 2104 N, da Celtac, com precisão de 0,0001 g.

A área foliar (AF) foi quantificada utilizando-se o método de amostragem proposto por Benincasa (2003). A lâmina foliar selecionada para determinação da área foliar apresenta dimensões conhecidas em decímetro quadrado, a qual se considerou como área foliar da amostra (AFamostra). De posse dos dados de matéria seca da amostra (MSamostra) e da MSF, obteve-se a AF total com a utilização da seguinte fórmula:

$$AF = [(AFamostra \times MSF) / MSamostra]$$

3.5.2 Medidas de trocas gasosas e índice SPAD

No mesmo dia em que se realizaram as coletas para determinação das variáveis biométricas, antes de se fazer a retirada do material vegetal, foram medidas as trocas gasosas, mensuradas sempre na posição central de duas folhas bandeira totalmente expandidas e expostas à radiação solar, de dois pontos aleatórios da parcela útil.

Utilizou-se um analisador portátil automático de fotossíntese, com sistema de caminho aberto, IRGA LI-6400XT da LI-COR (Lincon, Nebraska – USA). As medidas foram realizadas no período entre às 09:00 e 11:00 h da manhã, em que se avaliaram os seguintes parâmetros:

- Taxa de assimilação líquida de CO₂ nas folhas (A) - $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$;
- Condutância estomática (gs) – $\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$;
- Concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (Ci) – $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$;
- Taxa de transpiração (E) - $\text{mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$;
- Diferença de pressão de vapor folha-ar (VPDL) – kPa;
- Temperatura foliar computadorizada (CTleaf) - °C.

A eficiência no uso da água (EUA) foi calculada pela relação entre a taxa de assimilação líquida de CO₂ nas folhas e a taxa de transpiração (A/E). Também foi calculada a relação entre taxa de assimilação líquida de CO₂ nas folhas e a concentração interna de CO₂ nos espaços intercelulares (A/Ci).

A leitura do índice SPAD foi utilizada como um método indireto de mensurar o teor de clorofila. Foram obtidas no momento da medição das trocas gasosas, em três pontos aleatórios da parcela útil, mensuradas sempre na posição central da folha bandeira. Para essa variável foi utilizado o clorofilômetro Minolta SPAD-502.

3.5.3 Determinação de macronutrientes nas folhas e grãos

Após a determinação da MSF e matéria seca dos grãos (MSG), estes foram levados ao Laboratório de Fertilidade do Solo, do Departamento de Agronomia da Unioeste de Marechal Cândido Rondon-PR, para determinação dos macronutrientes primários (N, P e K).

Os materiais inicialmente foram moídos e submetidos à digestão sulfúrica, o N foi determinado pelo método Kjeldahl, o P pelo método colorimétrico e o K por espectrometria de chama. Os nutrientes foram expressos em g kg^{-1} de matéria seca de folhas e grãos.

3.5.4 Componentes de produção e produtividade de grãos

Na ocasião da colheita, foram avaliadas as variáveis relacionadas à produção e produtividade de grãos da cultura. Seus valores foram obtidos pela média das duas plantas no experimento em casa de vegetação, e a campo a área colhida foi de $1,0 \text{ m}^2$ utilizando-se de um aro quadrado, com lado de $0,5 \text{ m}$, arremessando-o quatro vezes aleatoriamente, dentro da parcela útil. Para o cálculo da média dos componentes de produção, coletou-se 20 espigas selecionadas ao acaso dentro do $1,0 \text{ m}^2$ colhido, dentro de cada unidade experimental.

Os componentes de produção avaliados foram: número de espigas (NE), comprimento médio de espigas (CE) – mensurado em mm com auxílio de um paquímetro digital, número de espiguetas por espiga (NEE), número de grãos por espiga (NGE), número de grãos por espiguetas (NGEG) e massa de 100 grãos (M100).

Para a determinação da produtividade (PROD) e da M100 da amostra colhida da área útil foi retirada uma sub amostra para determinar a umidade dos grãos, em estufa de circulação forçada de ar, mantida sob temperatura de $103 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, por um período de 24 horas, de acordo com método proposto por Brasil (2009).

3.6 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F de Fisher-Snedecor. Os efeitos dos tratamentos para as variáveis qualitativas foram desdobrados em contrastes médios, conforme Alvarez e Alvarez (2006). Os fatores quantitativos foram ajustados em equações de regressão. Os cálculos foram realizados com o auxílio do aplicativo computacional SISVAR – Sistema de Análises de Variância, versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

Também foi realizada uma análise de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) entre as seguintes variáveis do experimento a campo: PROD, M100, NGE, NEE, CE, Nf, Pf, Kf, MSPA, AF, MSF, MSC+B e MSER. No intuito de se verificar quais as variáveis que mais se relacionaram com a produtividade de grãos na cultura do trigo, nas condições com que foi conduzido este estudo.

4 RESULTADOS

4.1 Variáveis biométricas

Na Tabela 5 está apresentado o resumo da análise de variância para as variáveis biométricas avaliadas no início do estágio de emborrachamento do trigo, aos 52 DAE no experimento em casa de vegetação e aos 56 DAE no experimento conduzido a campo. Verifica-se que houve interação significativa entre a utilização das BPCV de crescimento vegetal e doses de nitrogênio, nas variáveis, matéria seca de folhas e de colmo mais bainhas (no experimento em casa de vegetação) e que a campo, não houve interação significativa para nenhuma das variáveis biométricas analisadas.

Tabela 5. Resumo das análises de variância para matéria seca de folhas (MSF), matéria seca de colmo e bainhas (MSC+B), matéria seca das estruturas reprodutivas (MSER), matéria seca da parte aérea (MSPA), área foliar (AF) e altura (H), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011.

FV	GL	Quadrados Médios					
		MSF	MSC+B	MSER	MSPA	AF	H
Experimento em casa de vegetação (2011)							
Ab-V5/AH	3	18,74**	0,20 ^{ns}	0,50 ^{ns}	52,31**	0,06 ^{ns}	17,63 ^{ns}
Doses N	3	1,23 ^o	2,63**	4,90**	123,71**	0,58**	37,04 ^{ns}
Interação	9	1,10*	0,30 ^o	0,54 ^{ns}	12,82 ^{ns}	0,07 ^{ns}	57,03 ^{ns}
Resíduo	45	0,50	0,16	0,74	8,70	0,08	72,77
C.V. (%)	-	25,46	16,26	58,30	29,83	21,30	12,60
Média	-	2,78	2,42	1,47	9,89	1,37	67,69
Experimento a campo (2012)							
Ab-V5/AH	3	409636,31 ^{ns}	356396,26 ^o	84,04*	1944843,02 ^o	0,02 ^{ns}	50,62 ^{ns}
Doses N	3	1170161,78**	516809,67*	16,96 ^{ns}	3235912,00*	0,28**	78,08*
Interação	9	321262,07 ^{ns}	225270,94 ^{ns}	39,41 ^{ns}	1205537,23 ^{ns}	0,08 ^{ns}	34,22 ^{ns}
Resíduo	45	236411,32	143674,34	26,27	791983,49	0,06	23,95
CV (%)	-	29,21	24,34	40,75	26,07	20,26	10,28
Média	-	1664,37	1557,15	12,58	3413,51	1,23	47,60

^{ns} - não significativo, ^o,*,e** - significativo a 10 %, 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Observa-se que as BPCV do crescimento vegetal apresentam efeito significativo nas variáveis matéria seca das folhas e da parte aérea das plantas de trigo, em casa de vegetação, e quando conduzido a campo, nas variáveis matéria seca de colmo mais bainhas, matéria seca das estruturas reprodutivas e matéria seca da parte aérea.

Com relação às doses de nitrogênio aplicadas, todas as variáveis foram significativamente influenciadas em ambos os experimentos, com exceção a altura das plantas do experimento em casa de vegetação e na matéria seca das estruturas reprodutivas do experimento a campo.

As variáveis biométricas significativas apenas em função da utilização de promotores do crescimento vegetal foram comparadas pela análise de contrastes ortogonais (Tabela 6). Nota-se que para MSPA₁ coletados no experimento conduzido em casa-de-vegetação, os tratamentos onde as sementes receberam inoculação com a estirpe de Ab-V5 e as plantas foram pulverizadas com AH, de forma isolada ou em associação, estas apresentaram um incremento médio em 2,33 g por vaso em relação às plantas não tratadas.

Tabela 6. Incremento médio e F calculado da análise de variância dos contrastes ortogonais para a matéria seca da parte aérea de plantas de trigo conduzidas em casa de vegetação (MSPA₁), matéria seca de colmo mais bainhas (MSC+B₂), matéria seca das estruturas reprodutivas (MSER₂) e matéria seca da parte aérea de plantas de trigo conduzidas a campo (MSPA₂), cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011/2012.

Contrastes ortogonais ¹	GL	Incremento médio (F calculado)			
		MSPA ₁	MSC+B ₂	MSER ₂	MSPA ₂
		g vaso ⁻¹	kg ha ⁻¹		
(-) vs T	1	2,33 (7,46**)	35,04 (0,10 ^{ns})	-83,47 (4,77*)	-49,36 (0,04 ^{ns})
Ab-V5 vs AH	1	2,91 (7,78**)	358,75 (7,17**)	100,07 (4,57*)	847,51 (7,26**)
Ab-V5 e AH vs Ab-V5+AH ²	1	1,51 (2,79 ^{ns})	48,24 (0,17 ^{ns})	-17,40 (0,18 ^{ns})	74,48 (0,08 ^{ns})
QMR	45	8,70	143674,34	17517,31	791983,49

¹Contrastes ortogonais: (-) – Controle; T – tratados com Ab-V5 ou AH ou ambos. ²O contraste Ab-V5 e AH vs Ab-V5+AH compara se os tratamentos isolados, somente inoculação com Ab-V5 ou pulverização com AH, se diferem da associação Ab-V5+AH. ^{ns} - não significativo, *e** - significativo a 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A pulverização com AH promoveu incremento médio na MSPA₁ de 2,91 g por vaso, em relação às plantas inoculadas com Ab-V5, não havendo diferença significativa entre o uso associado de Ab-V5+AH com o uso isolado de algum desses tratamentos.

De maneira geral o AH promoveu incrementos significativos de 358,75; 100,07 e; 847,51 kg ha⁻¹ em MSC+B₂, MSER₂ e MSPA₂, respectivamente, em comparação com as plantas apenas inoculadas com Ab-V5. Porém todos os tratamentos influenciaram negativamente na MSER₂ nesse estágio de avaliação.

As doses de nitrogênio influenciaram de maneira significativa a produção de MSF₁ e MSC+B₁ pelas plantas de trigo, com exceção em MSF₁ daquelas tratadas somente com Ab-V5 ou AH (Figura 5). Os maiores incrementos médios na matéria seca de folhas

foram alcançados com o uso isolado de AH (3,49 g por vaso) e o combinado de Ab-V5+AH (4,63 g por vaso), sendo que esse último promoveu aumento linear em MSF_1 , com as crescentes doses de N.

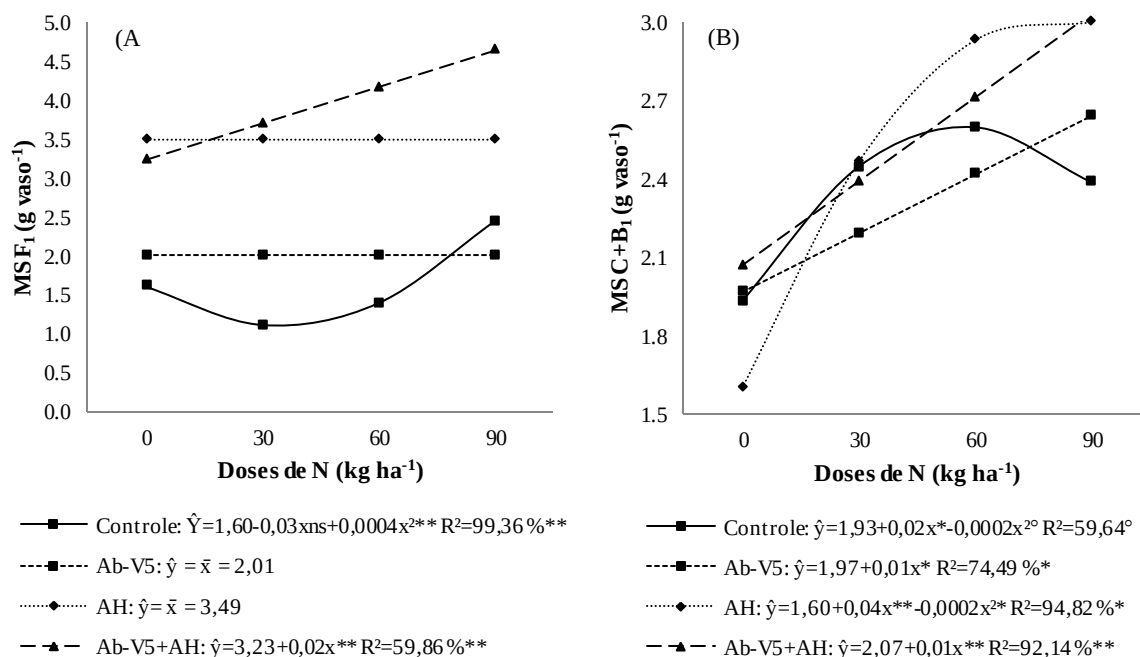


Figura 5. Matéria seca de folhas (MSF_1) – A, e matéria seca de colmo mais bainhas ($MSC+B_1$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. ^{ns} – não significativo, ^{o,*e**} - significativo a 10 %, 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Na Figura 5B verifica-se que a $MSC+B_1$ aumentou de forma linear para as plantas de trigo tratadas com Ab-V5 e com Ab-V5+AH. Os maiores valores foram obtidos com AH (3,00 g por vaso) e Ab-V5+AH (3,03 g por vaso), na dose de 90 kg ha⁻¹ de N. O grupo controle apresentou crescimento em $MSC+B_1$ até próximo à aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N, em que atingiu em média 2,60 g vaso⁻¹, e a partir desse ponto houve decréscimo no incremento.

A AF_1 foi influenciada apenas pelas diferentes doses de nitrogênio avaliadas no presente trabalho (Figura 6), sendo que os incrementos em área foliar ocorreram até a dose de 60 kg ha⁻¹ de N. Com esta dose de N obteve-se valor médio de 1,52 dm² por vaso. A partir dessa quantidade de N os valores em AF_1 começaram a declinar até 1,47 dm² vaso⁻¹, com 90 kg ha⁻¹ de N.

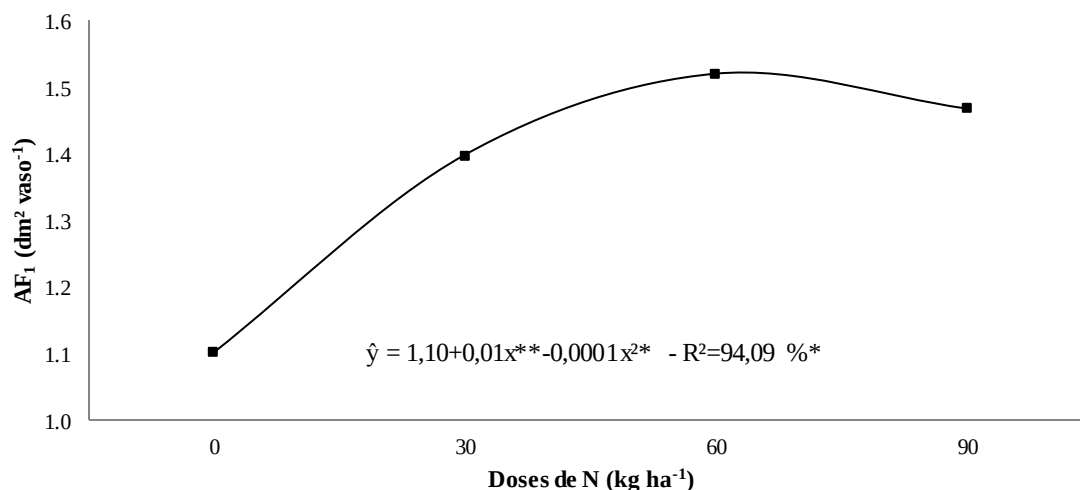


Figura 6. Área foliar (AF_1) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. *e** - significativo a 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Assim como AF_1 , os valores de $MSER_1$ aumentaram significativamente, de forma quadrática, com o aumento do fornecimento de nitrogênio (Figura 7A), sendo que o maior valor (1,89 g por vaso) foi obtido com a aplicação de $60\ kg\ ha^{-1}$ de N. Quanto à $MSPA_1$, esta aumentou linearmente conforme o aumento nas doses de N (Figura 7B), tendo como valor mais elevado, uma média de 12,95 g por vaso, com $90\ kg\ ha^{-1}$ de N.

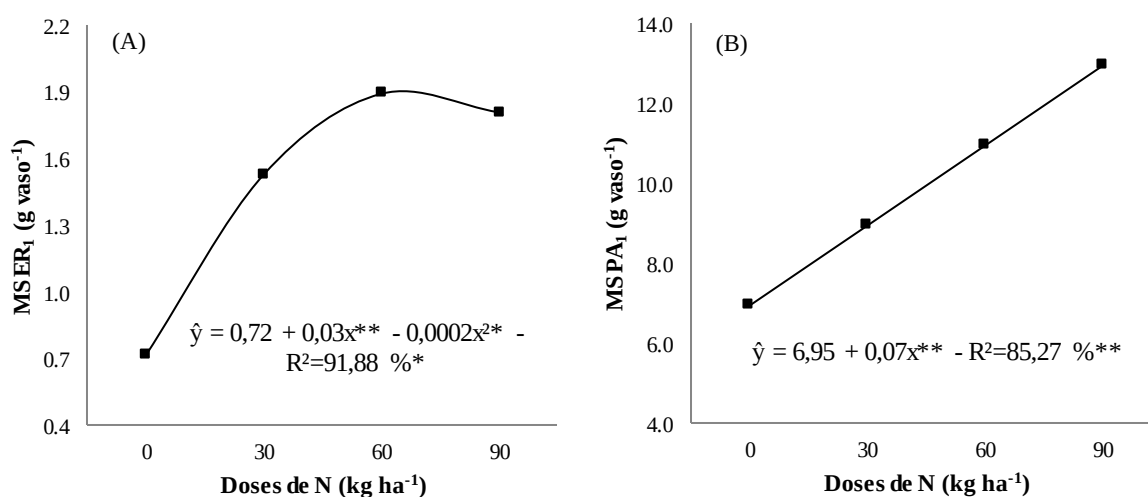


Figura 7. Matéria seca das estruturas reprodutivas ($MSER_1$) – A, e matéria seca da parte aérea ($MSPA_1$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. *e** - significativo a 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

No experimento realizado a campo, diferentemente do conduzido em casa de vegetação, as variáveis MSF_2 e $MSC+B_2$ foram influenciadas apenas pelas doses de nitrogênio aplicadas via fertilização (Figura 8). Em ambas as variáveis analisadas, os maiores valores foram obtidos com a aplicação de 60 kg ha^{-1} de N, obtendo uma média de 1906,11 e, 1711,28 kg ha^{-1} para MSF_2 e $MSC+B_2$, respectivamente (Figuras 8A e 8B).

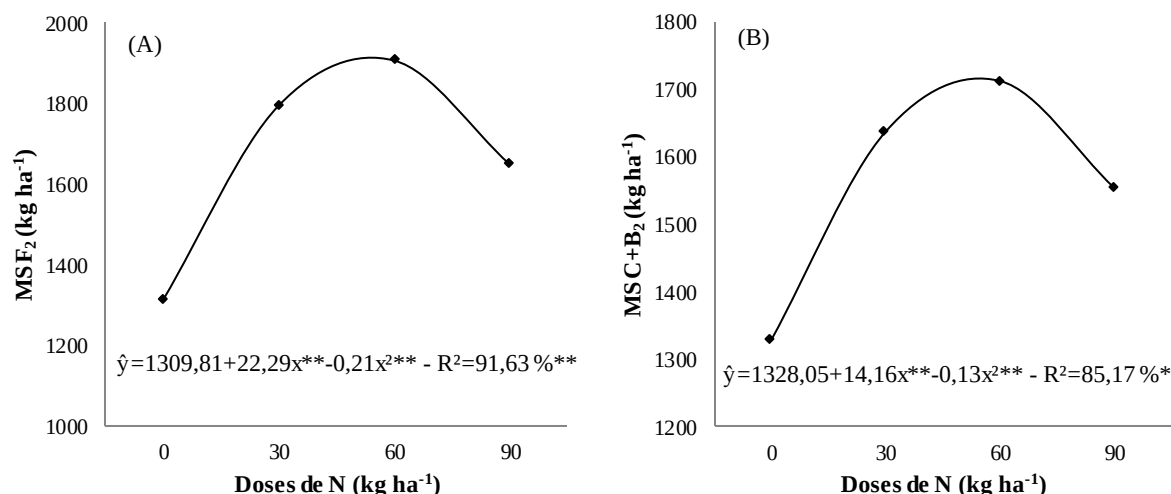


Figura 8. Matéria seca de folhas (MSF_2) – A, e matéria seca de colmo mais bainhas ($MSC+B_2$) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. *e** - significativo a 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Na Figura 9A, observa-se um incremento linear em AF_2 das plantas de trigo, em função das doses de N, produzindo em média $1,37 \text{ dm}^2$ por planta, com a aplicação de 90 kg ha^{-1} de N. Quanto à H_2 (Figura 9B) houveram incrementos até a dose de 60 kg ha^{-1} de N ($49,59 \text{ cm}$). Após esta dose houve decréscimo para esta variável.

Não houve efeito houve efeito significativo da interação entre os promotores do crescimento vegetal, com as doses de N para a variável $MSPA_2$ (Figura 10). De maneira geral, o comportamento das plantas de trigo, com relação a $MSPA_2$, ocorreu de forma quadrática, em função da dose de nitrogênio aplicada, tendo com 60 kg ha^{-1} de N, um valor médio de $MSPA_2$ de $3816,70 \text{ kg ha}^{-1}$.

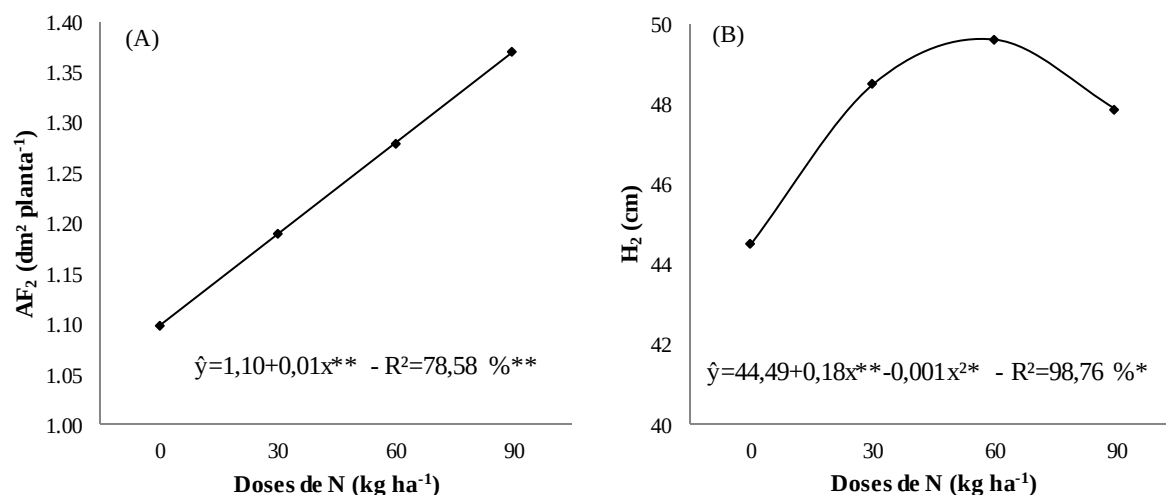


Figura 9. Área foliar (AF₂) – A, e altura (H₂) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. *** - significativo a 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

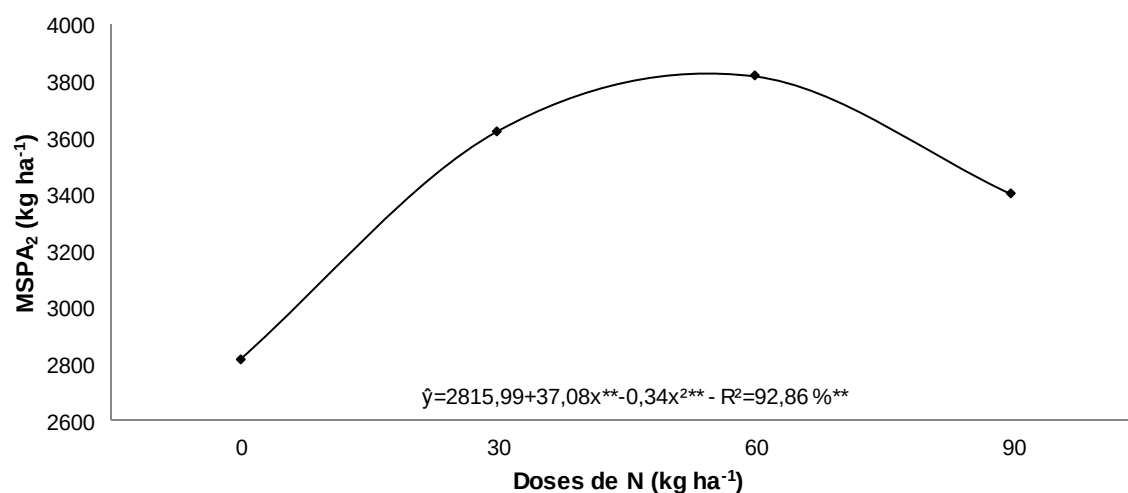


Figura 10. Matéria seca da parte aérea (MSPA₂) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. ** - significativo a 1 % de probabilidade pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

4.2 Medidas de trocas gasosas e índice SPAD

O resumo da análise de variância das medidas de trocas gasosas e do índice SPAD, avaliados no início do estágio de emborrachamento do trigo estão apresentados na Tabela 7. Não foi observado interação significativa para as medidas de trocas gasosas no experimento em casa de vegetação, sendo observado apenas no índice SPAD efeito significativo das doses de nitrogênio aplicadas. Porém, a campo, observou-se que todas as

medidas de trocas gasosas foram influenciadas significativamente pela interação entre os promotores do crescimento vegetal e as doses de nitrogênio fornecidas via fertilização, exceto para o índice SPAD que não apresentou variâncias significativas para nenhuma das fontes de variação em estudo.

O índice SPAD₁ foi acrescido linearmente conforme se aumentou a dose de nitrogênio aplicado (Figura 11), apresentando um valor médio atingido de 48,00, com a maior dose testada de N.

Tabela 7. Resumo das análises de variância para taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (gs), matéria concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (Ci), taxa de transpiração (E), diferença de pressão de vapor folha-ar (VPDL), temperatura foliar computadorizada (CTleaf), eficiência no uso da água (EUA) e índice SPAD (SPAD), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011/2012.

a campo: Maracá - Candeia - Rondônia - 11/2011/2012.										
FV	GL	Quadrados Médios							EUA	SPAD
		A	gs	Ci	E	VPDL	CTleaf	A/Ci		
Experimento em casa de vegetação (2011)										
Ab-V5/AH	3	18,69 ^{ns}	0,01 ^{ns}	151,07 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,10 ^{ns}	0,0002 ^{ns}	0,55 ^{ns}	6,89 ^{ns}
Doses N	3	6,79 ^{ns}	0,01 ^{ns}	33,08 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,0001 ^{ns}	0,18 ^{ns}	102,57**
Interação	9	61,58 ^{ns}	0,05 ^{ns}	39,74 ^{ns}	1,74 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,0007 ^{ns}	0,27 ^{ns}	24,04 ^{ns}
Resíduo	45	38,38	0,06	211,13	2,31	0,03	1,17	0,0004	0,57	14,71
CV (%)	-	21,18	28,42	4,72	22,20	16,60	4,81	21,80	17,19	8,46
Média	-	29,25	0,84	308,10	6,84	0,98	22,52	0,09	4,38	45,35
Experimento a campo (2012)										
Ab-V5/AH	3	11,69 ^{ns}	0,02 ^{ns}	967,54 ^{ns}	2,73 ^{ns}	0,29 ^{ns}	1,62 ^{ns}	0,0001 ^{ns}	0,12 ^{ns}	4,45 ^{ns}
Doses N	3	2,77 ^{ns}	0,01 ^{ns}	537,67 ^{ns}	0,90 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,0001 ^{ns}	0,12 ^{ns}	3,29 ^{ns}
Interação	9	13,90*	0,03*	1279,52*	3,00*	0,32*	1,75*	0,0001 ^o	0,13 ^o	9,84 ^{ns}
Resíduo	45	6,26	0,01	583,06	1,38	0,14	0,74	0,0001	0,07	7,21
CV (%)	-	16,74	36,40	9,55	19,75	15,76	2,64	13,35	10,29	5,57
Média	-	14,95	0,28	252,84	5,95	2,41	32,68	0,06	2,58	48,23

^{ns} - não significativo, ^o,*,e** - significativo a 10 %, 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A inoculação das plantas de trigo com Ab-V5, apresentou maiores taxas de A₂, quando não recebeu a adubação nitrogenada (Figura 12A). Nesse ponto, não há diferença entre a inoculação (16,01 μmol [CO₂] m⁻² s⁻¹) e o uso combinado de Ab-V5+AH (16,14 μmol [CO₂] m⁻² s⁻¹), sendo esse último tratamento não responsivo às crescentes doses de N.

Na Figura 12B nota-se que as plantas tratadas com Ab-V5+AH, aumentam a gs₂ significativamente, até a dose de 43,72 kg ha⁻¹ de N, com abertura de 0,43 mol [H₂O] m⁻² s⁻¹. Com o aumento para 90 kg ha⁻¹ de N, houve uma menor abertura estomática, pois a gs₂ caiu para valores médios próximos a 0,23 mol [H₂O] m⁻² s⁻¹.

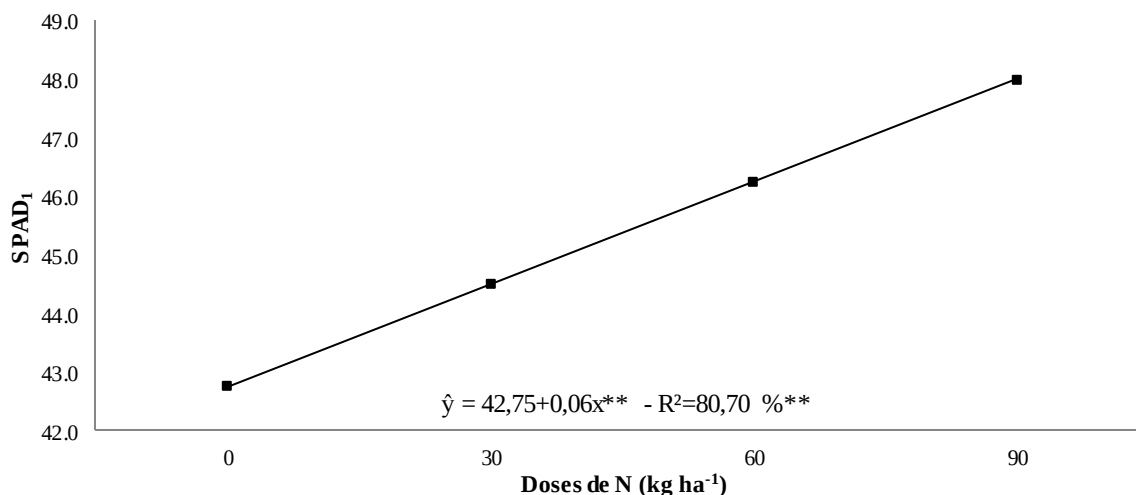


Figura 11. Índice SPAD (SPAD₁) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. ** - significativo a 1 % de probabilidade pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

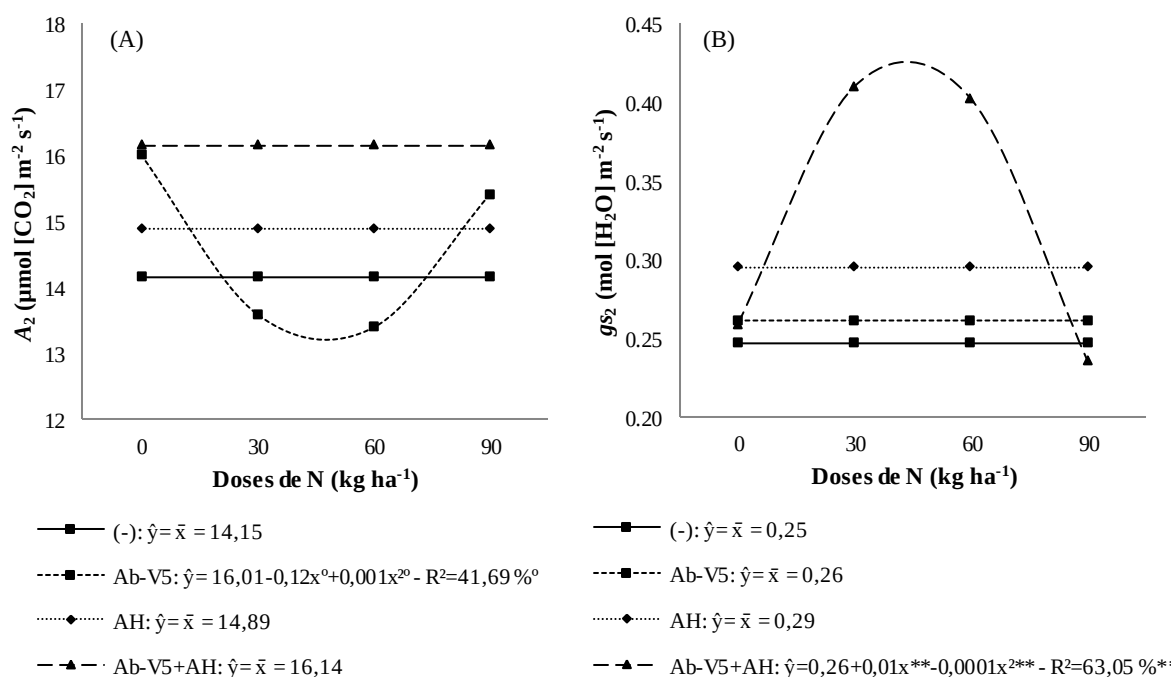


Figura 12. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A₂) – A, e condutância estomática (gs₂) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °e** - significativo a 10 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A concentração interna de CO₂ (C_{i2}) e a taxa de transpiração foliar (E₂) foram aumentadas consideravelmente nas plantas tratadas com Ab-V5+AH, e que receberam a adubação de 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio (Figura 13). Quanto ao controle, sem inoculação e aplicação de ácido húmico, verifica-se resposta quadrática em função das doses de N, sendo

que com 41,48 kg de N ha⁻¹ (228,99 $\mu\text{mol} [\text{CO}_2] \text{mol}^{-1}$ de ar) obteve-se o menor valor para Ci_2 .

Para as plantas que receberam o tratamento com Ab-V5+AH, quando estas apresentaram maior condutância estomática também foram registrados os maiores valores de Ci_2 e E_2 . Sendo que Ci_2 foi de 277,50 $\mu\text{mol} (\text{CO}_2) \text{mol}^{-1}$ de ar e, E_2 de 7,33 mmol (H₂O) mol⁻¹ de ar, nas plantas tratadas com Ab-V5+AH e que se aplicou 42,43 e 40,85 kg ha⁻¹, respectivamente.

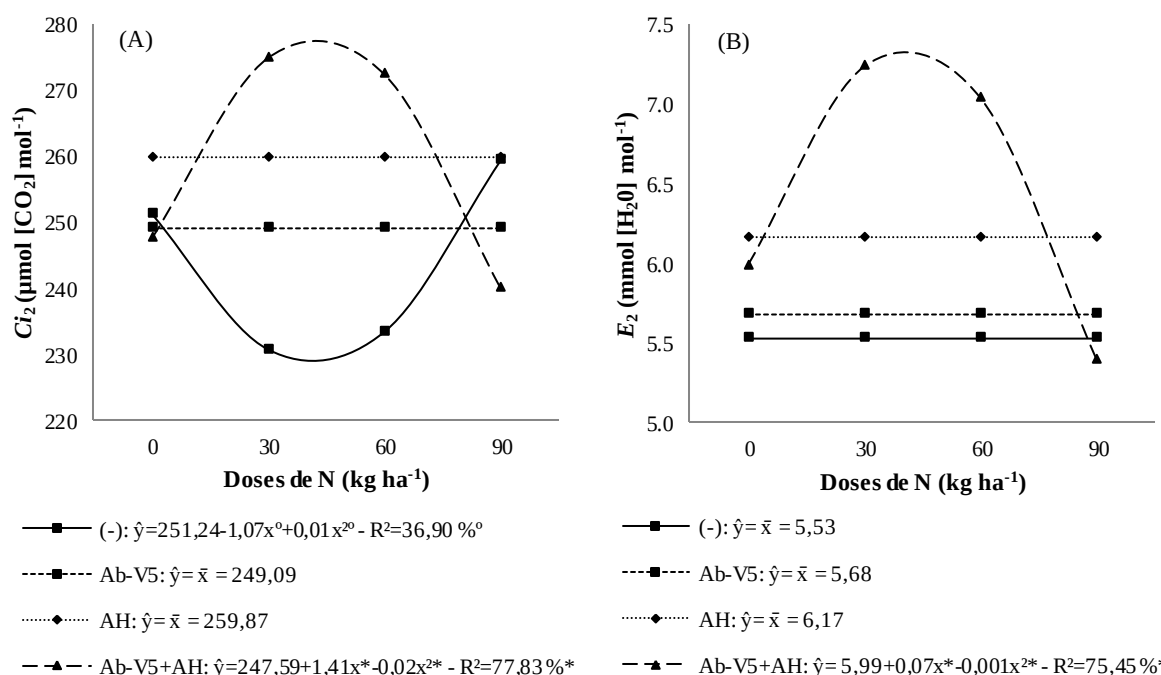


Figura 13. Concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (Ci_2) – A, e taxa de transpiração (E_2) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °e* - significativo a 10 % e 5 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

O diferencial de pressão de vapor entre a folha e o ar (VPDL_2), bem como a temperatura foliar computadorizada (CTleaf_2), a qual leva em consideração o balanço energético no momento da leitura, foram significativamente reduzidas, em relação ao grupo controle, quando se aplicou 40,78 kg ha⁻¹ de N e utilizou-se como tratamento a combinação de Ab-V5+AH (Figura 14). Os menores valores de VPDL_2 (1,95 kPa) foram obtidos com a dose de 40,63 kg ha⁻¹ de N, valores estes próximos aos obtidos para CTleaf_2 (40,78 e 41,41 kg ha⁻¹ de N para o tratamento com AH e associação de Ab-V5+AH, respectivamente) em que o tratamento com AH obteve valores mínimos próximos à 32,10 °C e, Ab-V5+AH, 31,56 °C.

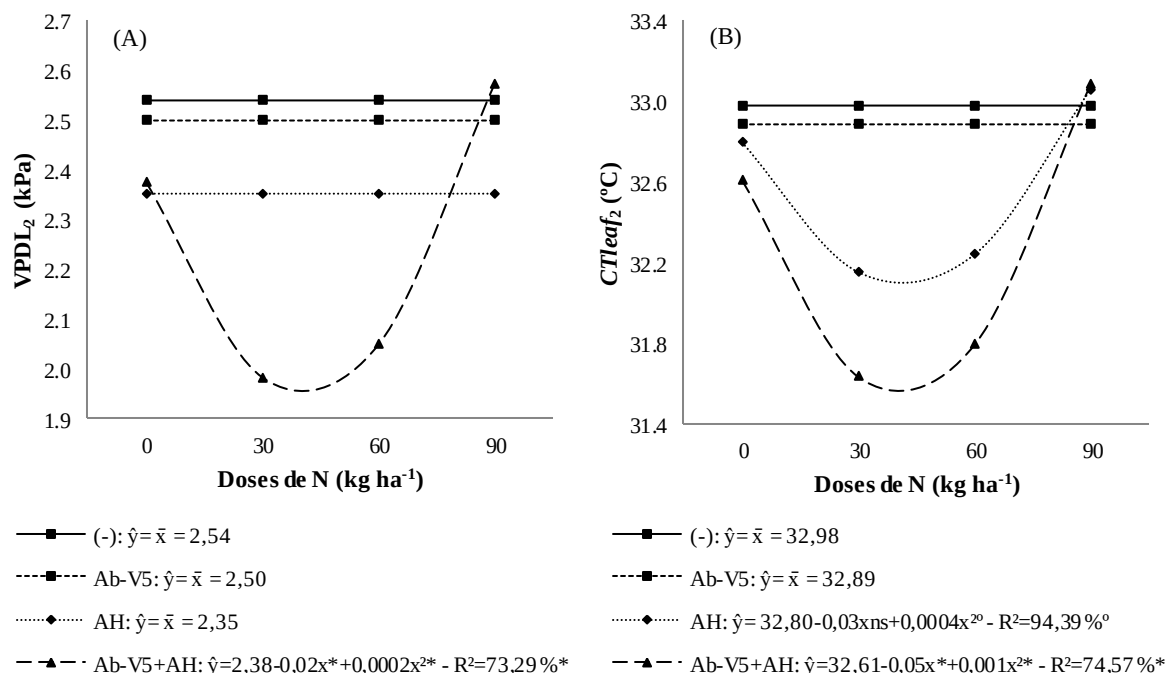


Figura 14. Diferença de pressão de vapor folha-ar (VPDL₂) – A, e temperatura foliar computadorizada (CT_{leaf2}) – B, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. ns – não significativo, °e* - significativo a 10 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A relação A/Ci foi maior no grupo controle em relação ao tratamento apenas com AH, não se diferenciando do uso combinado de Ab-V5+AH e, nos pontos 0 e 90 kg ha⁻¹ de N, quando se inoculou as sementes de trigo com Ab-V5. A maior relação A/Ci foi obtida com a aplicação de 54,60 kg ha⁻¹ de N, no grupo controle, em que se atingiu valores médios de 0,065. A menor relação A/Ci, obtida pela inoculação com Ab-V5, foi com a aplicação de 46,37 kg ha⁻¹ de N, em que a relação chegou a 0,053.

A E_{UA2} foi maior no grupo controle, em relação aos demais tratamentos, atingindo valores próximos a 2,89 μ mol de CO₂ fixado, por mmol de água transpirada, com a aplicação de 44,59 kg ha⁻¹ de N (Figura 15B). Apesar das maiores taxas fotossintéticas, o uso combinado de Ab-V5+AH, proporcionou menor E_{UA2} do que apenas a inoculação com Ab-V5. Ab-V5+AH apresentou valores mínimos de E_{UA2} da ordem de 2,41, com a aplicação de 46,54 kg ha⁻¹ de N.

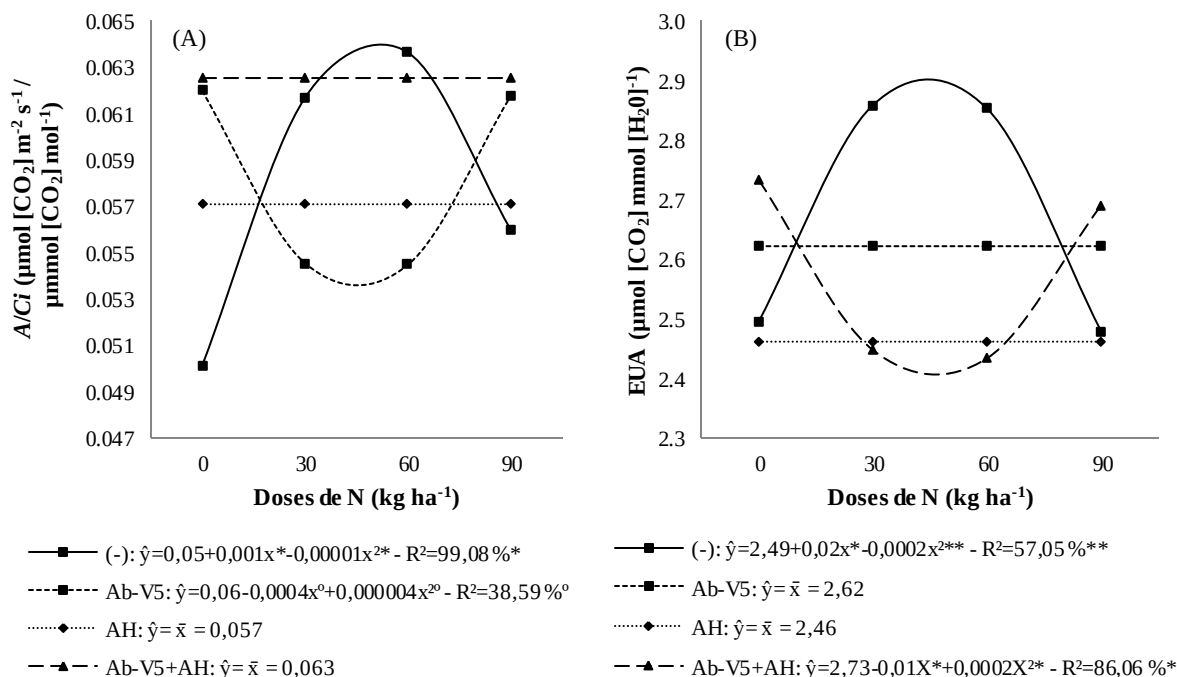


Figura 15. Relação $A/C_i - A$, e eficiência no uso da água (EUA_2) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °, *e** - significativo a 10 %, 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R^2 , pelo teste F de Fisher-Snedecor.

4.3 Determinação de macronutrientes nas folhas e nos grãos

Na Tabela 8 é apresentado um resumo da análise de variância para os teores de N, P e K, tanto nas folhas quanto nos grãos do trigo. Verifica-se que houve interação significativa entre a utilização dos promotores de crescimento vegetal e doses de nitrogênio, apenas no experimento realizado em casa de vegetação, para o teor de N nas folhas e, P e K, nos grãos.

Para o experimento conduzido a campo, foi observado efeito significativo do fator promotores do crescimento vegetal no teor de K dos grãos e, doses de N no teor de N nos grãos de trigo.

O teor de nitrogênio nas folhas de trigo, cultivado em casa de vegetação, não foi influenciado pelas doses de N, quando se utilizou Ab-V5+AH para o tratamento das plantas (Figura 16A). Porém, nos demais tratamentos, o aumento na quantidade de N aplicado, elevaram significativamente e linearmente o N_{folha_1} , sendo o grupo controle mais responsivo às doses de N aplicadas quando comparado aos demais tratamentos.

Tabela 8. Resumo das análises de variância para o teor de nitrogênio, fósforo e potássio das folhas (Nfolha, Pfolha e Kfolha, respectivamente) e dos grãos (Ngrão, Pgrão e Kgrão, respectivamente), de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011/2012.

FV	GL	Quadrados Médios					
		Nfolha	Pfolha	Kfolha	Ngrão	Pgrão	Kgrão
		Experimento em casa de vegetação (2011)					
Ab-V5/AH	3	31,88 ^{ns}	0,05 ^{ns}	15,28 ^{ns}	15,86 ^{ns}	0,54 ^{ns}	3,29 ^{ns}
Doses N	3	504,71**	0,09 ^o	45,47*	617,92**	2,09**	5,28*
Interação	9	73,80**	0,02 ^{ns}	21,82 ^o	10,81 ^{ns}	0,72 ^o	3,69*
Resíduo	45	24,40	0,03	11,14	21,71	0,38	1,50
CV (%)	-	23,20	28,47	12,93	17,33	24,30	18,85
Média	-	21,29	0,63	25,81	26,88	2,54	6,51
Experimento a campo (2012)							
Ab-V5/AH	3	53,67 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1,64 ^{ns}	6,29 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,03 ^o
Doses N	3	42,56 ^{ns}	0,12 ^{ns}	79,94 ^{ns}	20,69 ^o	0,04 ^{ns}	0,15 ^{ns}
Interação	9	38,03 ^{ns}	0,07 ^{ns}	19,14 ^{ns}	8,18 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,46 ^{ns}
Resíduo	45	39,20	0,07	40,59	7,79	0,09	0,45
CV (%)	-	18,32	33,99	23,44	10,98	29,78	6,99
Média	-	34,17	0,79	27,18	25,42	0,98	9,58

^{ns} - não significativo, ^o,*e** - significativo a 10 %, 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Os maiores valores no teor de Kfolha₁ foram obtidos com o uso de Ab-V5+AH, sendo que a quantidade de K acumulada nas folhas nesse momento foi de 29,81 g kg⁻¹ de K, pela aplicação de 43,18 kg ha⁻¹ de N (Figura 16B). Diferente dos teores de Nfolha₁ e Kfolha₁, o teor de Pfolha₁ foi influenciado apenas pela dose de N fornecida, o qual de maneira geral, quando se aplicou 90 kg ha⁻¹ de N, o teor médio de Pfolha₁ foi de 0,71 g kg⁻¹ de P na matéria seca das folhas, sendo a resposta linear crescente (Figura 16C).

Nos grãos, o teor de Kgrão₁ e de Pgrão₁ acumulado nas plantas tratadas com Ab-V5+AH foram mais elevados, em relação ao grupo controle, quando se aplicou 90 kg ha⁻¹ de N (Figura 17 A e B). As plantas tratadas apenas com AH também resultaram em grãos com maiores teores de Kgrão₁ do que as do grupo controle, acumulando uma média de 7,78 g kg⁻¹, com a aplicação de 56,52 kg ha⁻¹ de N.

Quanto ao teor de N acumulado nos grãos de trigo, cultivados em casa de vegetação (Ngrão₁), Este aumento significativamente em função do aumento da fertilização nitrogenada (Figura 17C). A utilização de 90 kg ha⁻¹ de N, resultou em teores médios de Ngrão₁ de 35,03 g kg⁻¹ de matéria seca de grãos.

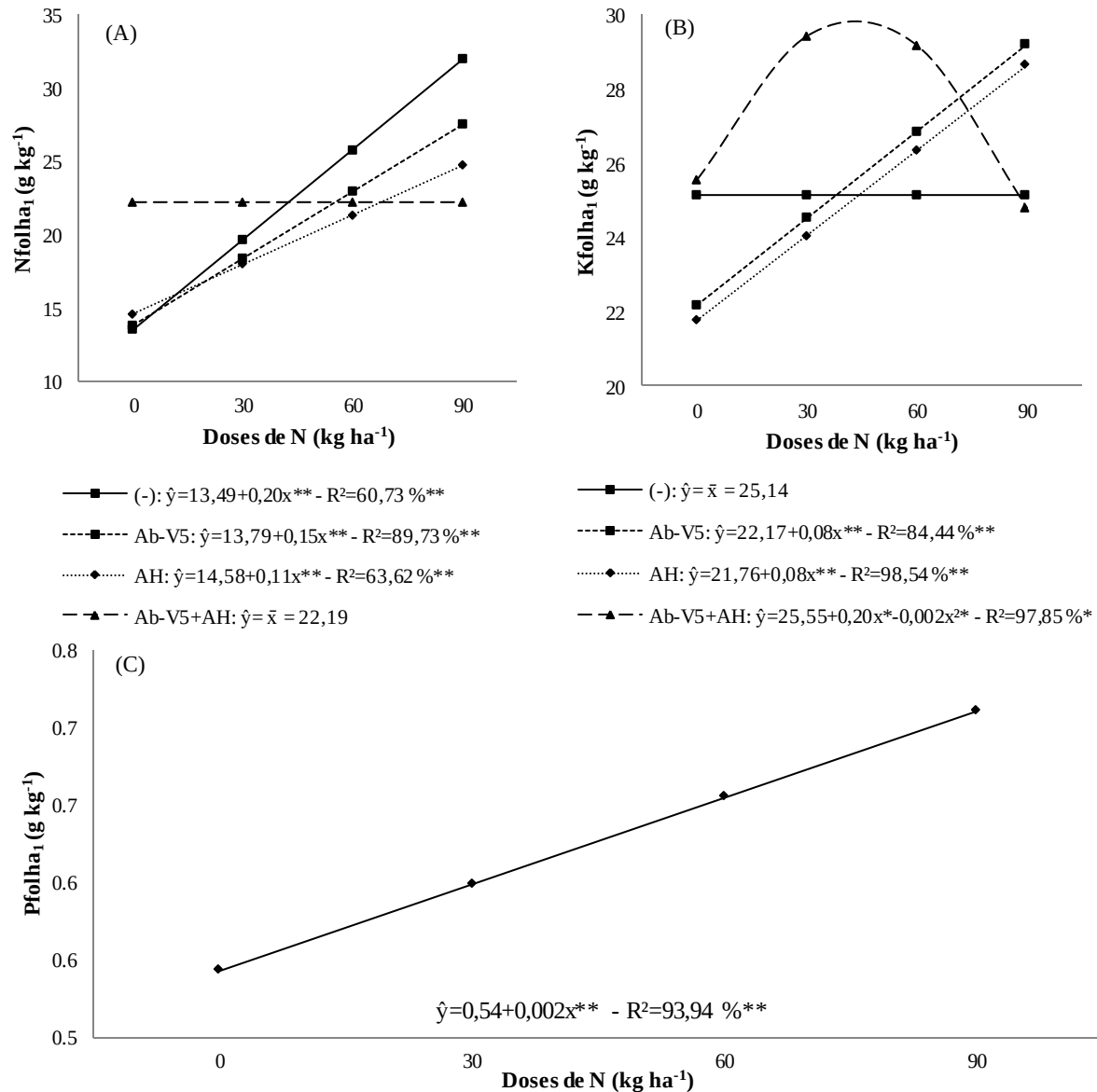


Figura 16. Teor de nitrogênio (Nf₁) - A, potássio (Kf₁) - B e, fósforo (Pf₁) - C, nas folhas de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. *** - significativo a 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

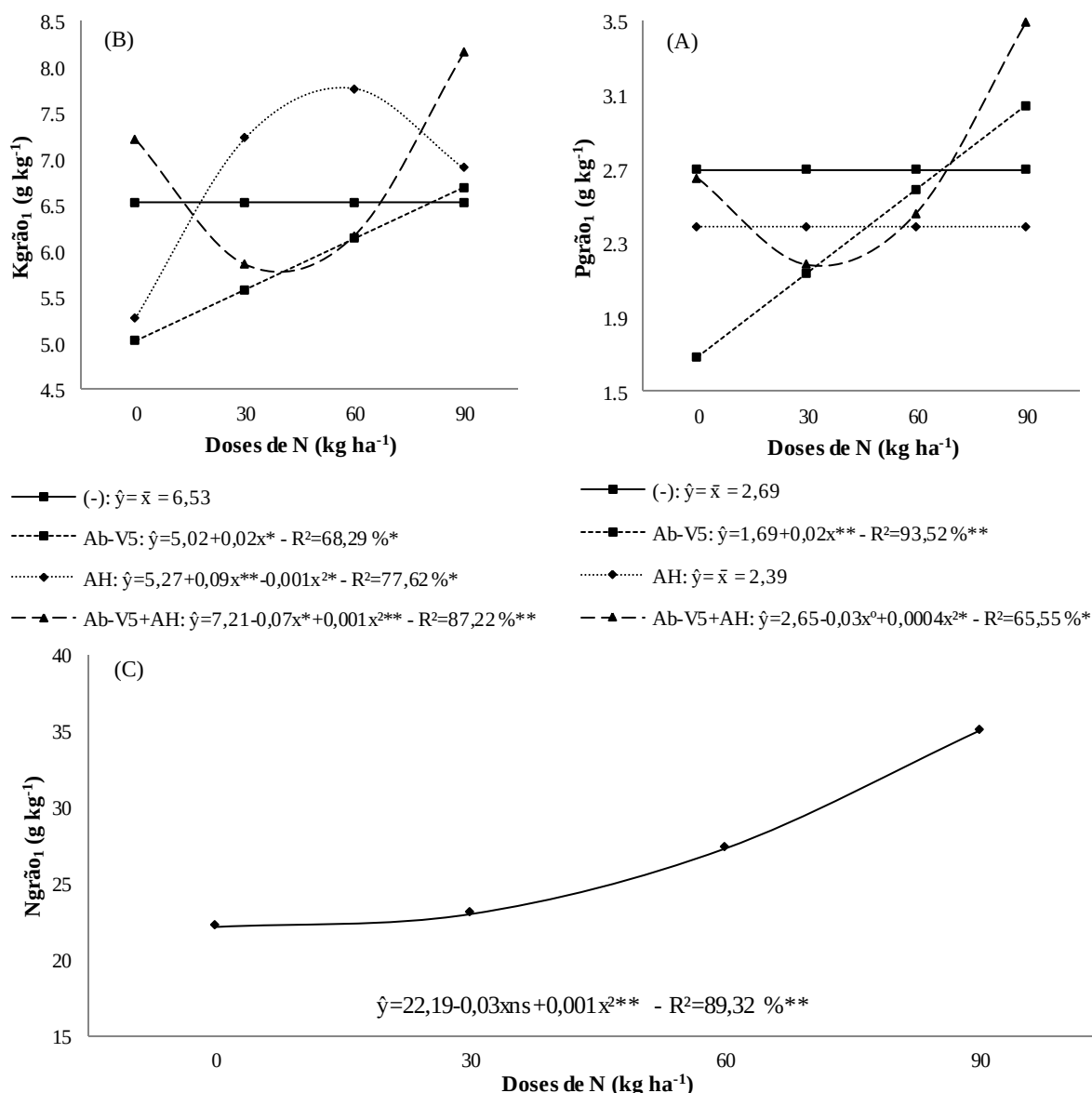


Figura 17. Teor de fósforo (Pgrão₁) - A, potássio (Kgrão₁) - B e, nitrogênio (Ngrão₁) - C, nos grãos de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. °,*e** - significativo a 10 %, 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Como observado na Tabela 8, apenas para o teor de Kgrão₂ houve incremento significativo no experimento a campo e, somente para o fator de promotores do crescimento. Sendo assim, a Tabela 9 contém o desdobramento desse fator, em contraste ortogonais. É possível verificar nessa tabela que, os tratamentos incrementam em média 0,45 g (de K) kg⁻¹ de matéria seca de grãos, em relação ao grupo controle. Não houve diferença estatística significativa, para a variável Kgrão₂, com relação ao tratamento com Ab-V5, AH ou ainda Ab-V5+AH.

Tabela 9. Incremento médio e F calculado da análise de variância dos contrastes ortogonais para o teor de potássio nos grãos (Kgrão₂) de plantas de trigo conduzidas a campo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.

Contrastes ortogonais ¹	GL	Incremento médio (F calculado)
		Kgrão ₂ g kg ⁻¹
(-) vs T	1	0,45 (5,41 [*])
Ab-V5 vs AH	1	-0,17 (0,51 ^{ns})
Ab-V5 e AH vs Ab-V5+AH ²	1	0,20 (0,98 ^{ns})
QMR	45	0,45

¹Contrastes ortogonais: (-) – Controle; T – tratados com Ab-V5 ou AH ou ambos. ²O contraste Ab-V5 e AH vs Ab-V5+AH compara se os tratamentos isolados, somente inoculação com Ab-V5 ou pulverização com AH, se diferem da associação Ab-V5+AH. ^{ns} - não significativo e, * - significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

4.4 Componentes da produção e produtividade de grãos

Na tabela 10 é apresentado o resumo da análise de variância para as variáveis dos componentes da produção e para a produtividade dos grãos de trigo. Verifica-se que houve interação significativa entre a utilização dos promotores de crescimento vegetal e doses de nitrogênio, nas variáveis, número de espigas, comprimento médio das espigas e massa de 100 grãos (no experimento em casa de vegetação) e, a campo houve interação significativa apenas para o número de espigas.

O número de espigas produzidas pelas plantas conduzidas em casa de vegetação (NE₁) aumentou linearmente, conforme se aumentou as doses de N, com exceção das plantas tratadas com Ab-V5+AH, as quais produziram em média 7,53 espigas por vaso (Figura 18 – A).

Para o comprimento médio das espigas (CE₁), tanto o controle quanto os tratamentos com Ab-V5+AH, não sofreram influência das doses de N aplicadas (Figura 18B). Nos tratamentos em que se utilizou a inoculação com Ab-V5 ou a pulverização com AH de forma isolada, ocorreu aumento linear do CE₁ com o aumento das doses de N, que apresentou efeito mais pronunciado nas plantas inoculadas com Ab-V5, devido ao maior coeficiente angular obtido (0,14).

Ainda na tabela 10 verifica-se que as doses de nitrogênio em estudo influenciaram significativamente o comprimento médio das espigas, o número de espiguetas por espiga e a produtividade de grãos do trigo conduzido a campo. E não houve respostas significativas, para nenhuma das variáveis em análise, com relação apenas do uso de promotores do crescimento vegetal.

Tabela 10. Resumo das análises de variância para o número de espigas (NE), comprimento médio de espigas (CE), número de espiguetas por espiga (NEE), número de grãos por espiga (NGE), número de grãos por espiguetas (NGEG), massa de 100 grãos (M100) e produtividade de grãos (PROD) de plantas de trigo, cultivar CD 150, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Conduzido em casa de vegetação e a campo. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011/2012.

FV	GL	Quadrados Médios						
		NE	CE	NEE	NGE	NGEG	M100	PROD
Experimento em casa de vegetação (2011)								
Ab-V5/AH	3	1,56 ^{ns}	46,41 ^{ns}	4,30 ^{ns}	37,53 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Doses N	3	45,62 ^{**}	238,82 ^{**}	4,86 ^{ns}	55,44 ^{ns}	0,31 ^{ns}	8,23 ^{**}	0,12 ^{ns}
Interação	9	4,57 ^o	63,18 [*]	4,30 ^{ns}	62,41 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,72 ^o	0,84 ^{ns}
Resíduo	45	2,56	28,85	2,58	66,86	0,18	0,38	0,53
CV (%)	-	22,61	7,18	9,85	27,13	23,00	20,34	24,76
Média	-	7,08	74,85	16,29	30,14	1,85	3,05	2,94
Experimento a campo (2012)								
Ab-V5/AH	3	6459,69 ^{ns}	27,89 ^{ns}	0,61 ^{ns}	5,07 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,14 ^{ns}	150326,77 ^{ns}
Doses N	3	14510,68 ^{ns}	58,60 [*]	4,22 ^{**}	19,69 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	1122943,65 [*]
Interação	9	88197,33 ^{**}	15,88 ^{ns}	1,11 ^{ns}	16,33 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,09 ^{ns}	412428,03 ^{ns}
Resíduo	45	26535,40	15,50	0,98	14,72	0,03	0,07	280947,73
CV (%)	-	19,86	5,44	6,66	12,03	8,10	7,91	19,48
Média	-	820,42	72,41	14,84	31,90	2,14	3,29	2721,03

^{ns} - não significativo, ^o,^{*},^{**} - significativo a 10 %, 5 % e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A massa de 100 grãos (M100₁) foi reduzida linearmente conforme se elevou a dose de N aplicada, para todos os tratamentos utilizados (Figura 18C), sendo que os valores mais estáveis foram alcançados pelo tratamento com Ab-V5 e também para o controle, com coeficiente angular de aproximadamente 0,01 para ambos. A maior M100₁ foi obtida pela inoculação com Ab-V5, sem aplicação de adubo nitrogenado.

O número de espigas das plantas de trigo conduzidas a campo (NE₂), tratadas com Ab-V5+AH, foi ajustado em uma equação quadrática, com ponto de máxima próximo a dose de 60 kg ha⁻¹ de N, tendo uma produção média de 920,28 espigas m⁻² (Figura 19). Ao contrário do grupo controle, em que sua maior produção (981,45 espigas m⁻²) de NE₂ foi obtida com 0 kg ha⁻¹ de N.

O comprimento médio das espigas, o número de espiguetas de uma espiga e a produtividade de grãos (CE₂, NEE₂ e PROD₂) do experimento conduzido a campo foram influenciados apenas pelas doses de N aplicadas (Figura 20). O CE₂ e NEE₂ aumentaram linearmente, conforme as doses de N, tendo 74,30 cm como comprimento médio máximo das espigas e média de 15,31 espiguetas por espiga, quando se utiliza a dose de 90 kg ha⁻¹ de N.

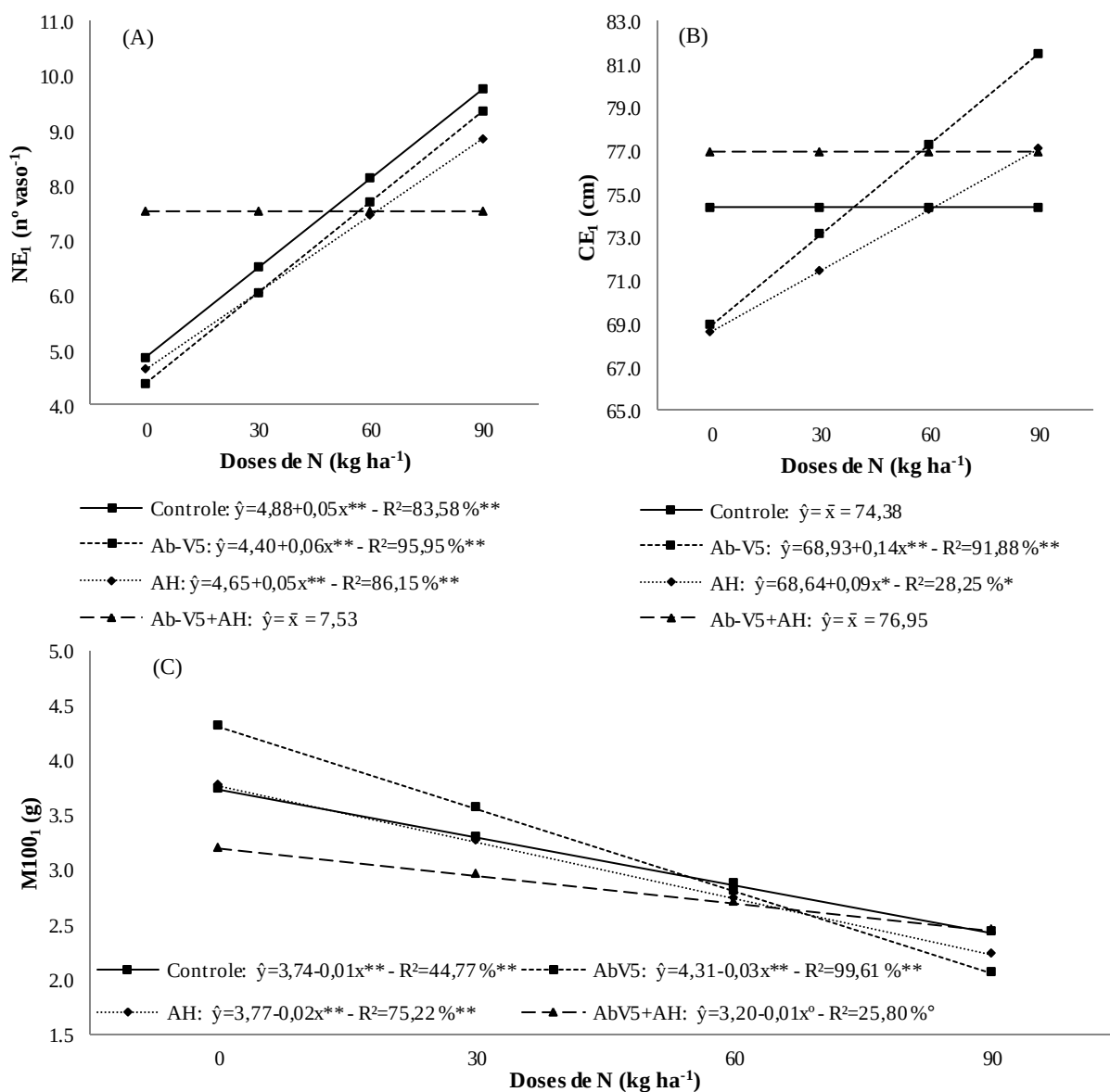


Figura 18. Número de espigas (NE₁) – A, comprimento médio das espigas (CE₁) – B e, massa de cem grãos (M100₁) – C, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas em casa de vegetação, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2011. °,*e** - significativo a 10 %, 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

A produtividade de grãos da cultura de trigo (PROD₂) foi ajustada em uma equação quadrática em função da dose de nitrogênio aplicada, de tal forma que até 54,13 kg ha⁻¹ de N, houve incremento em produtividade, chegando a uma média de 2969,69 kg ha⁻¹ de grãos, nesse ponto.

Quando se avaliou, em condições de campo a correlação entre a produtividade de grãos (PROD) e os componentes da produção (Tabela 11) verificou-se que houve correlação significativa e positiva da produtividade com a M100, NGE, NEE, CE, MSPA,

AF, MSF e MSC+B. Não foi observada correlação significativa entre a produtividade de grãos e o teor de macronutrientes (Nfolha, Pfolha e Kfolha) das plantas de trigo, bem como com a MSER.

O teor de Nfolha não se correlacionou significativamente com nenhuma das variáveis estudadas neste trabalho. O teor de Pfolha apresentou correlação positiva altamente significativa com AF e significativa para. E o teor de Kfolha teve correlação positiva e significativa com o NEE, CE, a MSPA e a AF.

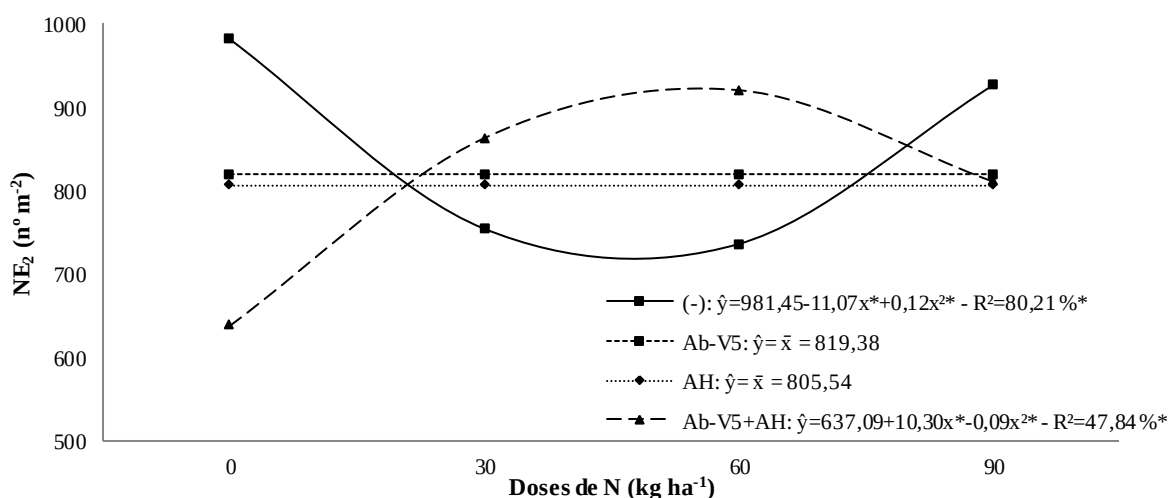


Figura 19. Número de espigas (NE₂) de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °,*,*** - significativo a 10 %, 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

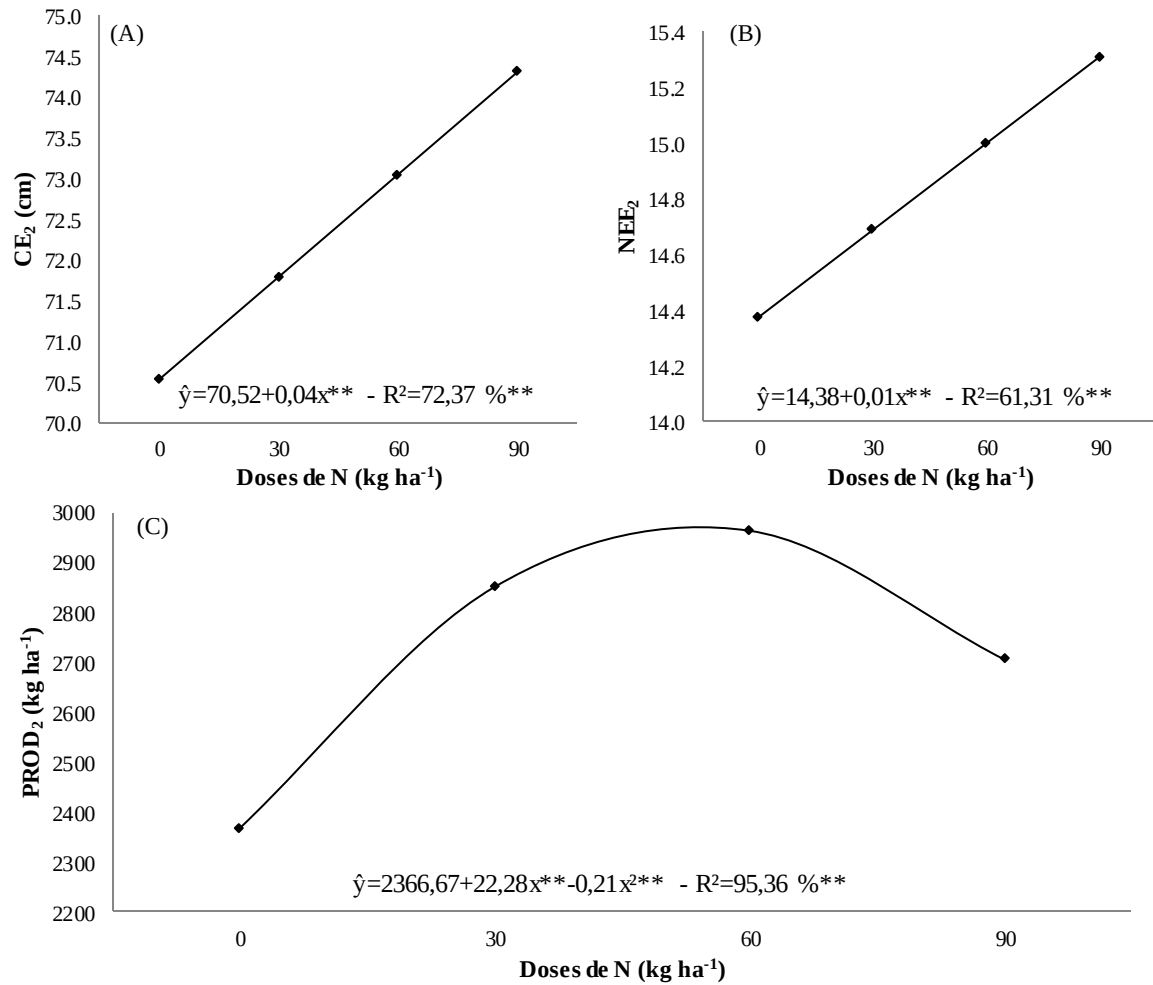


Figura 20. Número de espiguetas por espiga (NEE₂) – A, comprimento médio de espigas (CE₂) – B e, produtividade de grãos (PROD₂) – C, de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °,*,e*** - significativo a 10 %, 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

Tabela 11. Análises de correlação de Pearson de características agronômicas e nutricionais de plantas de trigo, cultivar CD 150, cultivadas a campo, submetidas ao uso combinado de ácido húmico (AH) e estirpe Ab-V5 de *Azospirillum brasilense*, em função de doses de nitrogênio. Marechal Cândido Rondon (PR), Unioeste, PPGA, 2012¹.

	PROD ₂	M100 ₂	NGE ₂	NEE ₂	CE ₂	Nfolha ₂	Pfolha ₂	Kfolha ₂	MSPA ₂	AF ₂	MSF ₂	MSC+B ₂
M100 ₂	0,47**											
NGE ₂	0,52**	ns										
NEE ₂	0,54**	ns	0,79**									
CE ₂	0,48**	ns	0,71**	0,88**								
Nfolha ₂	ns	ns	ns	ns	ns							
Pfolha ₂	ns	ns	ns	ns	ns	ns						
Kfolha ₂	ns	ns	ns	0,26*	0,27*	ns	ns					
MSPA ₂	0,46**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns				
AF ₂	0,39**	ns	ns	0,34**	0,34**	ns	0,32**	0,41**	0,50**			
MSF ₂	0,48**	ns	ns	0,27*	0,31*	ns	0,31*	0,26*	0,95**	0,62**		
MSC+B ₂	0,42**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,97**	0,41**	ns	
MSER ₂	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,40**	ns	ns	0,37**

¹Variáveis: PROD₂ – Produtividade de grãos; NGE₂ – Número de grãos por espiga; NEE₂ – Número de espiguetas por espiga; CE₂ – Comprimento médio de espigas; Nf₂ – Teor de nitrogênio foliar; Pf₂ – Teor de fósforo foliar; Kf₂ – Teor de potássio foliar; MSPA₂ – Matéria seca da parte aérea; AF₂ – Área foliar; MSF₂ – Matéria seca de folhas; MSC+B₂ – Matéria seca de colmo mais bainhas e; M100₂ – Massa de cem grãos. *e** - significativo a 5 %, e 1 % de probabilidade respectivamente, pelo teste t de Student, na análise dos β da regressão. R², pelo teste F de Fisher-Snedecor.

5 DISCUSSÃO

Sala et al. (2007) observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas resultou no dobro de produção de matéria seca da parte aérea de plantas de trigo, em relação à testemunha. Esse resultado, porém, só foi obtido nos tratamentos que receberam baixa quantidade de P. Nos experimentos conduzidos no presente trabalho, os teores de P no solo estavam em níveis elevados, que é maior que $9,0 \text{ mg dm}^{-3}$ para a cultura do trigo, conforme a EMBRAPA (2011). É possível então que esses níveis tenham contribuído para que os valores de MSF e MSC+B do trigo inoculado com Ab-V5, sem AH, não se diferirem do tratamento controle.

Katkat et al. (2009) estudaram os efeitos da aplicação de calcário e pulverização foliar de ácido húmico no trigo duro conduzido em solo alcalino ($\text{pH} = 7,24$), onde obtiveram a contribuição significativa do ácido húmico, no acúmulo em matéria seca da parte aérea, apenas quando não se aplicou o CaCO_3 . Em condições semelhantes, Aşık et al. (2009) observaram que a salinização do solo por cloreto de sódio, não teve seus efeitos minimizados pela pulverização foliar de ácido húmico na matéria seca da parte aérea do trigo duro. Ambos os resultados, sugerem que os efeitos mais significativos da pulverização foliar com ácido húmico, na produção de matéria seca das plantas de trigo, são obtidos sob condições mais favoráveis ao crescimento, quando o pH do solo encontra-se próximo a neutralidade, por exemplo.

Marques Jr. et al. (2008) observaram que o uso combinado de *Herbaspirillum seropedicae* (estirpe HRC 54) e ácido húmico, em microtoletes de cana de açúcar, favoreceu a produção de matéria seca da parte aérea, quando estes não foram tratados termicamente com água a $50,5^\circ\text{C}$. Resultados análogos aos observados no presente trabalho, em que o uso de Ab-V5 com ácido húmico, favoreceu o incremento em matéria seca da parte aérea.

Com relação à atividade fotossintética, Bashan et al. (2006) verificaram que a inoculação de sementes de trigo com *A. brasilense* Cd promoveu incrementos significativos em alguns pigmentos fotossintéticos, tais como no teor de clorofila *a* e *b*, e também na quantidade de pigmentos fotoprotetores auxiliares como violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, luteína, neoxantina e β -caroteno. Nesse trabalho, foi relatado que as maiores diferenças nos teores destes pigmentos são observadas no início do estágio de desenvolvimento do trigo, porém persiste, em menor intensidade, com a maturação da cultura.

Delfine et al. (2005) verificaram que a pulverização foliar com ácido húmico apresentou efeito fisiológico significativo no metabolismo fotossintético da cultura do trigo

duro, sua aplicação promoveu maiores taxas de fotossíntese líquida, condutância estomática, conteúdo de proteínas nas folhas e atividade da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxidase (rubisco).

Somando os efeitos positivos tanto de *Azospirillum* quanto do ácido húmico pulverizado via foliar, acreditava-se que o uso combinado desses fatores pudessem favorecer a atividade fotossintética da cultura do trigo. E isso foi evidenciado no presente trabalho, com maiores valores das taxas de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração de CO₂ nos espaços intercelulares e transpiração foliar, principalmente entre as doses de 30 e 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio.

As maiores condutâncias estomáticas observadas, proporcionadas pelo uso combinado de ácido húmico e Ab-V5, promoveram elevados valores na concentração de CO₂ nos espaços intercelulares e na taxa de transpiração foliar e, apesar das altas taxas assimilatórias líquidas verificadas também nesse ponto, era de se esperar que a relação *A/Ci* fosse baixa, nesse caso.

Taiz e Zeiger (2013) relatam que a rubisco é muito abundante nas folhas, pois representa cerca de 40 % do total das proteínas solúveis e que, a concentração de sítios ativos da RUBISCO no estroma dos cloroplastos é estimada em aproximadamente 4 mM, ou cerca de 500 vezes maior do que a concentração de seu substrato, o CO₂. Sendo assim, elevadas concentrações de CO₂ nos espaços intercelulares, principalmente de plantas C3 (por não apresentarem mecanismo de recaptura de CO₂ por cloroplastos especializados, localizados nas células do mesófilo foliar, como de plantas C4), podem servir como indicativo de mau funcionamento da rubisco. Nesse sentido, a relação *A/Ci* pode ser utilizada como método indireto de estimativa da atividade da enzima rubisco *in vivo*, pois leva em consideração a quantidade de CO₂ assimilado por unidade de CO₂ presente nos espaços intercelulares, disponíveis para assimilação (LONG e BERNACCHI, 2003). Com essa relação foi observado que ao contrário do esperado, pelas elevadas concentrações de CO₂ nas câmaras subestomáticas, obtiveram-se valores superiores em *A/Ci* no tratamento com a associação de Ab-V5 com ácido húmico, em relação aos demais tratamentos, o que serve de indicativo de uma elevada atividade da rubisco.

Tal fato sugere que essas elevadas concentrações de CO₂ ocorreram devido à máxima eficiência da enzima RUBISCO ter sido alcançada, no momento das avaliações. Pois conforme postulado por Farquhar e Sharkey (1982), o aumento em concentração de CO₂ no interior da câmara subestomática, proporciona uma elevação também na taxa de assimilação líquida de CO₂ pela planta, porém, em um determinado momento, a entrada do CO₂ na folha

não infere diretamente em aumento da taxa de assimilação, sendo então esse ponto definido como o de máxima eficiência de carboxilação.

A menor eficiência no uso da água (relação A/E) obtida tanto pela inoculação isolada de Ab-V5 e pulverização foliar de ácido húmico, quanto pelo uso combinado desses promotores do crescimento, em comparação ao grupo controle, está relacionada principalmente com as maiores aberturas estomática observadas nas plantas tratadas, que aumenta as taxas transpiratórias e, por consequência, diminui os valores da relação A/E .

A quantidade de água captada pelas plantas pode ser significativamente aumentada com o aumento do crescimento radicular. Com o objetivo de atingir esse incremento, diversos métodos podem ser utilizados, como a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BHATTARAI e HESS, 1993; DOBBELAERE et al., 1999; SALA, 2002; BASHAN et al., 2004; BASHAN e BASHAN, 2005) e a aplicação de ácido húmico (RAYLE e CLELAND, 1992; ARANCON, et al., 2006; CANELLAS et al., 2006; CUNHA et al., 2009; PINHEIRO et al., 2010). Entretanto, melhores condições de captação de água não estão diretamente relacionadas a melhor eficiência no uso da água.

Quanto aos teores dos nutrientes observou-se que a utilização dos promotores do crescimento vegetal, Ab-V5 e ácido húmico, em uso combinado ou isolado, promoveram efeitos positivos significativos principalmente nos valores de potássio, nas folhas e nos grãos, e de fósforo nos grãos de trigo, em relação ao grupo controle. Campos et al. (1999) verificaram que a inoculação de sementes de trigo com um “gramíneo” com a combinação das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, proporcionaram maior acúmulo de nitrogênio total nos grãos de trigo cultivado na resteva de soja ou de milho. Resultados diferentes dos obtidos no presente trabalho, em que não houve contribuição efetiva da inoculação no teor de nitrogênio, tanto nas folhas quanto nos grãos de trigo.

Constantino et al. (2008) estudando os efeitos de *Azospirillum* e *Azotobacter* nos conteúdos total dos macronutrientes primários (N, P e K) em pimenteiras, observaram que a imersão das raízes em solução contendo *Azospirillum*, favoreceu maior acúmulo dos nutrientes N e P e que, não houve diferença significativa quanto ao grupo controle para o acúmulo de K. Reis et al. (2006) apontam como fatores responsáveis para a grande amplitude de absorções obtidas pela inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal, a variedade do material vegetal adotado, o local de cultivo, método de estimativa da contribuição e a estirpe do promotor que está sendo utilizado, além de diversos outros fatores abióticos que possam influenciar os cultivos agrícolas.

Entre os componentes de produção em estudo, os BPCV utilizados, foram eficientes no aumento do comprimento médio das espigas e na massa de cem grãos do trigo conduzido em casa de vegetação e, no número de espigas por metro quadrado, no experimento conduzido a campo. Teixeira Filho et al. (2008), estudando o efeito de populações de plantas e doses de nitrogênio, em cultivares de trigo, observaram que não houve efeito da adubação nitrogenada no comprimento de espiga, número de espiguetas por espiga e número de grãos por planta. Esses resultados foram diferentes dos obtidos no presente estudo, em que a adubação nitrogenada influenciou diretamente a maioria das variáveis analisadas.

Sala et al (2007) trabalharam com diferentes estirpes de bactérias promotoras do crescimento vegetal e verificaram que independente da bactéria utilizada, houve maior massa de mil grãos. No experimento realizado em casa de vegetação no presente trabalho, verificou-se que todos os tratamentos foram influenciados negativamente na massa de cem grãos, conforme se elevou a dose de nitrogênio aplicado.

Rodrigues et al. (2000) verificaram que apesar de não haver influência das doses de nitrogênio na massa de mil grãos, houve efeito linear significativo das doses na produtividade de grãos de trigo. Sala et al. (2007) e Teixeira Filho et al. (2008) obtiveram resultados semelhantes e que corroboram com o presente estudo.

Baldani e Baldani (2005) apontam que as bactérias promotoras do crescimento vegetal em não leguminosas, podem não disponibilizar quantidades de nitrogênio suficientes para que a cultura atinja a máxima produtividade de grãos possível, sendo que a inoculação com esses microrganismos deve vir acompanhada de uma adubação nitrogenada, pois a atividade da nitrogenase é dependente da exsudação de esqueletos de carbono pela planta.

A inoculação com Ab-V5 proporcionou efeito não significativo na produção por planta nos trabalhos realizados por Rodrigues et al. (2000) e Cantarella (2007). Ambos os autores consideram as questões de especificidade entre a bactéria e o hospedeiro, e também a competição por espaço e alimento entre os vários microrganismos presentes no solo, como função que devem ser levadas em conta para resultados significativos. Didonet et al. (1996), Campos et al. (1999), Sala et al. (2007) e Mendes et al. (2011) obtiveram efeito positivo e significativo da inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal, na produtividade de grãos de trigo.

Em ambientes de cultivo menos favoráveis, Borrás et al. (2004) relataram que a massa de matéria seca dos grãos de trigo não mudou na mesma intensidade que as ocorridas na área foliar, como a diminuição da fotossíntese durante o enchimento dos grãos. E

Heinemann et al. (2006) observaram que a aplicação de uma baixa quantidade de nitrogênio, faz com que a produção de grãos esteja mais correlacionada com a biomassa acumulada na antese do que com a acumulada na maturação fisiológica do trigo e, que houve correlação significativa também quando se aplicou quantidades suficientes de nitrogênio, porém ela não se difere entre os estádios de desenvolvimento da cultura.

As correlações feitas entre a produtividade de grãos de trigo, do presente estudo, foram significativas com as matérias secas da parte aérea, das folhas e colmos mais bainhas e com a área foliar, das variáveis obtidas no início do estágio de emborrachamento da cultura.

6 CONCLUSÕES

- O ácido húmico, aplicado via pulverização foliar, proporciona estabilidade das características produtivas de trigo, tanto em ambiente protegido, quanto em condições de campo;
- A estirpe Ab-V5 de *A. brasilense*, inoculada via semente, é eficiente na promoção do crescimento, no desempenho fotossintético e no acúmulo de potássio nos grãos de trigo cultivado a campo;
- A inoculação *A. brasilense* (estirpe Ab-V5) em sementes de trigo, potencializa o efeito do ácido húmico;
- A aplicação de 55 kg ha⁻¹ de nitrogênio resulta maior produtividade de grãos de trigo cultivado a campo, com média de 2970 kg ha⁻¹.

REFERÊNCIAS

- ABATE, G. **Isolamento, purificação e estudos de complexação de substâncias húmicas**. São Paulo, 1998. 118 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo.
- AGUIAR, K. P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a vermicompostos**. Campos dos Goytacazes. 2012. 100 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- ALVAREZ, V. V. H.; ALVAREZ, G. A. M. Comparação de médias ou teste de hipóteses? Contrastes! **Boletim Informativo – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 1, p. 24-34, 2006.
- ARANCON, N. Q.; EDWARDS, C. A.; LEE, S.; BYRNE, R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, p. S65–S69, 2006.
- ASIK, B. B.; TURAN, M. A.; ÇELIK, H.; KATKAT, A. V. Effects of humic substances on plant growth and mineral nutrients uptake of wheat (*Triticum durum* cv. Salihli) under conditions of salinity. **Asian Journal of Crop Science**, v. 1, n. 2, p. 87-95, 2009.
- 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, n. 3, p. 549-579, 2005.
- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; CANELLAS, L. P.; BRESSAN-SMITH, R.; OLIVARES, F. L. Growth promotion of pineapple 'vitória' by humic acids and *Burkholderia* spp. during acclimatization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1593-1600, 2010.
- BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; GIRO, V. B.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; BRESSAN-SMITH, R. Desempenho do abacaxizeiro 'vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 979-990, 2009.
- BALDOTTO, L. E. B.; SILVA, L. G. Jr; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; BALDOTTO, M. A. Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 262-270, 2012.
- BASHAN, L. E. de; 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.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. de. Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growthpromoting bacteria on root growth: a critical examination. **Soil Biology Biochemistry**, v. 37, p.1795-1804, 2005.

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, p. 279-285, 2006.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L. E. de. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 521-577, 2004.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2003, 41 p.

BHATTACHARJEE, S.; LEE, L. Y.; OLTMANNS, H.; CAO, H.; VEENA; CUPERUS, J.; GELVIN, S. B. IMPa-4, an *Arabidopsis* importin alpha isoform, is preferentially involved in agrobacterium-mediated plant transformation. **Plant Cell**, v. 20, n. 10, p. 2661-2680, out., 2008.

BHATTARAI, T.; HESS, D. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. **Plant Soil**, v. 151, n. 1 p. 67-76, 1993.

BORRÁS, L.; SLAFER, G. A.; OTEGUI, M. E. Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. **Field Crops Research**, v. 86, p. 131-146, 2004.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. P. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 90, n. 1, p. 45-47, 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009, p. 308-309.

CAMPOS, B. C de; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante "Graminante" nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p.401-407, 1999.

CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Relationship between natures of soil humified fractions and their bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. p. 233-240, 2004.

CANELLAS, L. P.; MÉDICI, L. O.; AGUIAR, N. O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R. C. C.; FAÇANHA, A. R.; OLIVARES, F. L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil**, v. 366, n. 1-2, Ago, 2012.

CANELLAS, L. P.; ZANDONADI, D. B.; OLIVARES, F. L.; FAÇANHA, A. R. Efeitos Fisiológicos de substâncias húmicas – O estímulo às H⁺-ATPases. In: FERNANDES, M. S. (org.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p. 153-174.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007, p. 375-470.

CASSÁN, F. D.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. In vivo gibberellin A9 metabolism by *Azospirillum* sp. in dwarf rice mutant seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**, n. 28, p. 124-129, 2001.

CHAPIN III, F. S.; AUTUMN, K.; PUGNAIRE, F. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. **The American Naturalist**, v. 142 (suplementar), jul, 1993.

CHATT, J.; LEIGH, G. J. The inactivity and activation of nitrogen. In: HEWITT, E. J.; CUTTING, C. V. (ed.). **Recent aspects of nitrogen metabolism in plants**. New York: Academic Press, 1968, p. 3-12.

CHO, J. Y. Seasonal runoff estimation of N and P in a paddy field of central Korea. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 65, n. 1, p. 43-52, 2003.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: Grãos, safra 2011/ 2012, Sétimo levantamento, Abril 2013**. Brasília: CONAB, 2013. 28p.

CONCEIÇÃO, P. M. da; VIEIRA, H. D.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; CONCEIÇÃO, O. S. da. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1880-1883, jul., 2009.

CONSTANTINO, M.; GÓMEZ-ÁLVAREZ, R.; ÁLVAREZ-SOLÍS, J. D.; GEISSEN, V.; HUERTA, E.; BARBA, E. Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquin. **Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics**, v. 109, n. 2, p. 169-180, 2008.

COODETEC– Cooperativa Central Agropecuária de Desenvolvimento Tecnológico e Econômico Ltda. **CD 150**. Disponível em: <http://www.coodetec.com.br/php/detalhes_cultivar.php?id=63>. Acesso em: 04 de maio de 2013.

CUNHA, T. J. F.; BASSOI, L. H.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L.; PETRERE, V. G.; RIBEIRO, P. R. de A. Ácidos húmicos em solo fertirrigado no vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 1583-1592, 2009.

DELFINO, S.; TOGNETTI, R.; DESIDERIO, E.; ALVINO, A. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 25, n. 2, p.183-191, 2005.

DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A. T. 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, 2002.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A. T.; THYS, A.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, v. 212, n. 2, p. 155-164, 1999.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica do nitrogênio no Brasil. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 4, n. 8, p. 144-152, 1990.

DOMICIANO, G. P.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A.; DAMATTA, F. M. Alterações na fotossíntese de plantas infectadas por fitopatógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, n. 1, p. 305-339, 2009.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa SPI; Rio de Janeiro: Embrapa CNPS. 2006. 306p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistemas de produção 9**: informações técnicas para trigo e triticale – safra 2012. In: V Reunião da Comissão Brasileira de Trigo e Triticale, Dourados, MS, jul., 2011.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas**: Princípios e Perspectivas. NUNES, MET (trad.). 2 ed. Londrina, PR: Editora Planta, 2006, 403 p.

ESPINDULA, M. C.; CAMPANHARO, M.; ROCHA, V. S.; MONNERAT, P. H.; FAVARATO, L. F. Composição mineral de grãos de trigo submetidos a doses de sulfato de amônio e trinexapac-etil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 4, p. 513-520, out./dez. 2010.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Crop prospects and food situation**. Roma, Itália. n., 1, mar, 2013.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, p. 317-345, 1982.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES, F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. de A.; VELOSO, A. C. X.; RUMJANEK, V. M.; BRASIL, F.; SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M. A. de; CANELLAS, L. P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, set., 2002.

FEDERIZZI, L. C.; SCHEEREN, P. L.; NETO, J. F. B.; MILACH, S. C. K.; PACHECO, M. T. Melhoramento do trigo: classificação botânica. In: BORÉM, A (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, 2005, p. 660-662.

FELDMAN, M. Wheats. In: SIMONDS, N. W. (ed.). **Evolution of crop plants**. Longman Ltd., London, 1976, p. 120-128.

FERRARA, G.; BRUNETTI, G. Influence of foliar applications of humic acids on yield and fruit quality of table grape cv. Italia. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 42, n. 2, p. 79-87, 2008.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. v. 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

FIGUEIRE, S. L.; RODRIGUES, J. D. Efeito da densidade de semeadura e de reguladores vegetais sobre os caracteres morfofisiológicos da folha bandeira do trigo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 89-96, jan.-mar., 2012.

FRIAS, I.; CALDEIRA, M. T.; PEREZ, C. J. R.; NAVARRO, A. J. P.; CULIANEZ, M. F.A.; KUPPINGER, O.; STRANSKY, H.; PAGES, M.; HAGER, A.; SERRANO, R. A major isoform of the maize plasma membrane H^+ -ATPase: characterization and induction by auxin in coleoptiles. **Plant Cell**, v. 8, n. 9, p. 1533-1544, 1996.

GLICK, B. R.; PATTEN, C. L.; HOLGUIN, G.; PENROSE, D. M. **Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria**. London: Imperial College Press, 1999, 200 p.

HEINEMANN, A. B.; STONE, L. F.; DIDONET, A. D.; TRINDADE, M. da G.; SOARES, B. B.; MOREIRA, J. A. A.; CÁNOVAS, A. D. Eficiência de uso da radiação solar na produtividade do trigo decorrente da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 352-356, 2006.

HEYTLER, P. G.; REDDY, G. S.; HARDY, R. W. F. In vivo energetics of symbiotic nitrogen fixation in soybeans. In: LUDDEN, PL, BERRIS, JE (ed.). **Nitrogen Fixation and CO₂ Metabolism**, New York, USA: Elsevier, 1985, p. 283-292.

IGNACZAK, J. C.; MORI, C. de; GARAGORRY, F. L.; CHAIB FILHO, H. **Dinâmica da produção de trigo no Brasil no período de 1975 a 2003**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 40 p. html (Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Online, 36). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/bp/p_bp36.htm>.

KATKAT, A. V.; ÇELIK, H.; TURAN, M. A.; ASIK, B. B. Effects of soil and foliar applications of humic substances on dry weight and mineral nutrients uptake of wheat under calcareous soil conditions. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, n. 2, p. 1266-1273, 2009.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Económica, 1948, 478 p.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; BROEK, A. V.; VANDERELEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 298-300, 2000.

LONG, S. P.; BERNACCHI, C. J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 392, p. 2393-2401, nov., 2003.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. Brasília: EMBRAPA, 2012. p. 15.

MARCHIORO, V. S.; FRANCO, F. de A. (org.). **Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2011**. Cascavel: COODETEC. Comissão Brasileira de trigo e triticale, 2010, 170 p.

MARQUES JUNIOR, R. B.; CANELLAS, L. P.; SILVA, L. G. da; OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1121-1128, 2008.

MARX, J. The roots of plant-microbe collaborations. **Science**, v. 304, n. 5668, p. 234-236, 2004.

MENDES, M. C.; ROSÁRIO, J. G. do; FARIA, M. V.; ZOCHE, J. C.; WALTER, A. L. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 4, n. 3, p. 95-102, 2011.

MOISER, A.; GALLOWAY, J. Setting the scene – the international nitrogen initiative. **Conferência**, IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers, Frankfurt, Germany, 28-30 jun, 2005.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; DELL'AGNOLA, G.; NARDI, S. Proprietà biochimiche e fisiologiche della sostanza orgânica. In: NANNIPIERI, P (ed.). **Ciclo della sostanza organica del suolo**. Bologna: Editora Pátron, 1993, p. 67-78.

PICCOLO, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids. **European Journal of Soil Science**, v. 47, n. 3, p. 319-328, set., 1996.

PINHEIRO, G. L.; SILVA, C. A.; FURTINI NETO, A. E. Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em resposta à aplicação de concentrações de C-ácido húmico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p.1217-1229, 2010.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba,SP: International Plant Nutrition Institute, 2011, 420 p.

RAUEN, T. G.; DEBACHER, N. A.; SIERRA, M.M. de S.; SIERRA, E. J. S. Tensoatividade de ácidos húmicos de procedências distintas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 909-913, 2002.

RAYLE, D. L.; CLELAND, R. E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, v. 99, n. 4, p. 1271-1274, 1992.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M. de; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, MS (org.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p. 153-174.

RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; GOUVEIA, J. A.; SOARES, R. de C. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* and fertilized with nitrogen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1473-1481, 2000.

ROESCH, L. F.; CAMARGO, F. de O.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. S. de. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, v. 35, n.5, p.1201-1204, set-out, 2005.

ROJAS, A.; HOLGUIN, G.; GLICK, B. R.; BASHAN, Y. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N₂-fixer) and *Bacillus licheniformis* (P-solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, n. 2, p. 181-187, 2001.

SALA, V. M. R. **Atividade microbiana do solo e a interação de diazotróficos endofíticos e fungos micorrízicos arbusculares na cultura do trigo**. Piracicaba. 2002. 124p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. dos S.; DONZELI, V. P.; FREITAS, J. G.; GALLO, P. B.; SILVEIRA, A. P. D. da. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n. 3, p.345-352, 2005.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. dos S.; SILVEIRA, A. P. D. da. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1593-1600, 2007.

SILVA, D. B. da; GUERRA, A. F.; REIN, T. A.; ANJOS, J. de R. N. dos; ALVES, R. T.; RODRIGUES, G. C.; CARDOSO e SILVA, I. A. **Trigo para o abastecimento familiar**: do plantio à mesa. Brasília, DF: EMBRAPA, 1996. p. 13-14.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, MS (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006, p. 215-252.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: genesis, composition and reaction. 2 ed., New York: John Wiley & Sons, 1994, 496 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013, 918 p.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. de C. F.; FREITAS, J. G. de; ARF, O.; SÁ, M. E. de. Desempenho agrônomo de cultivares de trigo em resposta a população de plantas e a adubação nitrogenada. **Científica**, v. 36, n. 2, p. 97-106, 2008.

THULER, D. S.; FLOH, E. I. S.; HANDRO, W.; BARBOSA, H. R. Plant growth regulators and amino acids released by *Azospirillum* sp. in chemically defined media. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 174-178, 2003.

VAUGHAN, D.; MALCOLM, R. E. Influence of humic substances on growth and physiological process. In: VAUGHAN, D; MALCOLM, RE (ed.). **Soil organic matter and biological activity**, Dordrecht: Kluwer Academic, 1985, 37-75.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v. 14, n. 1, p. 415-421, 1974.