

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**LUIZ CLAUDIO OFFEMANN**

**INOCULAÇÃO VIA SEMENTE E FOLIAR DE *Azospirillum brasilense* NA  
CULTURA DO TRIGO, ASSOCIADO À FERTILIZAÇÃO NITROGENADA**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2015**

**LUIZ CLAUDIO OFFEMANN**

**INOCULAÇÃO VIA SEMENTE E FOLIAR DE *Azospirillum brasilense* NA  
CULTURA DO TRIGO, ASSOCIADO À FERTILIZAÇÃO NITROGENADA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná, como parte das exigências  
do Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia, para obtenção do título  
de *Magister Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir  
Francisco Guimarães

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2015**

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

032i	Offemann, Luis Claudio Inoculação via semente e foliar de <i>Azospirillum brasilense</i> na cultura do trigo, associado à fertilização nitrogenada / Luis Claudio Offemann. - Marechal Cândido Rondon, 2015. 51 p.
	Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães
	Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2015.
	1. Trigo. 2. Trigo - Adubos e fertilizantes. 3. Nitrogênio - Fixação. I. Guimarães, Vandeir Francisco. II. Título.
	CDD 22.ed. 633.11 CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Marcia Elisa Sbaraini-Leitzke CRB-9/539

LUIZ CLAUDIO OFFEMANN

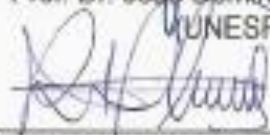
**INOCULAÇÃO VIA SEMENTE E FOLIAR DE *AZOSPIRILLUM BRASILIENSE*  
NA CULTURA DO TRIGO, ASSOCIADO À FERTILIZAÇÃO NITROGENADA**

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual do Oeste do  
Paraná, como parte das exigências  
do Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia, para obtenção do título  
de Magister Scientiae.

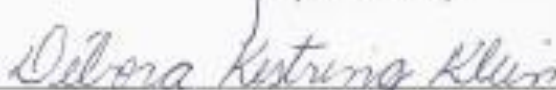
APROVADA: 24 de fevereiro de 2015



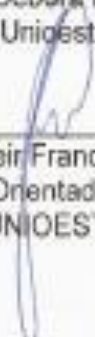
Prof. Dr. João Domingos Rodrigues  
(UNESP)



Prof. Dr. Paulo Sérgio Rabello de Oliveira  
(UNIOESTE)



Pesq.ª Dr.ª Débora Kestring Klein  
(Unioeste)



Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães  
(Orientador)  
(UNIOESTE)

A Deus criador  
Aos meus amados pais, Claudio Danilo e Santina Forlin  
A meu irmão e grande amigo João Clides Offemann e a sua esposa Adriana  
Ao meu professor orientador Vandeir Francisco Guimarães  
A minha namorada Aline Kelly Pomini de Souza e  
Aos meus amigos

***Dedico***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus em primeiro lugar, por ter me iluminado e dado forças para concluir mais esta etapa de minha vida.

Aos meus pais, que sempre estiveram comigo, me deram forças e incentivos. Verdadeiros exemplos de vida. Pessoas que jamais deixarei de amar.

Ao meu irmão e sua esposa, grandes amigos, mesmo distante que sempre me apoiaram e incentivaram na minha caminhada.

A minha namorada e colega Aline Kelly Pomini de Souza, por seu carinho e companheirismo, por seu incentivo e auxílio na realização deste trabalho.

Ao meu professor orientador e grande amigo Vandeir Francisco Guimarães, pelos conhecimentos repassados desde a graduação, ao seu apoio e compreensão. Pessoa de coração enorme, merece e sempre terá meu respeito e admiração. Minha sincera gratidão.

Ao programa de Pós-Graduação da Unioeste, pela oportunidade de realização do curso e pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores 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.

Aos meus grandes amigos Adriano Mitio Inagaki, André Gustavo Batisttus, Lucas Guilherme Bulegom, Leandro Rampim, Ricardo Felipe Braga de Sousa, Jeferson Klein, Debora Kestring Klein, Thaisa Muriel Mioranza, Thiago Luan Hachmann, Graciela Dalastra, Monica Muller e Thiago Furlan pela companhia e auxílio durante esses dias.

Agradeço a todas as demais pessoas que estiveram comigo durante estes dois anos, que direta ou indiretamente contribuíram para finalização de mais esta etapa.

Meus sinceros agradecimentos.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas”

(Carl Sagan)

## RESUMO

OFFEMANN, Luiz Claudio, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro – 2015. **Inoculação via semente e foliar de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo, associado à fertilização nitrogenada.** Orientador: Dr. Vandeir Francisco Guimarães.

Objetivou-se com este estudo avaliar o uso combinado de inoculação de *Azospirillum brasilense*, via semente e pulverização foliar, associada à adubação nitrogenada, nas características agronômicas da cultura do trigo. O experimento foi instalado em casa de vegetação no dia 24 de maio de 2014. Foram utilizados vasos com capacidade de 15 dm<sup>3</sup>, nos quais foram conduzidas 4 plantas. A colheita foi realizada no dia 12 de setembro de 2014, aos 111 dias após a emergência. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 2 x 3, com quatro repetições. O primeiro fator foi formado pela ausência ou presença de inoculação das sementes com *A. brasilense*. O segundo pela fertilização nitrogenada nas doses de 70 e 140 kg ha<sup>-1</sup> (50 e 100% respectivamente). O terceiro fator pela aplicação via pulverização foliar de *A. brasilense* nos estádios de perfilhamento, espigamento e duas aplicações, sendo a primeira no perfilhamento e a segunda no espigamento. Foram avaliados os parâmetros morfométricos ao final do estágio de espigamento, os componentes da produção ao final do ciclo. Também foram avaliadas as taxas de trocas gasosas na folha bandeira e teores dos macronutrientes N, P e K em folhas e grãos. Pode-se concluir que *A. brasilense*, aplicado via pulverização foliar, promove incrementos em comprimento médio de entrenós, comprimento médio de espigas, massa da matéria seca de folhas, espigas e raízes, volume de raízes e teor de nitrogênio nas folhas. As medidas de trocas gasosas e teor de nutrientes nas folhas foram influenciadas positivamente apenas pela maior dose de nitrogênio.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum* L., nitrogênio, inoculante, bactérias promotoras de crescimento de plantas, componentes da produção.



## ABSTRACT

OFFEMANN, Luiz Claudio, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, February – 2015. **Inoculating seed and foliar of *Azospirillum brasilense* on wheat crop, associated with the nitrogen fertilization.** Advisor: Dr. Vandeir Francisco Guimarães

The objective of this study was to evaluate the combined use of *Azospirillum brasilense* inoculation by seed and foliar application, associated to nitrogen fertilization on the agronomic characteristics of wheat. The experiment was installed in greenhouse on May 24<sup>th</sup> 2014, for this purpose, vases were used with capacity 15 dm<sup>3</sup>, in which were conducted 4 plants. The harvest proceeded on September 12<sup>th</sup> 2014, to 111 after emergence. The experimental design was a randomized block factorial 2 x 2 x 3, with four repetitions. The first factor was formed by the absence or presence of seed inoculation with *A. brasilense*. The second by nitrogen fertilization at doses of 70 and 140 Kg ha<sup>-1</sup> (50 and 100% respectively). The third factor by application by foliar spraying of *A. brasilense* in the stages of tillering, booting and two applications, the first in the tillering and the second in booting. Were evaluated the biometric parameters of the culture at the end of the silking stage, the production components at the end of crop cycle. Were also evaluated gas exchange rates in the flag leaf and contents of macronutrients N, P and K in leaves and grains. It can be concluded that the use of *A. brasilense*, applied by foliar spraying, promotes increases in average internode length, average length of ears, dry leaves mass, ears and root, root volume and nitrogen content in leaves, besides maximize the effect of nitrogen fertilization. Gas exchange measurements and leaf nutrient content, were affected positively only by the higher nitrogen dose

**Keywords:** *Triticum aestivum* L., nitrogen, inoculant, plant growth-promoting bacteria, production components.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 - Complexo da enzima nitrogenase .....</b>	<b>21</b>
--	-----------

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Média dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância pelo valor de F para número de perfilhos totais (PT), número de perfilhos viáveis (PV), comprimento médio de entrenós (CEN), comprimento médio de folha bandeira (CF), comprimento médio de espiga (CE), comprimento total (CT), diâmetro de colmo (DC), área foliar (AF), índice de clorofila (SPAD), massa da matéria seca de folhas (MF), massa da matéria seca de colmo + bainha (MC), massa de raiz (MR) e volume de raiz (VR).....33
- Tabela 2.** Índice de clorofila (SPAD) de folhas de plantas de trigo, em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014 34
- Tabela 3.** Comprimento médio de entrenós de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 35
- Tabela 4.** Comprimento médio da espiga de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 36
- Tabela 5.** Massa da matéria seca de folhas de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 37
- Tabela 6.** Massa da matéria seca de raízes de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 38
- Tabela 7.** Volume de raízes de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 39
- Tabela 8.** Médias dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância pelo valor de F para número de espiguetas por espiga (NEE), massa de grãos por espiga (MGE), número de perfilho por planta (NPP), número de espigas por planta (NEP), massa da matéria seca de espiga (ME), número de grãos por espiga (NGE), massa de 100 grãos (M100) e produção por planta (PROD)..... 40
- Tabela 9.** Massa da matéria seca de espigas de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014..... 41
- Tabela 10.** Médias dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância para taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), Concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), transpiração (E), temperatura foliar, (CTI), eficiência do uso da água (WUE), eficiência intrínseca do uso da água (iWUE), eficiência instantânea da carboxilação (fc), teor de nitrogênio na folha (Nf), teor de potássio na folha (Pf), teor de fosforo

na folha (Kf), teor de nitrogênio no grão (Ng), teor de potássio no grão (Pg) e teor de fosforo no grão (Kg).....	43
<b>Tabela 11.</b> Teor de nitrogênio nas folhas de plantas de trigo, em resposta à inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014.....	44
<b>Tabela 12.</b> Teor de nitrogênio nos grãos de plantas de trigo, em resposta à inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014.....	45

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1	IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TRIGO.....	18
2.2	BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS .....	19
<b>2.2.1</b>	<b>Fixação biológica do nitrogênio</b> .....	<b>20</b>
2.3	O GÊNERO <i>AZOSPIRILLUM</i> .....	22
2.4	NITROGÊNIO E FERTILIZAÇÃO NITROGENADA .....	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
3.1	LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL .....	25
3.2	MATERIAL VEGETAL .....	25
3.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	25
3.4	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO INOCULANTE .....	26
3.5	INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	26
3.6	AVALIAÇÕES .....	28
<b>3.6.1</b>	<b>Avaliação dos parâmetros morfométricos no final do estágio de espigamento da cultura</b> .....	<b>28</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Avaliação dos componentes de produção</b> .....	<b>30</b>
<b>3.6.3</b>	<b>Análises de trocas gasosas</b> .....	<b>29</b>
<b>3.6.4</b>	<b>Determinações de macronutrientes nas folhas e grãos</b> .....	<b>31</b>
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>46</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) representa para o país importante produto na atividade agrícola, movimentando o setor produtivo e econômico. É uma excelente alternativa na prática de rotação de culturas, na integração com pastagens e silvicultura.

O trigo é usado industrialmente, como matéria prima para diversos produtos da alimentação diária da população. Devido suas aplicabilidades na agricultura e na indústria, este cereal tornou-se o segundo mais produzido mundialmente (MAPA, 2014).

De acordo com o 1º levantamento da safra brasileira para o ano agrícola de 2014/15, realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento, foram cultivados 2.698,5 milhões de hectares, com estimativa de colher 7.673,6 milhões de toneladas, com produtividade média de 2.844 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2014).

Dentre os insumos requeridos para a cultura do trigo, Sala et al. (2005) destacam que a adubação nitrogenada representa o maior dispêndio econômico, elevando os custos da produção. De acordo com Hungria (2011), o nitrogênio (N) é um macro elemento indispensável, constituinte de aminoácidos, enzimas e proteínas que determinam o número de perfilhos por planta, entre outros, além de ser essencial nas fases de formação dos nós e alongamento do colmo.

Os custos econômicos e ambientais oriundos do uso da fertilização nitrogenada, tem gerado busca por alternativas que possam reduzir a utilização destes fertilizantes, em paralelo à manutenção dos níveis de produção (HUNGRIA, 2011). Uma alternativa sustentável de suprir a demanda do nitrogênio requerido pela cultura do trigo, é pelo uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), estando incluídas nestas, as bactérias do gênero *Azospirillum*.

Bactérias do gênero *Azospirillum* apresentam a capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>) em uma forma assimilável pela planta, através da fixação biológica do nitrogênio, além de contribuir com o aumento da colonização micorrízica (HUNGRIA, 2011).

Segundo Barassi et al. (2008), as BPCPs vivem associadas de forma associativas com as plantas, propiciando maior eficiência na fixação de nitrogênio. Além disso, pode-se destacar outros benefícios como: produção de fitohormônios, aumento da área de absorção radicular, incremento nos parâmetros fotossintéticos, melhoras na eficiência do uso da água, incremento do teor de água no tonoplasto e maior elasticidade da parede celular, resultando em incremento no tamanho das plantas e maior produção de biomassa.

A utilização de *A. brasilense* em milho e trigo, proporciona maior eficiência no uso de nutrientes, incrementando a produção (HUNGRIA, 2011). Porém sua aplicação via inoculação de sementes pode se tornar em alguns casos um fator complicador ao produtor. Hungria (2011), destaca que a inoculação deve ser feita pouco tempo antes a semeadura, as sementes não devem ficar expostas ao sol e o solo tem de estar próximo à capacidade de campo para que as sementes logo iniciem o processo de germinação possibilitando o sucesso no processo de infecção pelas bactérias. Caso não se proceda a semeadura por algum imprevisto, como por exemplo, precipitações, na maioria dos casos torna-se necessário repetir o processo de inoculação devido a mortalidade das bactérias. Este fato ainda pode ser agravado pela presença de fungicidas e inseticidas nas sementes.

Vale destacar que, dificuldades encontradas por produtores podem ser atenuadas com práticas alternativas de aplicação das BPCPs por outros mecanismos. A inoculação via pulverização no sulco no momento da semeadura ou via pulverização foliar com a cultura já estabelecida, são práticas já utilizadas comercialmente, porém com poucos resultados científicos publicados (HUNGRIA, 2011).

A utilização de *A. brasilense* aplicado via pulverização foliar vem sendo apresentado como uma prática eficiente e promissora. Esta forma de aplicação, pode também promover acréscimos na produtividade de grãos, além de proporcionar maiores rendimentos econômicos com redução da fertilização nitrogenada (PORTUGAL, 2013).

Neste contexto, considerando os resultados obtidos por diversos pesquisadores visando a otimização do uso da tecnologia das BPCPs, em culturas como o trigo e milho, o presente trabalho teve por objetivo avaliar as

respostas do uso combinado de inoculação de *A. brasilense* via sementes e pulverização foliar em estádios fenológicos distintos, associada à fertilização nitrogenada, nas características agronômicas da cultura do trigo.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TRIGO

A cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) é historicamente um dos cereais mais importantes na alimentação humana, seu desenvolvimento e avanços na produção acompanharam a evolução das civilizações. Há registros do surgimento da cultura cerca de 10 mil anos atrás, tendo como centro de origem a Ásia Central. Atualmente a cultura faz parte do seletivo grupo de *commodities* agrícolas que dominam tanto a produção quanto o comércio mundial de grãos (CUNHA et al., 2011).

O trigo chegou ao Brasil, por volta do século XVI, inicialmente introduzido pelos colonizadores europeus. Seu estabelecimento enfrentou algumas dificuldades de adaptação como: solos ácidos; moléstias fúngicas e pragas; além de problemas climáticos, limitando a estabilidade e o rendimento de grãos (BAGGIO, 1999).

De forma histórica, produzir trigo no país de maneira competitiva e sustentável tem sido um dos principais desafios da agricultura. No Brasil a cultura destaca-se na região Sul, como cereal de inverno, devido as condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento (VIOLA, 2013).

De acordo com o 1º levantamento divulgado pela CONAB (2015), a produção brasileira de trigo, safra 2014, foi de 5,9 milhões de toneladas, representando incremento de 6,8%, quando comparada à safra 2013. Decorrente do aumento de área cultivada de 23,6%, passando de 2.209,8 para 2.730,4 mil hectares e redução de 13,6% na produtividade, reduzindo de 2.502 para 2.162 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2015). Mundialmente a área de trigo cultivada no ano de 2014 foi de 222.228 mil hectares, com produção de 723.384 mil toneladas (USDA, 2015).

Para a manutenção de elevados índices de produtividade, a cultura do trigo requer uso combinado de tecnologias e condições climáticas favoráveis, preferindo clima mesotérmico a temperado, comportando-se de forma satisfatória em clima subtropical, quando em elevadas altitudes. Em fase de florescimento, a cultura do trigo é bastante sensível a elevações de

temperatura, que pode acarretar em distúrbios fisiológicos, reduzindo o rendimento de grãos (DEMIREVSKA-KEPOVA et al., 2005).

Por apresentar elevada demanda mundial e tendendo a se intensificar com o crescimento acelerado da população, a cultura do trigo carece do uso de novas práticas agrícolas, de mecanismos químicos e biológicos para que sua oferta acompanhe o crescimento da demanda.

Uma pratica atualmente utilizada para redução dos custos de produção e manutenção ou incremento da produtividade, é a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), que atuam de forma sustentável, contribuindo para melhor nutrição das plantas e conseqüentemente aumento na produtividade (GLICK, 2014).

## 2.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

As bactérias promotoras de crescimento de plantas, ou BPCPs, são conhecidas na literatura como *plant growth-promoting bacteria*, fazendo parte deste grupo, as bactérias que beneficiam os vegetais, por meio de algum mecanismo, como a fixação biológica do nitrogênio (PEDRINHO, 2009), solubilização de fosfatos (BALDOTO et al., 2010), produção de fitohormônios (SILVEIRA, 2008), produção de sideróforos (GALVÃO et al., 2010), atividade da ACC-deaminase (GLICK, 2014), e ainda podem atuar no controle de algumas doenças ( SANTOS; VARAVALLO, 2011).

Estas bactérias podem ser de vida livre, epifíticas, endofíticas ou endofíticas facultativas. Podem colonizar diversos órgãos das plantas, promovendo benefícios como aumento da taxa de germinação, no crescimento e desenvolvimento de órgãos vegetativos, na produção de estruturas reprodutivas e rendimento das culturas em campo ou em casa de vegetação (DEY et al., 2004).

Algumas das bactérias promotoras de crescimento beneficiam as plantas com a fixação do nitrogênio, e também as beneficiam contribuindo com a assimilação de outros nutrientes, como o fósforo e o ferro. No caso do fósforo, essas bactérias realizam o processo de solubilização de fosfato, que por meio de mecanismos diversos, extraem ou solubilizam fósforo (P) de frações insolúveis no solo e de fosfatos inorgânicos naturais pouco solúveis.

Podendo resultar da produção de CO<sub>2</sub> e de ácidos orgânicos, oriundos da mineralização de Carbono-orgânico e da produção de enzimas e de compostos quelantes e complexantes pela microbiota, solubilizando diretamente os fosfatos inorgânicos e o CO<sub>2</sub> transformando-os em H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (ácido carbônico), que solubiliza fosfatos de cálcio e magnésio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

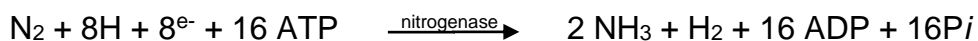
A produção de fitohormônios é um mecanismo de interação bactéria-planta, que pode ser influenciado por vários fatores, como o genótipo da planta e do próprio microrganismo (SILVEIRA, 2008). Esses fitohormônios por sua vez são reguladores naturais de crescimento, influenciando os processos fisiológicos em baixas concentrações (PEDRINHO, 2009).

A utilização de *Azospirillum brasilense*, como ferramenta de promoção do crescimento de plantas, tem sido amplamente estudada e relatada com efeito positivo na produtividade de diferentes gramíneas (RODRIGUES et al., 2014). Porém não apenas o efeito da fixação biológica de nitrogênio por esta espécie tem chamado a atenção, e sim por estímulos na produção vegetal através da produção de fitohormônios (BOTTINI, et al., 1989), produção de auxina sendo a principal o ácido 3-indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988), além de citocininas e produção de inibidores de etileno (GLICK, 2012).

### **2.2.1 Fixação biológica do nitrogênio**

O processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) é restrito a um grupo de microrganismos, que realizam a fixação por intermédio da enzima nitrogenase, que atua rompendo a ligação altamente estável que há entre as moléculas de nitrogênio atmosférico (LOPES, 2007).

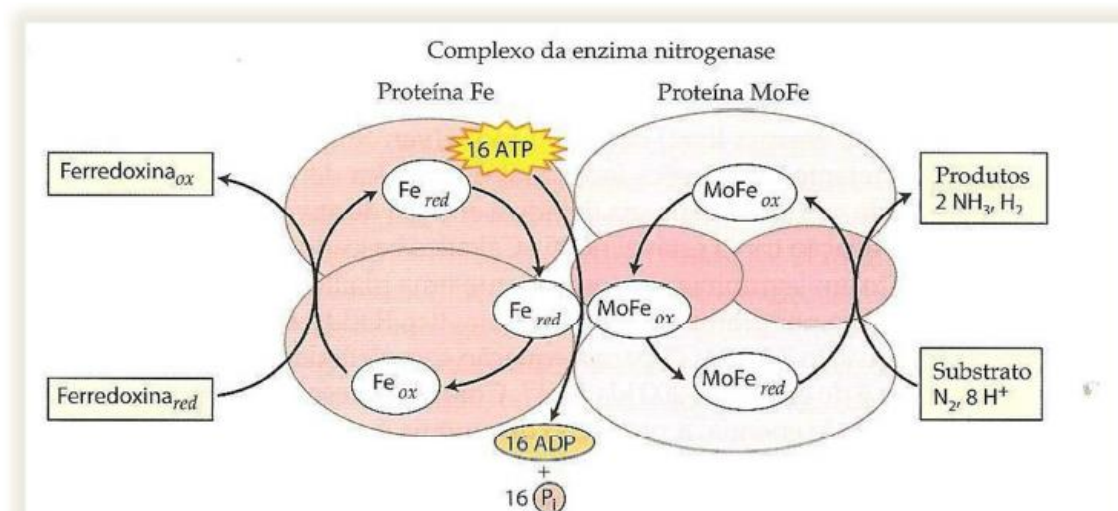
O processo de fixação biológica do nitrogênio é realizado por uma pequena parcela de microrganismos, que possuem em sua constituição a enzima nitrogenase, esta enzima é responsável pelo processo de redução do N<sub>2</sub> para a forma inorgânica combinada amônia (NH<sub>3</sub>). Este elemento, tornar-se disponível para plantas e outros organismos, desta forma os organismos responsáveis por este processo são denominados fixadores de N<sub>2</sub> ou diazotróficos, sendo que o processo que medeiam pode ser representado pela seguinte equação nas condições normais de temperatura e pressão:



A enzima, ou o complexo enzimático nitrogenase, é composta de duas unidades: a dinitrogenase redutase (também denominada de componente II ou Fe-proteína) e a dinitrogenase (ou componente I ou MoFe-proteína). Essas unidades interagem cooperativamente durante o processo de FBN.

A dinitrogenase redutase, ou Ferro proteína, é responsável pela transferência de elétrons para que ocorra a redução do  $\text{N}_2$ , e, em virtude de sua atividade redox, geralmente é mais sensível ao oxigênio que a dinitrogenase propriamente dita, ou MoFe proteína.

A dinitrogenase, é a enzima que apresenta o sítio ativo da reação, no qual são encontradas condições adequadas para a redução do  $\text{N}_2$  (Figura 1) (REIS; TEIXEIRA, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2013). O nitrogênio atmosférico é incorporado diretamente pelas plantas após ser transformado em amônia (VITTI; HEIRINCHS, 2007).



**Figura 1** - Complexo da enzima nitrogenase

Fonte: TAIZ e ZEIGER, 2013.

Os microrganismos que realizam a fixação biológica do nitrogênio pertencem a um grupo que possui grande diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética (MOREIRA et al., 2010). Conforme Reis e Teixeira (2005), a incorporação de nitrogênio, via FBN, nos diferentes ecossistemas, faz parte dos ciclos biogeoquímicos naturais. Sobre a cultura do trigo, há relatos de que a FBN pode fornecer 12 a 79% da exigência do N e, na do arroz cerca de 20 a 58% (REIS et al. 2006).

### 2.3 O GÊNERO *Azospirillum*

Dentre a ampla gama de microrganismos promotores de crescimento estudados, que são encontrados associados a gramíneas, as espécies do gênero *Azospirillum* compõem um dos grupos mais investigados atualmente, com um grande número de trabalhos sobre sua ecologia (CARDOSO et al., 2010), fisiologia (MOREIRA et al., 2013), e genética (BASHAN et al., 2004).

Por ser um dos gêneros mais estudado e caracterizado, há evidências que *Azospirillum* pode atuar como promotor de crescimento através da produção de fitohormônios, aumento na absorção de nutrientes, produção de vitaminas e de sideróforos, biocontrole de patógenos e organismos deletérios, além de promover o aumento da resistência a estresses e redução de nitrato por fixação biológica de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Descoberto nos anos 70 pela pesquisadora Johanna Dobbereiner, ganhou destaque mundialmente pela sua capacidade de fixar nitrogênio quando associada a gramíneas. Esta descoberta fez com que sua denominação, descrita como *Spirillum*, passasse a receber o prefixo azo, que denominava o elemento nitrogênio, sendo posteriormente denominado de *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978).

Seis espécies são descritas para o gênero *Azospirillum* como BPCPs: *A. brasiliense*; *A. amazonense*; *A. lipoferum*; *A. halopraeferens*; *A. irekense*; *A. largomorbilis*. Sendo duas as mais estudadas: *A. brasiliense* e *A. lipoferum*. Estes organismos apesar de serem encontrados em quase todos os ambientes terrestres, ocorrem preferencialmente nas regiões tropicais em associações com gramíneas forrageiras como: milho, trigo, arroz e sorgo (MOREIRA et al., 2013).

Conforme Cardoso et al. (2010), estudos baseados na ocorrência de bactérias do gênero *Azospirillum* são de relevância por seu caráter ecológico, pois podem fornecer informações úteis sobre o impacto do manejo de um determinado ecossistema, sobre a comunidade bacteriana, e se esta é influenciada pelo solo e condições ambientais.

## 2.4 NITROGÊNIO E FERTILIZAÇÃO NITROGENADA

O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas devido a sua participação na formação de aminoácidos, enzimas, coenzimas, proteínas, vitaminas e pigmentos, estimula o crescimento do sistema radicular das plantas, além de participar de processos bioquímicos, tais como, absorção iônica, fotossíntese e respiração (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Este elemento está distribuído em todo o planeta, sendo que 93,8% está na crosta terrestre e 6,2% se encontra na ecosfera. Destes 6,2% presentes na ecosfera, 99,96% está na forma de  $N_2$  na atmosfera, restando apenas 0,04% de formas combinadas orgânicas e inorgânicas existentes nos ecossistemas aquáticos e terrestres (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A adição de nitrogênio ao solo pode ser realizada através de fertilização com compostos nitrogenados obtidos industrialmente (minerais) ou orgânicos, por descargas elétricas que combinam o  $N_2 + O_2$  presentes na atmosfera e que são trazidos ao solo através das precipitações e/ou por fixação biológica (MALAVOLTA, 2006). Estando exposto a demasiados processos e transformações de formas orgânicas para inorgânicas, podendo resultar em ganhos ou perdas para o sistema como um todo (HAVLIN et al., 2005; CANTARELLA et al., 2008)

O suprimento de nitrogênio para as plantas, provenientes da matéria orgânica do solo ou de fornecimento através de fertilização nitrogenada, melhora a qualidade dos produtos agrícolas, porém seu excesso pode ser prejudicial, visto que ocasiona desequilíbrio nutricional, acarretando em susceptibilidade à doença, acamamento das plantas e à alteração no teor de proteínas no grão (MALAVOLTA, 2006).

A disponibilidade adequada de nitrogênio para a cultura do trigo é de suma importância, visto que este elemento determina vários componentes da produção, tais como, rendimento de grãos, número de espigas por área, número de grãos por espiga, teor de proteínas no grãos e massa de grãos (ZAGONEL et al., 2002).

Neste sentido o fornecimento de nitrogênio para a cultura do trigo gera alterações no índice de área foliar, número de gemas vegetativas e número de perfilhos por planta (MALAVOLTA, 2006).

O comportamento dos componentes de produção das plantas de trigo é afetado de forma individual, fazendo com que frequentemente fenômenos compensatórios atuem incrementando algumas variáveis e reduzindo outras, de forma que seja possível obter a mesma produtividade (ZAGONEL et al., 2002).

Trabalhos investigando o comportamento de cultivares de trigo e fertilização nitrogenada, ao longo do tempo, confirmam a importância da fertilização nitrogenada, onde mesmo em baixas doses, geram benefícios para a cultura.

Testando fontes, doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do trigo, Teixeira Filho et al. (2010), verificaram que as doses de nitrogênio, influenciam positivamente no teor de N foliar e de clorofila, aumentam o número de espigas por área, além de incrementar a produtividade da cultura, para doses de até 120 kg ha<sup>-1</sup>.

Pietro-Souza, (2013), ao estudar o comportamento inicial de plantas de trigo em diferentes doses de nitrogênio, observou incremento no uso de 195,6 mg dm<sup>3</sup> de N, resultados similares aos que foram encontrados por Carvalho et al. (2013) e Repke et al., (2013). Porém elevadas doses de nitrogênio na cultura do trigo favoreceram o acamamento, resultando em redução da massa de 1000 grãos, peso do hectolitro e produtividade (PRANDO et al., 2013; TEIXEIRA FILHO et al., 2010).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Estação de Horticultura e Cultivo Protegido Professor Mário César Lopes, vinculada ao Núcleo de Estações Experimentais (NEE) da Universidade Estadual do Oeste Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon. O município está localizado na região Oeste do Estado do Paraná sob as coordenadas geográficas 54° 22' W longitude, latitude 24° 46' S e altitude média de 420 metros. O Clima local é classificado segundo Koppen do tipo Cfa, subtropical com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes entre 28 e 29°C e a temperatura anual entre 22 e 23°C.

Orientada no sentido norte-sul, a casa de vegetação utilizada está coberta com filme duplo de polietileno de baixa densidade (PEBD), aditivados contra raios UV (ultravioletas). O experimento foi conduzido em uma bancada central com altura de aproximadamente 1,0 m.

#### 3.2 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal adotado para este trabalho, foi a cultivar de trigo CD 150, obtido pela COODETEC – Cooperativa Central Agropecuária de Desenvolvimento Tecnológico e Econômico Ltda. Cultivar lançada no ano de 2009, proveniente do cruzamento genético dos materiais CD 104 e CD 108. Este material é recomendado tanto para os sistemas de cultivo irrigado quanto sequeiro. A cultivar é moderadamente resistente ao acamamento, os grãos apresentam qualidade industrial como trigo melhorador e exigente quanto à fertilidade do solo. O ciclo médio para a região de Marechal Cândido Rondon-PR é de 110 dias (COODETEC, 2014).

#### 3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema de fatorial triplo 2 x 2 x 3, totalizando 12 tratamentos e quatro



repetições. O experimento foi conduzido em duplicata, resultando no dobro de unidades experimentais para permitir uma avaliação no final do estágio de espigamento da cultura e outra ao final do estágio de maturação. O primeiro fator foi representado pela ausência e presença de inoculação das sementes com *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6. O segundo foi formado pelos níveis de nitrogênio, 70 Kg ha<sup>-1</sup> de N e 140 Kg ha<sup>-1</sup> de N (50% e 100% da dose recomendada respectivamente). Por fim, o terceiro fator se referiu à pulverização foliar de *A. brasilense*, sendo, no final do estágio de perfilhamento; início do estágio de espigamento; e o terceiro nível com duas aplicações, sendo a primeira no final do perfilhamento e a segunda no início do espigamento.

### 3.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO INOCULANTE

Tanto para a inoculação das sementes como para a pulverização foliar foi utilizado o produto comercial MASTERFIX<sup>®</sup> gramíneas da empresa STOLLER do Brasil, contendo as estirpes de *A. brasilense*, Ab-V5 e Ab-V6, na concentração de 6x10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia por mL.

### 3.5 INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi instalado no dia 24 de maio de 2014 e a colheita foi realizada no dia 12 de setembro de 2014, tendo um ciclo de 111 dias. Como unidades experimentais foram utilizados vasos de polietileno, com capacidade para 15,0 dm<sup>3</sup>, com as seguintes dimensões: diâmetro superior de 28 cm, diâmetro inferior 24 cm e altura 17cm. Estes foram preenchidos com aproximadamente 13,5 dm<sup>3</sup> de terra peneirada em malha de 5,0 mm, proveniente do horizonte A de um solo classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico de textura muito argilosa (EMBRAPA, 2006).

Para a caracterização química do substrato utilizado, foram coletadas amostras e encaminhadas para o laboratório de química agrícola e experimental da Unioeste, Campus Marechal Cândido Rondon-PR, obtendo os seguintes resultados: pH (CaCl<sub>2</sub>): 4,67; P disponível (Mehlich-1): 5,56 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich-1): 0,13 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> (KCl mol L<sup>-1</sup>): 3,82 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> (KCl

mol L<sup>-1</sup>): 1,03 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e Al<sup>+3</sup> (KCl mol L<sup>-1</sup>): 0,20 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al (acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup>): 3,44 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 4,98 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V%: 59,14, M.O.: 17,77 g dm<sup>-3</sup>.

O solo previamente peneirado foi homogeneizado em betoneira, juntamente com o calcário dolomítico, superfosfato simples e cloreto de potássio, seguindo as recomendações de adubação e calagem propostas por Marchioro e Franco (2010), assim como a adubação nitrogenada. Utilizou-se calcário dolomítico, PRNT 87%, para elevar a saturação de bases para 70%, além de 3,53 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 2,41 g de K<sub>2</sub>O.

A fertilização nitrogenada foi realizada em dois momentos, sendo 50% de N aplicado na base e o restante aos 15 dias após a emergência (DAE) das plântulas que estavam no estágio de perfilhamento, a lanço, respeitando-se os limites propostos de N para cada tratamento em questão (70 e 140 kg ha<sup>-1</sup>), utilizou-se uréia para o fornecimento desse nutriente.

Previamente à sementeira, para os tratamentos que receberam inoculação das sementes, esta foi realizada utilizando o inoculante com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*. Utilizou-se a proporção de 1,0 mL de inoculante para cada 1000 sementes, sendo uniformizado o contato do inoculante através da agitação das sementes em saco plástico inflado. Em seguida estas foram à sombra por uma hora para posteriormente realizar a sementeira. Para o controle não foi realizada a inoculação das sementes.

A sementeira foi realizada, com a deposição de 10 sementes por vaso (a fim de garantir o estande final de 4 plantas), na profundidade de sementeira de 2,5 cm. Em seguida os vasos foram cobertos com material vegetal proveniente de Tifton desidratado e picado (feno), para minimizar as perdas de água durante o desenvolvimento da cultura.

Após a emergência e estabelecimento das plantas, essas foram acompanhadas constantemente para observação de pragas e/ou doenças. 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).

A irrigação dos vasos foi realizada sempre que necessário, buscando manter a capacidade de campo do substrato. O desbaste foi realizado 10 dias após a sementeira (DAS), deixando-se quatro plantas por vasos.

Alcançados os estádios fenológicos pré-estabelecidos, realizou-se as aplicações via pulverização foliar de *A. brasilense*, utilizando-se 100 mL ha<sup>-1</sup> do produto comercial em uma calda de 50 L ha<sup>-1</sup>. Para tanto, utilizou-se um pulverizador pressurizado por CO<sub>2</sub>, com vazão de 50 L ha<sup>-1</sup> e bico tipo leque sob pressão de 30 psi.

## 3.6 AVALIAÇÕES

### 3.6.1 Avaliação dos parâmetros morfométricos no final do estágio de espigamento da cultura

A primeira avaliação, ocorreu no final do estágio de espigamento, utilizando-se 48 unidades experimentais, com coleta de 10 perfilhos por parcela para avaliação das variáveis biométricas, teor de clorofila na folha (SPAD), trocas gasosas e macronutrientes.

Foram determinados em avaliação do estágio vegetativo o número de perfilhos e número de perfilhos viáveis; comprimento total da planta, medido desde a base da planta rente ao solo ao ápice da última folha; comprimento de entre nós, realizado do último nó a intersecção da espiga; comprimento de folha bandeira, medindo-a da base ao ápice e comprimento de espiga, sendo estes resultados expressos em cm.

Foram também determinados, diâmetro do colmo, com uso de paquímetro digital graduado em mm, medido na base da planta; índice de clorofila, expresso em índice SPAD, sendo o índice SPAD determinado por método indireto pelo teor de clorofila. Foram obtidas em três pontos aleatórios da parcela útil, mensuradas sempre na posição central da folha bandeira. Para essa variável foi utilizado o clorofilômetro SPAD 502 plus *Daminolta*.

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 (AF amostra). De posse dos dados de matéria seca da amostra (MS amostra) e da massa da matéria seca de folhas (MSF), obteve-se a AF total com a utilização da seguinte fórmula:

$$AF_{total} = [(AF_{amostra} \times MSF) / MS_{amostra}]$$

Por fim as plantas foram separadas em folha, colmo + bainha e raízes, armazenadas em sacos de papel kraft devidamente identificadas e levadas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a  $65^{\circ}\text{C} \pm 3$  por 72 h, sendo posteriormente determinadas suas respectivas massas de matéria seca.

Para determinações de massa da matéria seca de raízes e volume de raízes, estas foram coletadas da unidade experimental e lavadas em água corrente. Após a lavagem e retirada do excesso de água com papel toalha, procedeu-se a mensuração do volume pelo método de deslocamento de líquidos em proveta graduada de 250 mL na qual foram adicionados 100 mL de solução contendo aproximadamente 90% de água e 10% de álcool, este último, utilizado para quebra da tensão superficial da água, eliminando ocorrência de formação de bolhas de ar que interfeririam na leitura correta do volume, sendo adicionado as raízes até que estas fossem totalmente submersas e realizada a leitura. Em seguida as raízes foram acondicionadas em sacos de papel kraft e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a  $65^{\circ}\text{C} \pm 3$  por 72 h até atingir massa constante, para determinação de sua massa de matéria seca.

Realizou-se ainda a determinação das concentrações dos macronutrientes nitrogênio, fósforo e potássio de tecido foliar, através da avaliação das folhas bandeiras.

### **3.6.2 Análises de trocas gasosas**

Anteriormente a coleta do material vegetal para as análises dos parâmetros morfométricos no final do estágio de espigamento, foram realizadas as medidas de trocas gasosas das plantas de trigo, 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> nos espaços intercelulares (*C<sub>i</sub>*) –  $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$ ;
- 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 (*CT<sub>leaf</sub>*) - °C.
- Eficiência instantânea da carboxilação (*fc*) –  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ .

A eficiência no uso da água (*WUE*) foi calculada pela relação entre a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> nas folhas e a taxa de transpiração (*A/E*). Também foi calculada a relação entre taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> nas folhas.

### 3.6.3 Avaliação dos componentes da produção

A avaliação dos componentes de produção na maturação, foi realizada no final do ciclo da cultura, avaliando-se o número de espiguetas por espiga; número de perfilhos por planta; número de espigas por planta; número de grãos por espiga. Também foram determinadas, massa da matéria seca de espigas e massa da matéria seca de grãos por espiga, além de massa de 100 grãos e produção de grãos por planta. Para determinações de matéria seca, os materiais foram então acondicionados em sacos de papel Kraft, etiquetados e levados à estufa de circulação forçada de ar, mantida sob temperatura de  $65 \pm 3^\circ\text{C}$ , por um período de 72 h.

Para a determinação de massa de grãos, massa de 100 grãos e produção de grãos por planta, as amostras colhidas foram submetidas a estufa de circulação forçada de ar, mantida sob temperatura de  $103 \pm 3^\circ\text{C}$ , por um período de 24 horas, de acordo com método proposto por Brasil (2009), sendo a massa final corrigida para 13% de umidade.

As pesagens foram realizadas em balança digital, modelo FA 2104 N, da Celtac, com precisão de 0,0001g.

#### **3.6.4 Determinações de macronutrientes nas folhas e grãos**

Após a determinação da massa da matéria seca de folhas, na avaliação realizada ao final do estágio de espigamento da cultura e da massa da matéria seca dos grãos, estes materiais 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 de arraste de gases Kjeldahl, o P em espectrômetro por colorimetria e o K por fotometria de chama. Os nutrientes foram expressos em  $\text{g kg}^{-1}$  de matéria seca de folhas e grãos.

#### **3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F de Fisher-Snedecor e aplicado o teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) quando pertinente. O programa utilizado para análise estatística foi o software livre Sisvar, (FERREIRA, 2011).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância para características agronômicas do trigo, avaliadas no final do estágio de espigamento, em função dos fatores estudados (inoculação via sementes x dose de nitrogênio x inoculação via pulverização foliar em estágio fenológico), bem como a comparação de medias entre os fatores isolados, quando, não houve interação significativa, é apresentado na tabela 1.

Houve interação tripla significativa para comprimento médio de entrenós, comprimento médio de espigas, massa da matéria seca de folhas, massa da matéria seca de espigas, massa da matéria seca de raiz e volume de raiz. Interação dupla significativa, entre os fatores inoculação de sementes x dose de nitrogênio, foi verificada para índice de clorofila foliar e comprimento de entrenós. Quanto às outras variáveis, verificou-se diferença significativa pelo teste de F a 5% de probabilidade de erro para número de perfilhos totais em relação a inoculação de *A. brasilense* via sementes e doses de N. Quanto as variáveis número de perfilhos viáveis, comprimento total e massa de matéria seca de colmo + bainha, houve diferença significativa apenas em resposta à fertilização nitrogenada (Tabela 1).

As respostas das variáveis número de perfilhos totais, número de perfilhos viáveis, comprimento total e massa da matéria seca de colmo + bainha, à fertilização nitrogenada (Tabela 1) pode ser explicada pelo fato destas variáveis serem diretamente determinadas pela disponibilidade de nitrogênio nos estádios iniciais do desenvolvimento da cultura (MALAVOLTA, 2006).

**Tabela 1.** Média dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância pelo valor de F para número de perfilhos totais (PT), número de perfilhos viáveis (PV), comprimento médio de entrenós (CEN), comprimento médio de folha bandeira (CF), comprimento médio de espiga (CE), comprimento total (CT), diâmetro de colmo (DC), área foliar (AF), índice de clorofila (SPAD), massa da matéria seca de folhas (MF), massa da matéria seca de colmo + bainha (MC), massa de raiz (MR) e volume de raiz (VR).

Fonte de Variação	PT	PV	CEN	CF	CE	CT	DC	AF	IC	MF	MC	MR	VR
			----- cm -----				mm	cm <sup>2</sup>		SPAD	----- g -----		mL
<b>Inoculação de sementes</b>													
Com Inoculação	22,92 b	15,04	11,11	17,15	8,21	54,17	3,31	401,24	37,91	0,27	12,42	3,30	46,46
Sem Inoculação	26,71 a	15,12	10,82	17,26	8,30	55,12	3,41	422,31	38,34	0,28	12,80	3,41	53,33
<b>Dose de nitrogênio</b>													
70 kg ha <sup>-1</sup>	21,62 b	13,64 b	12,18	16,78	7,98	57,14 a	3,38	401,31	35,29	0,26	11,34 b	3,36	50,42
140 kg ha <sup>-1</sup>	28,00 a	16,54 a	9,76	17,63	8,53	52,14 b	3,34	422,24	40,96	0,29	13,89 a	3,35	49,38
<b>E. F. A. F. A.</b>													
Perfilhamento	25,31	15,12	10,69	17,18	8,28	54,46	3,37	409,36	36,97 b	0,28	12,12	3,28	48,44
Espigamento	25,62	15,19	10,99	17,20	8,28	54,75	3,33	402,38	38,17 ab	0,27	13,16	3,48	53,12
Perf. + Espi.	23,50	14,94	11,22	17,23	8,20	54,73	3,38	423,58	39,24 a	0,27	12,56	3,30	48,12
F Ino	6,43 *	0,02	0,46	0,05	0,64	0,52	2,74	1,31	0,37	1,52	0,71	0,64	4,34 *
F Nit	18,18 *	30,08 *	33,3 *	3,26	25,00 *	14,34 *	0,65	1,29	64,56 *	8,15 *	31,87 *	0,00	0,10
F Aérea	0,78	0,08	0,54	0,00	0,21	0,02	0,34	0,46	3,47 *	0,09	1,76	0,91	0,96
F Ino x Nit	2,89	0,00	6,62 *	0,08	2,13	0,10	0,40	0,48	15,51 *	0,10	0,99	0,37	0,67
F Ino x Aérea	0,02	0,04	1,11	0,24	1,09	0,64	1,53	2,00	0,99	1,70	0,69	0,15	0,44
F Nit x Aérea	0,57	2,47	0,02	0,69	0,38	0,68	0,39	1,78	0,62	1,08	0,84	0,35	0,10
F Ino x Nit x Aérea	0,56	1,23	5,56 *	2,18	8,46 *	1,16	2,15	0,10	1,41	2,64 *	0,92	3,48 *	5,04 *
<b>C.V. (%)</b>	20,87	12,21	13,27	9,44	4,64	8,37	5,97	15,5	6,41	14,95	12,41	13,59	22,92

\* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. E. F. A. F. A. = Estádio fenológico de aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*; Perf. = Perfilhamento; Espi. = Espigamento; F = Fator analisado; Ino = Tratamento de inoculação de sementes; Nit = doses de nitrogênio; Aérea = aplicação via foliar de *Azospirillum brasilense* em diferentes estádios fenológicos; C.V. = coeficiente de variação.



Em relação aos valores de índice de clorofila (SPAD) apresentados na tabela 2, a aplicação da fertilização nitrogenada na maior dose para a cultura do trigo, resultou em folhas com maiores valores de índice SPAD.

O tratamento das sementes com *A. brasilense* em associação com a dose de 50% da fertilização nitrogenada recomendada, resultou em maior índice de clorofila, diferentemente de quando as sementes de trigo não receberam inoculação, na qual, a maior dose de nitrogênio aumentou valores deste índice.

**Tabela 2.** Índice de clorofila (SPAD) de folhas de plantas de trigo, em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Dose de Nitrogênio	Índice de clorofila (SPAD)		
	Sementes não inoculadas	Sementes inoculadas	Média
50% de N (70 kg ha <sup>-1</sup> )	34,12 bB	36,47 bA	35,30
100% de N (140 kg ha <sup>-1</sup> )	42,57 aA	39,36 aB	40,97
Média	38,35	37,92	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre dose de nitrogênio, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Tratando-se de índice SPAD ou teor de clorofila, são observados incrementos quando feita a utilização de inoculação das sementes com *A. brasilense*. Considerando os resultados neste trabalho, Barassi et al. (2008), os quais observaram que o teor de clorofila, parâmetro fotossintético das folhas, foi melhorado com o uso da inoculação das sementes com *A. brasilense*.

Neste sentido, Bashan et al. (2006) relatam diversos incrementos em pigmentos fotossintéticos, que resultariam em plantas mais verdes e possivelmente mais tolerantes a estresses abióticos.

Quando se considera o comprimento médio de entrenós (Tabela 3), observa-se que a aplicação de *A. brasilense* via pulverização foliar não foi responsiva, independente da fertilização nitrogenada e inoculação das sementes. Para a fertilização com 50% da dose recomendada de N, a aplicação via pulverização foliar do inoculante no espigamento resultou em plantas com maior comprimento médio de entrenós quando as sementes não foram inoculadas.

A fertilização com 100% de N (equivalente a 140 kg ha<sup>-1</sup>), na ausência de inoculação das sementes resultou em plantas com entrenós mais curtos, quando comparado aos tratamentos em que as plantas receberam 50% de N. Quando inoculadas as sementes e feita a aplicação de *A. brasilense* via pulverização foliar nos estádios de perfilhamento e espigamento, obteve-se maior comprimento médio de entrenós na dose de 50% da fertilização nitrogenada.

**Tabela 3.** Comprimento médio de entrenós de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Comprimento médio de entrenós (cm)				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	12,50 aAβ	11,30 aAα	8,73 aAβ	10,24 aAα	10,69
Espigamento	13,50 aAα	10,80 aBα	8,88 aAβ	10,77 aAα	10,99
Perfilhamento + espigamento	11,73 aAα	13,25 aAα	9,60 aAβ	10,31 aAβ	11,22
Média	12,58	11,78	9,07	10,44	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

A redução do comprimento médio de entrenós das plantas de trigo, pode ser considerada positiva para a cultura, como exposto por Cavassim & Borém (1998); esta redução de comprimento, permite maior resistência ao acamamento.

Considerando-se o comprimento médio de entrenós das plantas, Corassa et al. (2013), estudaram as interações entre adubação nitrogenada na base e em cobertura, associadas à inoculação das sementes com *A. brasilense*, verificando acréscimo significativo nos tratamentos que receberam as maiores doses de nitrogênio, associadas a inoculação das sementes. Corroborando com estes resultados, Zagonel et al. (2002), demonstraram que a altura da planta foi influenciada pelas doses de nitrogênio.

Quanto ao comprimento médio da espiga (Tabela 4), a aplicação via foliar de *A. brasilense* no estágio de espigamento e perfilhamento + espigamento da cultura do trigo, associada a 100% de N, com a ausência de inoculação das sementes, foi favorável ao incremento da variável quando

comparadas a aplicação via foliar no perfilhamento. Dentro do tratamento com 100% de N, a aplicação via foliar de *A. brasilense* no espigamento da cultura, associada a ausência de inoculação das sementes, resultou em ganho, quando comparada com o tratamento que recebeu inoculação das sementes.

Comparando o comprimento médio da espiga nas doses de nitrogênio que receberam ou não inoculação das sementes, dentro de cada momento da aplicação foliar, pode-se afirmar que quando não inoculadas as sementes, juntamente com a aplicação foliar no espigamento, foi superior ao tratamento que recebeu 100% da fertilização nitrogenada.

O tratamento via foliar no momento do espigamento, apresentou maiores comprimentos médios de espigas quando as sementes foram inoculadas, para a dose de 100% de nitrogênio. Os tratamentos que receberam inoculação das sementes, a aplicação via foliar de *A. brasilense* no perfilhamento e no perfilhamento + espigamento, obtiveram valores de comprimento médio de espigas, maiores quando utilizou-se a dose de 100% de nitrogênio.

**Tabela 4.** Comprimento médio da espiga de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Comprimento médio da espiga (cm)				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	8,10 aA $\alpha$	8,03 aA $\beta$	8,34 bA $\alpha$	8,64 aA $\alpha$	8,28
Espigamento	7,73 aA $\beta$	8,25 aA $\alpha$	9,12 aA $\alpha$	8,02 aB $\alpha$	8,28
Perfilhamento + espigamento	7,99 aA $\alpha$	7,76 aA $\beta$	8,51 abA $\alpha$	8,55 aA $\alpha$	8,20
Média	7,94	8,01	8,66	8,40	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N ( $70 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e 100% N ( $140 \text{ kg ha}^{-1}$ ). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Levando em consideração os resultados obtidos para comprimento médio de espiga, para a aplicação via foliar de *A. brasilense* no perfilhamento e dentro da dose maior de nitrogênio, foi influenciado negativamente pela não inoculação das sementes, refletindo em plantas de trigo com menor comprimento médio de espigas. Resultados similares foram apresentados por

Cavallet et al. (2000), no qual apresentou incremento no comprimento médio da espiga quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense*.

Nos resultados de massa da matéria seca de folhas de trigo, apresentados na Tabela 5, observa-se que a aplicação de *A. brasilense* via pulverização foliar não afetou a variável analisada.

Quando não inoculadas as sementes e feita a associação com a aplicação via foliar de *A. brasilense* no espigamento, verificou menor massa média de folhas na dose de 50% da fertilização nitrogenada para as plantas de trigo em comparação com a dose de 100%. Estes resultados já foram descritos por outros autores, que mesmo inoculando as sementes obtiverem incremento na massa da matéria seca das folhas quando feito o uso da maior dose de nitrogênio utilizados em seus trabalhos (LEMOS et al. 2013) e (RODRIGUES et al. 2014).

**Tabela 5.** Massa da matéria seca de folhas de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Massa da matéria seca de folhas (g)				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	0,28 aA $\alpha$	0,26 aA $\alpha$	0,27 aA $\alpha$	0,30 aA $\alpha$	0,28
Espigamento	0,24 aA $\beta$	0,27 aA $\alpha$	0,31 aA $\alpha$	0,27 aA $\alpha$	0,27
Perfilhamento + espigamento	0,27 aA $\alpha$	0,22 aA $\alpha$	0,32 aA $\alpha$	0,28 aA $\alpha$	0,27
Média	0,26	0,25	0,30	0,28	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N ( $70 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e 100% N ( $140 \text{ kg ha}^{-1}$ ). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Didonet et al. (2000), confirmam estes resultados, os quais apresentam que na ausência da inoculação de sementes, houve aumento da massa da matéria seca de folhas em plantas de trigo, quando feito uso de doses crescentes de adubação nitrogenada.

Em relação a massa da matéria seca de raízes de plantas de trigo, apresentada na Tabela 6, pode-se observar que a aplicação de *A. brasilense* via pulverização foliar, não apresentou efeito sobre a variável, comparado aos demais tratamentos.

Quando feito o uso de 100% da fertilização nitrogenada, em associação com a aplicação foliar de *A. brasilense* no espigamento das plantas de trigo, obteve-se um incremento da massa da matéria seca de raízes, quando ausente a inoculação das sementes com *A. brasilense*.

A inoculação das sementes de trigo, juntamente com a aplicação foliar de *A. brasilense* no espigamento da cultura, obteve melhores resultados quando associados a 50% da dose de nitrogênio recomendado.

**Tabela 6.** Massa da matéria seca de raízes de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Massa da matéria seca de raízes (g)				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	3,45 aA $\alpha$	3,01 aA $\alpha$	3,29 aA $\alpha$	3,38 aA $\alpha$	3,28
Espigamento	3,34 aA $\alpha$	3,77 aA $\alpha$	3,74 aA $\alpha$	3,06 aB $\beta$	3,48
Perfilhamento + espigamento	3,30 aA $\alpha$	3,25 aA $\alpha$	3,30 aA $\alpha$	3,35 aA $\alpha$	3,30
Média	3,36	3,34	3,44	3,26	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Utilizando doses crescentes de fertilização nitrogenada, Marchetti et al. (2001), observaram acréscimo no rendimento da massa da matéria seca de raízes em duas variedades de trigo. Trabalhando com bactérias' do gênero *Azospirillum*, Radwan et al. (2004), verificaram incrementos na massa e na superfície de raízes de plantas.

Neste estudo o acréscimo na massa de raízes das plantas de trigo, pode ser explicado pelo fato das células das raízes serem mais sensíveis em comparação as células da parte aérea quando feito o uso de *Azospirillum*, demonstrando resposta maior nesta secção da planta, induzindo a proliferação de raízes laterais e pêlos radiculares (Hungria, 2011)

Em relação aos valores de volume de raízes (Tabela 7), a aplicação de *A. brasilense* via pulverização resultou em incrementos para esta variável, associado ao uso de 100% da fertilização nitrogenada na ausência de inoculação das sementes.

A aplicação de *A. brasilense* via pulverização foliar no estágio de espigamento, com inoculação das sementes, na dose de 50% de nitrogênio resultou em acréscimo no volume de raízes de plantas de trigo, assim como a dose de 100% quando não inoculadas as sementes.

Quando não inoculadas as sementes com *A. brasilense* associada ao uso de 100% de fertilização nitrogenada, as plantas que receberam *A. brasilense* apenas no perfilhamento, apresentaram valores inferiores aos demais tratamentos de aplicação via foliar.

**Tabela 7.** Volume de raízes de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Volume de raízes (cm <sup>3</sup> )				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	55,00 aA $\alpha$	45,00 aA $\alpha$	46,25 bA $\alpha$	47,50 aA $\alpha$	48,44
Espigamento	50,00 aA $\beta$	56,25 aA $\alpha$	67,50 aA $\alpha$	38,75 aB $\beta$	53,13
Perfilhamento + espigamento	52,50 aA $\alpha$	43,75 aA $\alpha$	48,75 abA $\alpha$	47,50 aA $\alpha$	48,13
Média	52,50	48,33	54,17	44,58	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Da mesma forma, Domingues Neto et al. (2013) apresentaram que a aplicação via pulverização foliar de *A. brasilense* estimula incrementos em parâmetros morfométricos das raízes.

Estes resultados também foram encontrados por Radwan et al. (2004) e Lemos et al. (2013). Este acúmulo de biomassa em resposta a inoculação, podem ser resultados da produção de fitohormônios pelas BPCPs como auxinas, giberelinas e citocininas, que por sua ação estimulam a formação de pelos radiculares e raízes secundárias, resultando em maior superfície de absorção de água e nutrientes.

Quanto aos componentes da produção, avaliados aos 111 dias após a emergência das plântulas, apenas para a massa da matéria seca de espigas houve interação tripla significativa, considerando-se os fatores inoculação via sementes x dose de nitrogênio x inoculação via pulverização foliar em estágio

fenológico ( $p \leq 0,05$ ). Quanto aos fatores isolados, houve respostas significativa, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) quanto a fertilização para número de espiguetas por espiga, número de perfilhos por planta, número de espiga por planta e produção por planta (Tabela 8).

**Tabela 8.** Médias dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância pelo valor de F para número de espiguetas por espiga (NEE), massa de grãos por espiga (MGE), número de perfilho por planta (NPP), número de espigas por planta (NEP), massa da matéria seca de espiga (ME), número de grãos por espiga (NGE), massa de 100 grãos (M100) e produção por planta (PROD).

Fonte de Variação	NEE	MGE	NPP	NEP	ME	NGE	M100	PROD
<b>Inoculação de sementes</b>		g			g		----- g -----	
Com Inoculação	15,86	1,04	6,29	4,64	3,80	32,34	32,50	18,67
Sem Inoculação	16,30	1,06	6,71	4,59	3,74	32,88	32,27	18,76
<b>Dose de nitrogênio</b>								
70 kg ha <sup>-1</sup>	15,69 b	1,12	5,78 b	3,91 b	3,09	33,61	33,35	17,03 b
140 kg ha <sup>-1</sup>	16,48 a	0,99	7,22 a	5,32 a	4,44	31,61	31,42	20,40 a
<b>E. F. A. F. A.</b>								
Perfilhamento	16,14	1,06	6,41	4,61	3,82	32,36	32,82	18,88
Espigamento	15,99	1,00	6,86	4,75	3,90	31,40	32,06	18,46
Perf. + Espi.	16,11	1,09	6,23	4,48	3,58	34,06	32,27	18,81
F Ino	1,78	0,03	1,58	0,03	0,06	0,07	0,05	0,01
F Nit	5,73 *	3,74	18,87 *	31,59 *	26,82 *	1,00	3,77	12,41 *
F Aérea	0,08	0,57	1,27	0,37	0,54	0,60	0,21	0,07
F Ino x Nit	0,10	0,96	2,10	0,01	0,06	3,41	3,04	1,21
F Ino x Aérea	1,12	1,30	0,03	1,10	1,44	1,56	0,00	0,81
F Nit x Aérea	2,77	0,42	0,72	0,01	3,06	0,86	0,56	1,20
F Ino x Nit x Aérea	1,52	0,39	0,31	0,24	4,86 *	0,22	0,37	0,33
<b>C.V. (%)</b>	7,1	21,89	17,64	18,92	23,96	21,3	10,66	17,68

\* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. E. F. A. F. A. = Estádio fenológico de aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*; Perf. = Perfilhamento; Espi. = Espigamento; F = Fator analisado; Ino = Tratamento de inoculação de sementes; Nit = doses de nitrogênio; Aérea = aplicação via foliar de *Azospirillum brasilense* em diferentes estádios fenológicos; C.V. = coeficiente de variação.

Assim como as variáveis analisadas ao final do estágio de espigamento, as variáveis influenciadas pelo fator doses de nitrogênio, número de espiguetas por espiga, número de perfilho por planta, número de espigas por planta e produção por planta, são componentes da cultura direta ou indiretamente determinado pela disponibilidade de nitrogênio no solo, estes que possibilitam o acúmulo de aminoácidos, enzimas e proteínas nos tecidos, os quais são

distribuídos na planta, permitindo o desenvolvimento de novos tecidos e acumulados preferencialmente nos grãos (MALAVOLTA, 2006).

Na Tabela 9, na qual são apresentados os valores de massa da matéria seca de espigas de plantas de trigo, pode-se observar que a dose de 100% da fertilização nitrogenada, com ou sem inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação via foliar no perfilhamento e no espigamento de *A. brasilense*, resultou em redução da massa da matéria seca de espigas de plantas de trigo.

A aplicação foliar de *A. brasilense* no estágio de espigamento das plantas de trigo, associadas a 100% da fertilização nitrogenada obteve incremento de massa da matéria seca de espigas quando inoculadas as sementes com *A. brasilense*.

A ausência de inoculação das sementes com *A. brasilense*, quando aplicado *A. brasilense* via foliar no perfilhamento, resultou em acréscimo da massa da matéria seca de espigas das plantas de trigo quando aplicado 100% da fertilização nitrogenada, semelhante ao ocorrido quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense* e que receberam aplicação via foliar no estágio de espigamento.

**Tabela 9.** Massa da matéria seca de espigas de plantas de trigo em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Massa da matéria seca de espigas (g)				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	2,77 aA $\beta$	2,99 aA $\alpha$	5,40 aA $\alpha$	4,13 abA $\alpha$	3,82
Espigamento	3,36 aA $\alpha$	2,72 aA $\beta$	3,90 abB $\alpha$	5,61 aA $\alpha$	3,90
Perfilhamento + espigamento	3,15 aA $\alpha$	3,57 aA $\alpha$	3,82 bA $\alpha$	3,78 bA $\alpha$	3,58
Média	3,09	3,09	4,37	4,51	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Didonet et al. (2000), quando avaliaram em seu trabalho a variável massa da matéria seca de espigas, observaram que para os tratamentos que receberam inoculação das sementes com *A. brasilense*, obtiveram maiores



acúmulos de massa da matéria seca de espigas, quando utilizou-se 100% da fertilização nitrogenada.

Destacado por Saubidet et al. (2002), o menor acúmulo de biomassa observado ocorreu quando feito uso de inoculação das sementes com *A. brasilense* e em doses reduzidas de nitrogênio, sendo o resultado de maior investimento das plantas em seu sistema radicular, incrementando a massa da matéria seca e volume de raízes, quando em doses crescentes de fertilização nitrogenada.

Quanto as medidas de trocas gasosas e teor de nutrientes em tecido, apenas o teor de nitrogênio na folha e no grão apresentaram interação tripla para os fatores estudados ( $p \leq 0,05$ ). Com exceção da eficiência instantânea da carboxilação ( $f_c$ ), todas as variáveis responderam de forma significativa a fertilização nitrogenada ao se considerar o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Quando se considera o estágio fenológico de aplicação do inoculante via pulverização foliar, resposta significativa foi verificada apenas para a eficiência no uso da água, sendo a aplicação realizada no perfilhamento a mais promissora.

**Tabela 10.** Médias dos fatores isolados, seguido do resumo da análise de variância para taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*gs*), Concentração interna de CO<sub>2</sub> (*Ci*), transpiração (*E*), temperatura foliar, (*CTI*), eficiência do uso da água (*WUE*), eficiência intrínseca do uso da água (*iWUE*), eficiência instantânea da carboxilação (*fc*), teor de nitrogênio na folha (*Nf*), teor de potássio na folha (*Pf*), teor de fósforo na folha (*Kf*), teor de nitrogênio no grão (*Ng*), teor de potássio no grão (*Pg*) e teor de fósforo no grão (*Kg*).

Fonte de Variação	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>Ci</i>	<i>E</i>	<i>CTI</i>	<i>WUE</i>	<i>iWUE</i>	<i>fc</i>	<i>Nf</i>	<i>Pf</i>	<i>Kf</i>	<i>Ng</i>	<i>Pg</i>	<i>Kg</i>	
<b>Inoculação de sementes</b>						°C	----- g kg <sup>-1</sup> -----								
Com Inoculação	15,92	0,28	252,24	6,32	34,73	2,62	65,24	0,0629	23,39	2,75	37,12	23,05	4,30	7,90	
Sem Inoculação	16,20	0,30	254,35	6,53	34,63	2,59	63,73	0,0638	22,86	2,60	36,30	23,22	4,27	8,17	
<b>Dose de nitrogênio</b>															
70 kg ha <sup>-1</sup>	17,22 a	0,33 a	266,52 a	7,06 a	34,36 b	2,49 b	55,3 b	0,065	20,57	2,39 b	33,63 b	21,54	4,10 b	7,84 b	
140 kg ha <sup>-1</sup>	14,89 b	0,25 b	240,08 b	5,80 b	35,00 a	2,71 a	73,67 a	0,0616	25,68	2,96 a	39,79 a	24,74	4,48 a	8,23 a	
<b>E. F. A. F. A.</b>															
Perfilhamento	15,79	0,26	240,51	5,98	34,89	2,77 a	72,69	0,0656	24,30	2,66	37,03	23,70	4,28	8,21	
Espigamento	15,56	0,28	250,85	6,19	34,74	2,63 ab	66,58	0,0625	22,00	2,76	36,89	22,99	4,16	7,80	
Perf. + Espi.	16,82	0,33	268,52	7,12	34,40	2,41 b	54,2	0,0619	23,07	2,61	36,21	22,71	4,41	8,09	
F Ino	0,13	0,74	0,05	0,20	0,23	0,05	0,05	0,14	0,58	2,70	0,46	0,05	0,07	3,88	
F Nit	8,73 *	6,15 *	7,79 *	7,68 *	8,98 *	4,47 *	8,09 *	2,16	54,33 *	38,48 *	25,33 *	19,76 *	7,74 *	7,72 *	
F Aérea	0,97	1,82	2,98	2,34	1,82	4,06 *	2,84	1,05	3,69 *	0,83	0,17	0,70	1,14	3,05	
F Ino x Nit	0,99	1,49	1,91	1,64	2,42	2,08	1,90	0,14	2,20	0,34	2,48	0,07	0,01	0,27	
F Ino x Aérea	1,34	0,79	1,29	1,07	1,54	1,26	1,30	0,24	4,48 *	1,00	0,17	2,24	0,05	0,20	
F Nit x Aérea	1,99	1,64	2,00	1,87	1,77	2,09	2,10	1,05	0,07	0,46	1,11	2,77	0,72	0,06	
F Ino x Nit x Aérea	0,76	1,17	1,40	1,00	1,80	0,98	1,32	0,64	6,12 *	0,18	0,82	0,17 *	1,36	0,16	
<b>C.V. (%)</b>	17,01	38,71	12,96	24,64	2,16	13,84	34,69	12,39	10,37	12,05	11,54	10,79	11,03	6,08	

\* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. E. F. A. F. A. = Estádio fenológico de aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*; Perf. = Perfilhamento; Espi. = Espigamento; F = Fator analisado; Ino = Tratamento de inoculação de sementes; Nit = doses de nitrogênio; Aérea = aplicação via foliar de *Azospirillum brasilense* em diferentes estádios fenológicos; C.V. = coeficiente de variação. *A* – (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); *gs* – (mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); *Ci* – (mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); *E* – (mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); *CTI* – °C; *WUE* – (mmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O); *fc* – (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>).

Em relação ao teor de nitrogênio nas folhas de planta de trigo (Tabela 11), pode-se verificar que a aplicação via pulverização foliar no estágio de perfilhamento da cultura do trigo, apresentou teores de nitrogênio nas folhas superior na dose 100% de nitrogênio, quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum brasilense*, em comparação aos demais tratamentos de aplicação via foliar.

Comparando os tratamentos que receberam ou não inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, na dose de 100% da fertilização nitrogenada e aplicação foliar no perfilhamento, o tratamento que recebeu inoculação das sementes obteve teor de nitrogênio nas folhas superior aqueles que não tiveram suas sementes inoculadas.

Comparando as doses de nitrogênio, quando as sementes não receberam inoculação com *Azospirillum brasilense*, a aplicação foliar no perfilhamento foi superior quando feito o uso de 50% da fertilização nitrogenada. Quando as sementes receberam inoculação, e feito aplicações no espigamento e no perfilhamento + espigamento, a dose de 100% de nitrogênio incrementou os teores de nitrogênio nas folhas.

**Tabela 11.** Teor de nitrogênio nas folhas de plantas de trigo, em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Teor de nitrogênio nas folhas (g kg <sup>-1</sup> )				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	21,32 aA $\alpha$	22,24 aA $\beta$	23,98 aB $\alpha$	29,68 aA $\alpha$	24,30
Espigamento	18,38 aA $\beta$	20,79 aA $\alpha$	25,69 aA $\alpha$	23,14 bA $\alpha$	22,00
Perfilhamento + espigamento	19,68 aA $\beta$	21,02 aA $\alpha$	28,11 aA $\alpha$	23,46 bA $\alpha$	23,07
Média	19,79	21,35	25,93	25,43	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Este efeito de incremento do teor de nitrogênio em folhas, pelo uso de inoculação de sementes pode ser resultado da fixação biológica de N proveniente do *Azospirillum brasilense* (HUNGRIA, 2011). Corroborando com estes resultados, Lemos et al. (2013) testando inoculação de sementes em diferentes genótipos de trigo, observou incremento no teor de nitrogênio na parte aérea em diferentes

genótipos, e especial a cultivar CD 150. Incrementos estes encontrados, quando somente inoculadas as sementes e quando inoculadas as sementes e aplicado nitrogênio.

Para os valores de Teor de nitrogênio nos grãos (Tabela 12), pode-se observar que o teor de nitrogênio no grão, quando não inoculadas as sementes, associada a aplicação de *Azospirillum brasilense* no perfilhamento da cultura, é favorecido quando utilizada 100% da fertilização nitrogenada. O mesmo ocorre quando as sementes são inoculadas e aplicado *Azospirillum brasilense*, no perfilhamento e no espigamento da cultura.

**Tabela 12.** Teor de nitrogênio nos grãos de plantas de trigo, em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), via sementes e via pulverização foliar, associado à fertilização nitrogenada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2014

Estádio fenológico de aplicação foliar de <i>A. brasilense</i>	Teor de nitrogênio nos grãos (g kg <sup>-1</sup> )				Média
	----- 50% de N -----		----- 100% de N -----		
	NI	I	NI	I	
Perfilhamento	20,52 aAβ	22,14 aAβ	25,36 aAα	26,80 aAα	23,70
Espigamento	22,45 aAα	19,49 aAβ	25,70 aAα	24,32 aAα	22,99
Perfilhamento + espigamento	22,16 aAα	22,43 aAα	23,13 aAα	23,14 aAα	22,71
Média	21,71	21,35	24,73	24,75	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre aplicação via foliar, maiúscula na linha, para a comparação entre sementes não inoculadas e inoculadas dentro de cada dose de N, e letras gregas, na linha, para comparação entre doses de N, dentro de sementes não inoculadas ou inoculadas, não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). 50% N (70 kg ha<sup>-1</sup>) e 100% N (140 kg ha<sup>-1</sup>). NI = semente não inoculada, I = semente inoculada.

Estes incrementos do teor de nitrogênio nos grãos de trigo quando feito o uso da maior dose da fertilização nitrogenada, pode de certa forma ser explicada pela eficiência de fixação biológica de nitrogênio pelo *Azospirillum*, não ser elevada. De mesma forma que o fornecimento de nitrogênio via fertilização nitrogenada de forma assimilável pela planta, maior que a capacidade de fixação biológica do *Azospirillum*, resultando em teores de nitrogênio em grãos de plantas de trigo maiores quando feito o uso de doses elevadas de fertilização nitrogenada.

Resultados similares foram encontrados por Didonet et al. (2000), no qual não foram observados incrementos no Teor de nitrogênio nos grãos de trigo, quando feito o uso de *Azospirillum*. Porém o mesmo autor, descreve em seus resultados o aumento do Teor de nitrogênio nos grãos de trigo quando feito o uso de doses crescentes de fertilização nitrogenada.

## 5 CONCLUSÕES

1. O uso de *Azospirillum brasilense*, aplicado via inoculação das sementes não apresentou desempenho satisfatório para a cultura do trigo, diante das condições empregadas;

2. A aplicação de 50% da fertilização nitrogenada recomendada, associada ao uso de *Azospirillum brasilense* aplicado via pulverização foliar, igualou-se ao maior fornecimento de nitrogênio para o trigo;

3. A aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* via pulverização foliar, proporciona aumento do efeito da fertilização nitrogenada;

4. O uso de *Azospirillum brasilense* via pulverização foliar, associada à inoculação das sementes promove para a cultura do trigo relevantes incrementos em massa da matéria seca de raízes e volume médio de raiz, além de incrementos em comprimento médio de folhas, comprimento médio de raízes e massa média de espigas;

5. As medidas de trocas gasosas e teor de nutrientes nas folhas foram influenciadas positivamente apenas pela maior dose de nitrogênio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAGGIO, M.I. Genética e novas biotecnologias no melhoramento de trigo. In: CUNHA, G.R. **Trigo, 500 anos no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. p. 90-95.
- BALDOTTO, L. E. B. et al. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar vitória, durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 2, p. 349-360, 2010.
- BARASSI, C. A. et al. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: **Cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.49-59.
- BASHAN, Y. et al. 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.
- BOTTINI, R. et al. 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.
- CANTARELLA, H. et al. Ammonia volatilisation from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 4, p. 397–401, 2008.
- CARDOSO, I. C. M. et al. Ocorrência de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* em arroz irrigado no estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.9, n.2, p. 178-186, 2010.
- CARVALHO, E. V. et al. Crescimento de milho em níveis contrastantes de nitrogênio e sua correlação com produtividade de grãos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 351–357, 2013.
- CAVALLET, L. E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n. 1, p. 129-132, 2000.
- CAVASSIM, J. E.; BORÉM, A. Correlações em seis populações de trigo (*Triticum aestivum* L.). **Revista Ceres**, v.45, n.262, p.555-566, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v.2 – Safra 2014/15, n. 8 – Quarto Levantamento, Janeiro 2015. Brasília: CONAB, 2015. 90p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, v.2 safra 2014/ 15, n. 1 – Primeiro Levantamento, Outubro 2014. Brasília: CONAB, 2014. 89p.

COODETEC – Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola. **Guia de Produtos 2014: Região Sul**. 2014. 139p.

CORASSA, G. M. et al. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em trigo na região norte do Rio Grande do Sul. **Enciclopédia biosfera**, v.9, n.16, p.1298, 2013.

CROZIER, L. et al. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 11, p.2833-2837, 1988.

CUNHA, G. R.; PIRES, J. L. F.; VARGAS, L. Bases para produção competitiva e sustentável de trigo no Brasil. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L; CUNHA, G. R. **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. 488 p.

DEMIREVSKA-KEPOVA, K. et al. Heat stress effects on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, rubisco binding protein and rubisco activase in wheat leaves. **Biologia Plantarum**, v.49, p.521-525, 2005.

DEY, R., et al. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, 159: 371-394, 2004.

DIDONET, A. D. et al. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.2, p.401-411, 2000.

DOMINGUES-NETO, F. J. et al. Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17, p.1030-1040, 2013.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Brasília: Embrapa-SPI; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Ciência e tecnologia, lavras, v.35, n.6, 2011.

GALVÃO, P. G. et al. **Interação plantas e bactérias promotoras do crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. 68p.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, p. 30–39, 2014.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**. v. 2012, Article ID 963401, 15 p. <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>

HAVLIN, J. L. et al. **Soil fertility and fertilizers**. An introduction to mineral management 7<sup>a</sup> ed. New Jersey. Pearson Prentice Hall, 2005. 515p.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Embrapa Soja – Documentos 325, 2011.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ - IAPAR. **VI Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale**. Londrina, 2012. 220p.

LEMONS, J. L. et al. Resposta de cultivares de trigo à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e à adubação nitrogenada em cobertura. **Científica**, v.41, n.2, p.189–198, 2013.

LOPES, E. S. Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta. In: YAMADA, T. et al. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: International plant Nutrition Institute – IPNI, 2007. p.43-67.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**, São Paulo: Editora Agronomica Ceres, 2006. 638 p.

MARCHETTI, M. E.; CARAMORI, T. B. de A.; CAMPOS, A. M. B. Resposta de duas espécies de trigo ao nitrogênio e ao fósforo em solução nutritiva. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, p. 925-933, 2001.

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

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. **Cultura do trigo**. Brasil 2014. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo>>. 29 Nov. 2014.

MOREIRA et al. Ocorrência de bactérias do gênero *Azospirillum* spp. associadas a gramíneas forrageiras no semiárido nordestino. **HOLOS**, v.3, p. 205-212, 2013.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata scientiae**, v.1, n.2, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, O. S. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

PEDRINHO, E. A. N. **Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays* L.)**. 2009. 74f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2009.

PIETRO-SOUZA, W. et al. Desenvolvimento inicial de trigo sob doses de nitrogênio em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 6, p. 575–580, 2013.



PORTUGAL, J. R. et al. Inoculação via foliar com *Azospirillum brasilense* associada a doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho safrinha. In. **IX SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA**. Estabilidade e produtividade. Resumo expandido... EMBRAPA, UFGD-Dourados-MS, 26 a 28 de novembro de 2013.

PRANDO, A. M. et al. Características produtivas do trigo em função de fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 34–41, 2013.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.987-994, 2004.

REIS, V. M. et al. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S.. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.

REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R.S. Fixação Biológica de Nitrogênio: estado da arte. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.181-200.

REPKE, R. A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 214–226, 2013.

RODRIGUES, L. F. O. S. et al. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**. v. 18, n.1, p.31-37, 2014.

SALA, V. M. R. et al. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.345-352, 2005.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.

SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, v.245, p.215-222, 2002.

SILVEIRA, A. B. **Isolamento e caracterização de linhagens de *Bacillus* e *Paenobacillus* promotoras de crescimento vegetal em lacouras de arroz e trigo do Rio Grande do Sul**. 2008. 113f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artemed, 2013. 918p.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology** , v.24, p.967-980, 1978.

TEIXEIRA-FILHO, M. C. M. et al. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 8, p. 797-804, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, **Foreign Agricultural Service**. Production, Supply and Distribution Online: Custom Query. USA, 2015.

VIOLA, R. et al. Adubação verde e nitrogenada na cultura do trigo em plantio direto. **Bragantia**, v. 72, n. 1, p. 90–100, 2013.

VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas na obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: uma visão holística. In: YAMADA, T. et al. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: International plant Nutrition Institute – IPNI, 2007. p.43-67.

ZAGONEL, J. et al. Doses de nitrogênio e densidades de plantas com e sem regulador de crescimento afetando o trigo, cultivar OR-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, V. 32, n. 1, p. 25-29. 2002.