

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

ALINE KELLY POMINI DE SOUZA

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS ASSOCIADAS À
DIFERENTES DOSES DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO
TRIGO**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

ALINE KELLY POMINI DE SOUZA

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS ASSOCIADAS À
DIFERENTES DOSES DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO
TRIGO**

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

Coorientadoras: Prof^a. Dr^a. Elisiane Inês Dall'Óglio Chaves

Prof^a. Dr^a. Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S729b

Souza, Aline Kelly Pomini de
Bactérias promotoras de crescimento de plantas associadas à diferentes doses de fertilização nitrogenada na cultura do trigo./Aline Kelly Pomini de Souza. Marechal Cândido Rondon, 2016.
56 p.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Elisiane Inês Dal'Óglio Chaves
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Agronomia

1. *Triticum aestivum* L. 2. *Azospirillum brasiliense*. 3. Fixação biológica de nitrogênio. 4. Interação planta-bactéria. I. Guimarães, Vandeir Francisco. II. Vendruscolo, Eliane Cristina Gruszka. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 633.11
CIP-NBR 12899

ALINE KELLY POMINI DE SOUZA

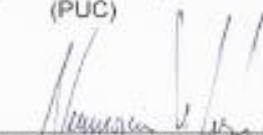
**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
ASSOCIADAS A DIFERENTES DOSES DE FERTILIZAÇÃO NITROGENADA
NA CULTURA DO TRIGO**

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: 25 de fevereiro de 2016



Prof.ª Dr.ª Elisiane Inês Dall'Oglio Chaves
(Coorientadora)
(PUC)



Prof. Dr. Neumárcio Vilanova da Costa
(UNIOESTE)



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

Aos meus pais, Antonio e Solange,
A minha irmã Andressa,
E ao meu namorado Luiz Offemann,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me guiado até este momento, por ter colocado em meu caminho pessoas importantes, por conceder a oportunidade de cursar o mestrado e pela realização do meu trabalho de dissertação.

Agradeço de forma especial aos meus pais Antonio José Marques de Souza e Solange Aparecida Pomini Souza e a minha irmã Andressa pelo por todo o apoio e incentivo aos meus estudos, pelos conselhos nos momentos difíceis, durante o este período.

Ao meu namorado e colega Luiz Offemann, pelo apoio, carinho, companheirismo e auxílio nos momentos necessários.

Agradeço de forma especial ao meu professor orientador Vandeir Francisco Guimarães, pela confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos repassados, pelo auxílio e compreensão nos momentos necessários.

As minhas coorientadoras Elisiane Inês Dall'Óglio Chaves e Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo, por ajudar na concretização deste trabalho desde o início até o final, prestando suporte quando necessário.

Aos professores Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelos ensinamentos. E aos professores Odair José Kuhn e José Renato Stangarlin pelo auxílio prestado.

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação: Lucas Guilherme Bulegon, Adriano Mitio Inagaki, André Gustavo Batisttus, Carla Rosane Kosmann, Katia Kabroski Andrioli, Leandro Rampim e Débora Kestring Klein pela companhia durante esta caminhada e auxílio para a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade e realização do curso.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA).

À CAPES pela bolsa de estudos concedida.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

SOUZA, Aline Kelly Pomini de, M. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro – 2016. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas associadas à diferentes doses de fertilização nitrogenada na cultura do trigo.** Orientador: Vandeir Francisco Guimarães Coordenador: Elisiane Inês Dall`Óglio Chaves e Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo.

Produzir trigo de forma competitiva e sustentável tornou-se um dos principais desafios da agricultura, visto que a cultura demanda grande quantidade de nitrogênio, elemento este com alto custo de obtenção. O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) previamente isoladas de áreas de mata com diferentes tipos de solo, inoculadas via sementes, em plantas de trigo e o efeito do uso de fertilizantes nitrogenados na associação planta-bactéria. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 7 com quatro repetições. O primeiro fator foi composto por 3 doses de fertilizante nitrogenado 0; 45 e 90 kg ha⁻¹. O segundo fator foi formado pela ausência de inoculação (controle), e inoculação via sementes com os isolados: UFPRPALT2-24, *Pseudomonas chlororaphis*, UFPRPALM1-131, *Ensifer adhaerens*, *Burkholderia ambifaria* e a estirpe padrão AbV5 (*Azospirillum brasilense*), registrada no Ministério da Agricultura. Durante o experimento foram mensurados o comprimento de plantas e teor de clorofila (índice SPAD). No estágio de florescimento foram mensuradas variáveis morfológicas e fisiológicas (trocas gasosas e SPAD), e ao final do ciclo da cultura os componentes da produção. Os dados foram submetidos a análise de variância, sendo utilizada análise de regressão para o comprimento de plantas e índice SPAD. Para as demais variáveis, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para as médias das análises morfológicas realizadas no estágio de florescimento e maturação foi realizada a correlação de Pearson e gerados agrupamentos dos tratamentos pelos métodos do Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) e Tocher. Das análises morfológicas realizadas no estágio de florescimento foi verificada diferença significativa para comprimento de plantas e número de perfilhos viáveis, para o fator isolado. Diante da interação dos fatores testados, a interação significativa foi verificada para: massa de matéria seca de folhas, massa de matéria seca de colmo, massa de matéria seca de espigas, massa de matéria seca de raízes e comprimento de espigas. Nas análises de trocas gasosas verificou-se diferença significativa para concentração interna de CO₂ (Ci). Dos componentes da produção, houve interação significativa para: comprimento de espigas, relação raiz-parte aérea, índice de colheita, número de grãos e massa de grãos. Da correlação de Pearson foram verificadas 45 correlações, destacando a relação do índice SPAD, comprimento de espigas e índice de colheita, devido o teor de clorofila estar relacionado com a fotossíntese. Dos agrupamentos foi verificado que os tratamentos com ausência de inoculação tanto pelo UPGMA, quanto por Tocher permaneceram em um mesmo grupo, separados dos tratamentos que se destacaram. Diante dos resultados expostos, pode-se concluir que as bactérias utilizadas apresentaram resultados satisfatórios no desenvolvimento da cultura do trigo em associação com o nitrogênio e em comparação ao *Azospirillum brasilense*, foi verificado comportamento similar ou superior.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.. *Azospirillum brasilense*. Fixação biológica de nitrogênio. Interação planta-bactéria.

ABSTRACT

SOUZA, Aline Kelly Pomini de, M. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, february – 2016. **Plant growth promoting bacteria associated with different doses of nitrogen fertilization on wheat crop.** Advisor: Vandeir Francisco Guimarães. Co-Advisors: Elisiane Inês Dall'Óglio Chaves e Eliane Cristina Gruszka Vendruscolo.

Produce wheat competitive and sustainable manner is one of the main challenges of agriculture, because the culture demands a high amount of nitrogen, this element with high cost of obtaining. The objective of this study was to evaluate the ability to promote growth of plant growth promoting bacteria (PGPB) previously isolated from forest areas with different types of soil inoculated by seeds, in wheat plants and the effect of the use of nitrogen fertilizers in the plant-bacteria association. The experiment was been conducted in a randomized block design in a factorial 3 x 7 with four replications. The first factor was composed of 3 doses of nitrogen fertilizer 0; 45 and 90 kg ha⁻¹. The second factor was been formed by the absence of inoculation (control), and inoculation by seeds with the isolates: UFPRPALT2-24, *Pseudomonas chlororaphis*, UFPRPALM1-131, *Ensifer adhaerens*, *Burkholderia ambifaria* and standard strain AbV5 (*Azospirillum brasilense*), registered in the Ministry of Agriculture. During the experiment were measured the length of plants and chlorophyll content (SPAD). At the flowering stage were measured morphometric and physiological variables (gas exchange and SPAD), and in the end of the crop cycle the production components. Data were been subjected to analysis of variance and regression analysis used for the length of plants and the SPAD index. For the other variables, the averages were been compared by Tukey test at 5% probability of error. For the averages of morphometric analyzes performed at the stage of flowering and maturity was conducted Pearson's correlation and generated groupings of treatments by the methods of Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) and Tocher. The morphometric analyzes in the flowering stage was a significant difference in length of plants and number of viable tillers, to the isolated factor. Given the interaction of the factors tested, the significant interaction was observed for: mass of dry matter leaves, mass of dry matter stem, mass of dry matter ears, mass of dry matter of roots and length of ears. In the analysis of gas exchange there was a significant difference for internal CO₂ concentration (Ci). Components of production, there was a significant interaction for: ear length, root - aerial part relationship, harvest index, number of grains and grain yield. Pearson's correlation were found 45 correlations, highlighting the relationship of SPAD index, ear length and harvest index, because the chlorophyll content be related to photosynthesis. The groups was observed that the treatments with no inoculation by both UPGMA, and Tocher remained in the same group, separate from treatments that stood out. Given the results exposed, it can being concluded that the bacteria used showed satisfactory results in the development of the wheat crop in combination with nitrogen and compared to *Azospirillum brasilense*, similar or higher behavior was observed.

Keywords: *Triticum aestivum* L.. *Azospirillum brasilense*. Biological nitrogen fixation. Plant – bacteria interaction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Índice SPAD de plantas de trigo submetidas à fertilização nitrogenada e inoculação. **A.** Altura de plantas na dose de 0 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. **B.** Altura de plantas na dose de 45 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. **C.** Altura de plantas na dose de 90 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. 28
- Figura 2** – Comprimento de plantas de trigo submetidas à fertilização nitrogenada e inoculação. **A.** Comprimento de plantas na dose de 0 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. **B.** Comprimento de plantas na dose de 45 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. **C.** Comprimento de plantas na dose de 90 kg ha⁻¹ com diferentes fontes de inoculação. 30
- Figura 3** – Dendrograma das médias das variáveis morfométricas, baseado na análise de dissimilaridade de Mahalanobis, GENES (CRUZ, 2008) agrupado pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Análise de variância da avaliação no estágio de florescimento, para comprimento de plantas (CP), diâmetro (D), número de folhas (NF), comprimento de folhas (CF), comprimento de espigas (CE), número de perfilhos (NP), número de espigas (NE), índice de clorofila (SPAD), número de perfilhos viáveis (NPV), massa de matéria seca de folhas (MSF), massa de matéria seca de colmo + bainha (MSCB), massa de matéria seca de espigas (MSE), massa de matéria seca de raiz (MSR) e relação raiz-parte aérea (R/PA), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 32
- Tabela 2** – Análise de variância da avaliação no estágio de florescimento para a análise de trocas gasosas, para taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (gs), taxa de transpiração (E), concentração interna de CO₂ (Ci), temperatura foliar computadorizada (CTI), eficiência no uso da água (WUE – A/E), eficiência intrínseca no uso da água (iWUE – A/gs) e eficiência instantânea de carboxilação (fc – A/Ci), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 33
- Tabela 3** – Análise de variância da avaliação no estágio de produção, para número de espigas (NE), número de espiguetas por espiga (NEE), comprimento de espigas (CE), número de grãos (NG), produção (PROD), massa de 100 grãos (M100), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) e índice de colheita (IC), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 34
- Tabela 4** – Massa de matéria seca de folhas e de colmo + bainha de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 36
- Tabela 5** – Massa de matéria seca de espigas e de raízes de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 37
- Tabela 6** – Comprimento de espigas de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 39
- Tabela 7** – Índice de colheita e relação raiz parte aérea de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 41
- Tabela 8** – Produção e número de grãos de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015. 42
- Tabela 9** – Valores de correlação com a inoculação com bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada na cultura do trigo, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015 45

Tabela 10 – Grupos de tratamentos estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, baseado na dissimilaridade expressa pela distância de Mahalanobis. 49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	O TRIGO	13
2.2	NITROGÊNIO NO TRIGO	14
2.3	MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO	15
2.3.1	Fixação Biológica de Nitrogênio	16
2.3.2	Outros mecanismos de promoção de crescimento.....	17
2.4	ESPÉCIES DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS	19
2.5	INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PLANTAS	20
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	LOCAL E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	22
3.2	PREPARO DE INÓCULO	22
3.3	MATERIAL VEGETAL	23
3.4	IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	24
3.5	VARIÁVEIS AVALIADAS	24
3.6	TABULAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1	VARIÁVEIS MENSURADAS AO LONGO DO CICLO	27
4.2	VARIÁVEIS MENSURADAS NO FLORESCIMENTO E MATURAÇÃO DE GRÃOS.....	31
4.3	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS ANALISADAS.....	43
4.4	MÉTODOS DE AGRUPAMENTO.....	47
5	CONCLUSÕES	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) representa uma importante cultura no sistema de produção de alimentos, sendo uma opção economicamente viável para utilização em rotação de culturas. Para sua implantação no campo esta cultura demanda uma elevada quantidade de nitrogênio para o seu desenvolvimento, aumentando a preocupação relacionada ao uso de fertilizantes nitrogenados em função da poluição dos recursos hídricos, solo e atmosfera, pela produção destes fertilizantes e por estar sujeito a perdas por erosão, lixiviação, volatilização e desnitrificação (CARDOSO et al., 2011).

Pelo nitrogênio ser considerado um dos fatores mais limitantes para a produção de trigo, e por ser incorporado ao sistema produtivo, principalmente via fertilizantes provenientes de fixação industrial, acaba por encarecer os custos de sua produção.

Algumas tecnologias têm sido empregadas na agricultura para redução de custos, aliado a manutenção dos níveis de produtividade e responsabilidade ambiental. Uma dessas tecnologias é a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), que além de realizarem a fixação biológica do nitrogênio, também são capazes de produzirem fitohormônios que estimulam o enraizamento, aumento da colonização micorrízica e aumento na eficiência de absorção de nutrientes (LOPES, 2007).

Diante da ampla gama de microrganismos que possuem a capacidade de promover o crescimento de plantas, na cultura do trigo há uma série de estudos realizados com bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente da espécie *Azospirillum brasilense*. Conforme Correa et al. (2008), alguns autores indicam que a associação entre planta e bactéria, pode atuar promovendo melhorias nas variáveis de trocas gasosas das folhas, aumento no teor de clorofilas, absorção de água e nutrientes e maior tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos, bem como, maior vigor nas plantas, conseqüentemente refletindo no aumento de produtividade.

Além da bactéria *Azospirillum brasilense*, cuja eficiência agrônômica já é comprovada por vários estudos, há uma grande quantidade de espécies de bactérias com características de promoção de crescimento, algumas delas vêm sendo estudadas, como o *Ensifer adherens*, *Pseudomonas chlororaphis* e *Burkholderia ambifaria*. A *Ensifer*

adherens é uma bactéria do solo que é capaz de realizar a fixação do nitrogênio atmosférico (ROGEL et al., 2001), podendo ser encontrada na floresta tropical (BERGOTTINI et al., 2015). *Pseudomonas chlororaphis* é uma espécie que pode promover o crescimento de plantas pela produção de fitohormônios ou pela solubilização de fosfatos, além de atuar contra a disseminação de fitopatógenos na planta (CHEN et al., 2015). E as bactérias do gênero *Burkholderia*, possuem a capacidade de aumentar a resistência a doenças em plantas, contribuir para melhorar a eficiência no uso da água, promover a fixação de nitrogênio e ainda se adaptar ao estresse ambiental (COMPANT et al., 2008).

No contexto da agricultura atual, considerando-se a segurança alimentar, a realização de estudos baseados na utilização de bactérias promotoras de crescimento, com a finalidade de incrementar a produção final de culturas de importância mundial na alimentação humana e animal é de grande relevância. Espera-se que com este estudo possa ser verificado que as espécies de bactérias testadas contribuam com a promoção do crescimento de plantas de trigo.

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo geral avaliar a capacidade em promover o crescimento de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), previamente isoladas de área de mata dos municípios de Palotina/PR e Iporã/PR inoculadas via sementes, em plantas de trigo e o efeito do uso de fertilizantes nitrogenados na associação planta-bactéria.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O TRIGO

O trigo tem sua origem no centro Asiático, sendo que foi um dos mais importantes cereais para alimentação humana na Pérsia antiga, na Grécia e no Egito. No Brasil, há indícios de que o cultivo do trigo tenha iniciado em 1534, na antiga Capitania de São Vicente. A partir de 1940, a cultura começou a expandir comercialmente no Rio Grande do Sul, na mesma época, agricultores do Sul do Paraná plantavam sementes de trigo trazidas da Europa em solos relativamente pobres, onde as cultivares de porte alto, tolerantes ao alumínio tóxico, apresentavam melhor adaptação (EMBRAPA, 2015).

Produzir trigo no Brasil de maneira competitiva e sustentável vem sendo um dos principais desafios da agricultura, já que a consolidação desta cultura ocorreu a partir da segunda metade do século 20. Esta cultura se encontra dentro de um seleto grupo de *commodities* agrícolas que dominam a produção e o comércio mundial de grãos. Neste contexto, o Brasil possui algumas peculiaridades, já que faz parte tanto dos países exportadores, bem como dos importadores de trigo (CUNHA et al., 2011).

O trigo é uma cultura resistente que pode crescer em uma ampla gama de ambientes e condições que permitam o cultivo em grande escala e armazenamento a longo prazo. Cerca de 65% da safra de trigo é utilizada na alimentação, 17% para alimentação animal e 12% para as indústrias, incluindo a de biocombustíveis (FAO, 2013).

Mundialmente é o terceiro cereal que apresenta a maior produção, depois do milho e arroz. Em relação a alimentação é o segundo como principal fonte de nutrição, ficando somente atrás do arroz (FAO, 2013).

No Brasil, conforme o levantamento divulgado pela CONAB no mês de outubro de 2015, em relação aos dados estimados para a produção de trigo no Brasil foi verificada uma redução em 9,8% em relação ao ano de 2014, ocupando nesta safra, uma área de 2,48 milhões de hectares, porém, acredita-se que a produção chegue a 6,6 milhões de toneladas, cerca de 11,4% em relação à safra anterior, obtendo uma média de 2,661 kg ha⁻¹ (CONAB, 2015).

Mesmo sendo um grande produtor deste cereal de inverno, chegando a produzir 6,6 milhões de toneladas, o país não consegue suprir a sua demanda, tendo a previsão de moagem industrial em cerca de 10,5 milhões de toneladas. Ainda assim, uma certa quantidade deste grão é exportada, sendo que a estimativa para esta safra será de 1,3 milhão de toneladas (CONAB, 2015).

Para seu desenvolvimento o trigo possui vários fatores limitantes, dentre estes, o nitrogênio, devido a sua participação no desenvolvimento de funções metabólicas essenciais da planta (FERREIRA et al., 2010).

2.2 NITROGÊNIO NO TRIGO

O nitrogênio é um dos elementos requeridos em grandes quantidades pelas plantas e um dos quais limitam o crescimento, já que este participa como constituinte de proteínas, ácidos nucleicos e muitos outros compostos celulares importantes, incluindo membranas e diversos hormônios vegetais (SOUZA; FERNANDES, 2006).

Na cultura do trigo, o nitrogênio é um elemento indispensável para a morfogênese (SANGOI et al., 2011), formação dos nós, no início do alongamento, por estar envolvido no processo de determinação do número de afilhos ou perfilhos (FERREIRA et al., 2010), além do incremento no perfilhamento, contribuindo para um maior número de inflorescências por área, conseqüentemente aumentando o rendimento de grãos (SANGOI et al., 2007).

Cultivares de trigo com alto potencial produtivo de grãos e a adubação nitrogenada correta, são essenciais para a obtenção de alta produtividade. Desta forma a fertilização nitrogenada requer uma certa atenção relacionada à época e às doses de aplicação, já que, pequenas doses limitam a produtividade, e doses elevadas podem induzir ao acamamento, dificultando a colheita e reduzindo a produtividade (TEIXEIRA-FILHO et al., 2010).

Na cultura do trigo, o nitrogênio constitui um dos mais altos custos da produção (SALA et al., 2005). E além dos custos econômicos, há ainda os ambientais relacionados a fertilização nitrogenada, que têm estimulado a busca por alternativas que possam diminuir a utilização deste fertilizante sem que haja diminuição da produção (ROESCH et

al., 2005). Ainda assim, a fertilização nitrogenada pode ocasionar prejuízo ao ambiente, pela lixiviação de nitrato para os lençóis freáticos TEIXEIRA-FILHO et al., 2010).

Uma alternativa é a exploração da FBN (Fixação Biológica do Nitrogênio), realizada por bactérias promotoras de crescimento, que além da fixação possuem outros mecanismos que podem contribuir potencialmente com a produção de trigo (REIS, 2007).

2.3 MECANISMOS DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO

Bactérias promotoras de crescimento vegetal ou bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), incluem microrganismos de vida livre, que formam relações simbióticas específicas com plantas, endófitos bacterianos que podem colonizar alguns ou uma grande parte dos tecidos de uma planta, e cianobactérias (GLICK, 2012).

As respostas benéficas das bactérias promotoras de crescimento de plantas podem ser observadas em plantas propagadas “in vitro” e “ex vitro” principalmente devido ao aumento de área foliar, altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas e matéria seca, redução do tempo de aclimatização, maior sobrevivência de mudas, controle de doenças e aumento de produtividade (MARIANO et al., 2004).

Os mecanismos de promoção de crescimento são de grande importância para incrementar a produção e melhorar o seu desenvolvimento. Em culturas forrageiras estes mecanismos contribuem significativamente para características como massa seca, número de panículas e teores de nitrogênio, contribuindo para uma maior sustentabilidade na produção da forrageira (VOGEL et al., 2014).

A promoção do crescimento vegetal pode ocorrer de duas formas: direta ou indireta. A forma direta é quando normalmente está envolvido o suprimento de algum composto que é sintetizado pela bactéria, facilitando a captação de nutrientes pela planta, como o nitrogênio através da fixação biológica; o fósforo pela solubilização de fosfatos; ou otimizando o processo biológico associado com o crescimento vegetal, como a produção de fitohormônios e a atividade da ACC – deaminase, que diminui os níveis de etileno induzidos por estresse à planta. A forma indireta ocorre quando as BPCP promovem o crescimento vegetal com o aprimoramento de condições restritas de

crescimento, como quando há a competição com patógenos, reduzindo o crescimento e/ou atividade dos mesmos (GALVÃO et al., 2010).

2.3.1 Fixação Biológica de Nitrogênio

Dentre os organismos procariotos, apenas uma parcela possui a enzima nitrogenase, enzima esta, capaz de reduzir o nitrogênio atmosférico (N_2) para a forma inorgânica combinada, a amônia (NH_3), que se torna disponível para plantas e outros microrganismos, denominados de fixadores de nitrogênio ou diazotróficos. Mesmo esta parcela de microrganismos sendo pequena, ela apresenta alta diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A utilização da fixação biológica do nitrogênio é uma alternativa ao uso de fertilizantes nitrogenados, reduzindo a quantidade de adubos utilizados. Os microrganismos fixadores de nitrogênio encontrados nas gramíneas vivem na rizosfera destas sem a formação de nódulos. Os estudos com bactérias que possuem esta capacidade, foram iniciados no Brasil pela Dra. Johanna Döbereiner, no final da década de 50, quando foram verificadas novas espécies dos gêneros *Beijerinckia* e *Azotobacter* associadas a rizosferas de cana-de-açúcar e grama batatais, respectivamente (LOPES, 2007).

A importância desses microrganismos pode ser evidenciada quando há a perda de diversidade deles no solo, sobretudo dos diazotróficos, podendo ocorrer a modificação da estrutura populacional de outros organismos situados ao longo da cadeia trófica. Afetando a decomposição de matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes, impactos que podem levar o sistema agrícola à maior dependência por fertilizantes (MOREIRA et al., 2010).

A partir do isolamento e caracterização de bactérias isoladas de arroz em relação a fixação biológica do nitrogênio, foi verificada a eficiência em realizar a fixação, sendo que o *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum lipoferum*, foram as espécies que se destacaram na realização deste processo (KUSS et al., 2007). Quando quantificada a fixação biológica do nitrogênio em *Pennisetum purpureum* (capim elefante), foi avaliado

que esta poácea possui a capacidade de obter nitrogênio oriundo de fixação biológica (MORAIS, et al., 2012).

2.3.2 Outros mecanismos de promoção de crescimento

Dentre os mecanismos de promoção de crescimento estão incluídos a solubilização de fosfatos, a produção de fitohormônios, a produção de sideróforos, produção de ACC-deaminase e a competição ou inibição de patógenos.

A utilização de microrganismos solubilizadores de fosfato ou o manejo de suas populações no solo constituem alternativas para melhorar a disponibilidade de fósforo para as plantas (SILVA-FILHO; VIDOR, 2000). Mesmo com a ocorrência generalizada de microrganismos com capacidade de mineralizar-solubilizar fosfatos no solo, essa atividade não é elevada o suficiente para competir com outros organismos da rizosfera (GALVÃO et al., 2010). Mas estudos sobre a solubilização de fosfato utilizando bactérias promotoras de crescimento, evidenciam a capacidade que estes tem em realizar este processo em culturas como a cana-de-açúcar (LIRA-CADETE et al., 2012) e o milho (PEDRINHO et al., 2010).

A produção de fitohormônios por bactérias promotoras de crescimento de plantas, incluem, as auxinas, citocininas e giberelinas. Estirpes de *Azospirillum*, que foram isoladas de trigo quando analisadas quanto a produção de ácido abscísico, ácido-3-indol acético e ácido giberélico, todas as estirpes isoladas produziram estes fitohormônios (ILYAS; BANO, 2010). As auxinas ou mais especificamente o ácido 3 - indol acético (AIA), possuem diversas funções no crescimento e desenvolvimento das plantas, estando presente na maioria dos estádios do ciclo de vida de um vegetal, da germinação à senescência, regulando alguns processos, dentre estes a dominância apical, a abscisão foliar, a formação de raízes laterais e a diferenciação vascular (TAIZ; ZEIGER, 2013). Algumas bactérias tem a capacidade de sintetizar citocininas ou giberelinas, até mesmo ambas. Sendo que citocininas foram detectadas em *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* e *Paenibacillus polymyxa* (GLICK, 2012). Já a síntese de giberelinas pode ser

verificada a partir da espécie *Azospirillum lipoferum*, sendo possível afirmar que esta bactéria possui a capacidade de sintetizar este fitohormônio (BOTTINI et al., 1989).

A produção de sideróforos é realizada por microrganismos que desenvolveram uma estratégia mais eficiente para a captação do ferro, que se encontra abundante no solo, na forma de hidróxido férrico, que é indisponível para as plantas (GALVÃO et al., 2010). Os sideróforos atuam nas relações entre microrganismos com forte influência sobre alguns patógenos de solo e na nutrição de plantas, melhorando a absorção de ferro em condições de deficiência deste elemento no solo. Dos microrganismos que apresentam essa capacidade, há espécies de *Pseudomonas*, que estão entre as espécies que predominam na rizosfera, desta forma é esperado que para sobreviverem neste ambiente sejam antagonistas eficientes, por meio de diferentes mecanismos. Atuando de forma direta e indireta na promoção de crescimento de plantas, seja pela disponibilização de ferro para a planta (direta) ou por reduzir a disponibilidade de ferro a patógenos presentes na rizosfera (indireta) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A ACC-deaminase é uma enzima que é considerada como chave para a produção vegetal, por ser responsável pela clivagem do aminoácido precursor do etileno na planta, ACC (ácido 1- carboxílico-1-aminociclopropano). Reduzindo os níveis de ACC nas plantas. Desta forma microrganismos produtores da ACC-deaminase são capazes de reduzir os níveis de etileno provocados por estresse a planta. O etileno quando presente em concentrações elevadas pode conduzir a inibição do crescimento de plantas ou até mesmo a promover a morte (GLICK, 2014).

A relação de bactérias promotoras de crescimento com alguns patógenos de plantas varia de acordo com o mecanismo que é utilizado diante de cada um relacionado a diferentes bactérias e na cultura em questão. Esta capacidade de as bactérias realizarem o controle biológico para promover indiretamente o crescimento planta tem sido fonte de grande interesse, tanto em relação a compreensão dos mecanismos utilizados pelas bactérias no biocontrole e o uso destas bactérias comercialmente para controle de patógenos (GLICK, 2012).

2.4 ESPÉCIES DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Há uma ampla gama de bactérias promotoras de crescimento de plantas utilizadas na agricultura, dentre estas estão incluídas as espécies dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter* e *Herbaspirillum* (MARIANO et al., 2004), *Azospirillum*, *Ensifer* dentre outros.

Do gênero *Pseudomonas* há duas espécies que já são consideradas promotoras de crescimento de plantas, a *P. fluorescens* e *P. chlororaphis*. A *P. fluorescens*, foi denominada desta forma por secretar um pigmento fluorescente solúvel. Estas bactérias sobrevivem por longos períodos no solo, sendo investigadas por apresentarem esta capacidade, bem como por atuar no biocontrole de patógenos e na biorremediação de vários compostos orgânicos (GANESHAN; KUMAR, 2005). *P. chlororaphis* também atua no biocontrole de fitopatógenos, por possuir em seu genoma informações que indicam a produção de metabólitos antifúngicos (CHEN et al., 2015). Há estudos utilizando *P. chlororaphis* no biocontrole de *Rhizoctonia cerealis* na cultura do trigo (JIAO et al., 2013) e no controle biológico de *Phytium aphanidermatum* em alface hidropônica (CORRÊA et al., 2010).

Já *Burkholderia* é um gênero que ocupa uma grande diversidade de nichos ecológicos, considerando dentre estes o solo e diferentes ambientes. Algumas estirpes deste gênero são capazes de aumentar a resistência de plantas a doenças, fixação do nitrogênio e adaptação do hospedeiro a estresses ambientais (COMPANT et al., 2008). A espécie *Burkholderia ambifaria* pode ser encontrada no solo bem como na rizosfera e atuar no controle de patógenos de plantas (COENYE et al., 2001).

Outro gênero de bactéria promotora de crescimento é o *Azospirillum*, que inicialmente foi denominado *Spirillum*, sendo isolado e encontrado na rizosfera de gramíneas tropicais (BASHAN; LEVANONY, 1990). Há muitos trabalhos realizados com o *Azospirillum*, como: em trigo (PICCININ et al., 2013; SALA et al., 2005 e ROESCH et al., 2005), em milho (REPKE et al., 2013; CAVALLET et al., 2000 e DARTORA et al., 2013), arroz (KUSS et al., 2007 e CARDOSO et al., 2010), sorgo (BERGAMASCHI et al., 2007) e com coinoculação na soja (ZUFFO et al., 2015; BÁRBARO et al., 2009).

O gênero *Ensifer*, foi considerado *Sinorhizobium* e muito se fala sobre isso (YOUNG, 2010), sendo que alguns trabalhos mantem o *Sinorhizobium*. *Ensifer adhaerens* são gram-negativas, estão relacionadas com *Sinorhizobium* por apresentar uma sequência relacionada 16s rRNA (ROGEL et al., 2001).

2.5 INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PLANTAS

Em grande parte dos estudos realizados, se relata que um dos principais fatores relacionados a interação entre plantas e bactérias promotoras de crescimento é o genótipo da cultura. Diante disso, autores como Moraes et al. (2012) constataram que pelo uso de diferentes genótipos de *P. purpureum* (capim-elefante), que a quantidade de nitrogênio fixado por cada um dos genótipos utilizados em associação com bactérias promotoras de crescimento, chegaram a fixar cerca de 132 Kg ha⁻¹ ano⁻¹.

Reis-Júnior et al. (2008), estudaram dois genótipos de milho associados a inoculação com *Azospirillum amazonense*, sendo que as plantas que foram inoculadas apresentaram maior produção de massa de matéria seca, bem como acúmulo de nitrogênio nas raízes.

Quando utilizados diferentes cultivares de arroz inoculados com diferentes bactérias promotoras de crescimento dos gêneros *Burkholderia*, *Pseudomonas* e *Rhizobium*, foi verificada a resposta diferencial à inoculação, sendo que dentre os cultivares de arroz utilizados, o cultivar BRS Aimoré apresentou no estudo, maior interação com as estirpes bacterianas, com diferença significativa em relação ao crescimento da parte aérea (FERREIRA et al., 2014).

A interação de bactérias capazes de promover o crescimento pela fixação de nitrogênio com diversas culturas tem sido tema de pesquisas no mundo, pelo seu potencial biotecnológico evidenciado no aumento da produtividade das culturas, alternativa de redução dos custos de produção ao diminuir o uso de adubos nitrogenados, melhorando a conservação dos recursos ambientais (MOREIRA et al., 2010).

Os resultados obtidos no trabalho de Piccinin et al. (2013) reforçam o fato de que a inoculação com *Azospirillum brasilense* deve estar associada à adubação nitrogenada,

favorecendo as características agronômicas da cultura do trigo, conseqüentemente contribuindo com aportes adicionais no rendimento final da cultura.

Sala et al. (2005), verificaram pela inoculação de trigo com bactérias diazotróficas na presença de doses de nitrogênio, que a quantidade de microrganismos diazotróficos detectada foi crescente conforme o aumento das doses de nitrogênio, derrubando a ideia que o nitrogênio acarreta na redução da quantidade de microrganismos no solo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação na Estação de Horticultura e Cultivo Protegido “Prof. Dr. Mário César Lopes” pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, no município de Marechal Cândido Rondon-PR, com coordenadas geográficas de 54° 22' W e 24° 46' S, e altitude média de 420m.

Foram conduzidos dois experimentos paralelos com plantas de trigo, um até o estágio de florescimento e outro até maturação dos grãos. Ambos os experimentos foram implantados em delineamento de blocos casualizados, arranjados em esquema fatorial de 3 x 7, com quatro blocos, totalizando 84 parcelas para cada experimento. O primeiro fator foi formado por três doses de nitrogênio: 0, 50 e 100%, correspondendo, respectivamente a 0, 45 e 90 kg ha⁻¹ de N). O segundo fator foi constituído do controle, com ausência de inoculação, e inoculação via sementes de cinco isolados de bactérias com potencial de promoção de crescimento de plantas: UFPRPALT2-24, UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALM1-131, UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), além de *Azospirillum brasilense*, estirpe Ab-V5, cujo potencial de promoção de crescimento é amplamente constatado na literatura, eficiência agrônômica atestada pelo Ministério da Agricultura.

3.2 PREPARO DE INÓCULO

Foram escolhidos seis isolados, remanescentes do acervo da Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina, sendo estes: UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-24, UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*), UFPRPALM1-131 e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*). A escolha destes isolados se deu pela avaliação dos resultados de testes preliminares em laboratório, como a solubilização de fosfatos e a produção de auxinas *in vitro*.

Os isolados foram coletados de áreas de mata dos municípios de Palotina/PR e Iporã/PR, sendo nomeados conforme o exemplo, **UFPRPALT 2-24**, sendo que **UFPR**: é

a universidade onde foram conduzidos os experimentos; **PAL**: por ser realizado na cidade de Palotina/PR; **T** ou **M**: isolada de Trigo ou Milho; **1**, **2** ou **3**: relacionado a área onde foram coletadas as plantas para o isolamento, sendo a área 1: ARGISSOLO VERMELHO (Iporã/PR); área 2: LATOSSOLO ROXO (Linha La Salle-Palotina/PR) e área 3: NITOSSOLO VERMELHO (Linha Aparecidinha-Palotina/PR), segundo EMBRAPA (2006); e **24** o número da bactéria isolada (DALL'ÓGLIO-CHAVES). Além destes, foi utilizada como padrão, por já ser produzida comercialmente, registrada no Ministério da Agricultura (MAPA) e recomendada para a cultura do trigo, a estirpe Ab-V5 da espécie *Azospirillum brasilense*.

Os inóculos foram obtidos pelo crescimento dos isolados em seus respectivos meios de cultivo, nos quais foram realizados os isolamentos. No meio de cultivo LG o UFPRPALT2-21 e UFPRPALT2-24, no LGD o UFPRPALT2-32 e UFPRPALM1-131, no JNFb (UFPRPALM3-87) (DÖBEREINER et al., 1995); e NFb-lactato para *A. brasilense* (MACHADO et al., 1995), *overnight* sob agitação em Shaker, a 120 rpm à temperatura de 28°C. Após este período, 1 mL do pré-inóculo, foi transferido para um erlenmeyer de 250 mL contendo 20 mL de cada respectivo meio líquido, até que alcançassem a fase *log* de crescimento, sendo em seguida, quantificada a massa de células por turbidimetria a 660nm. Para a obtenção do inóculo na concentração estipulada para o ensaio, calculou-se a concentração de $1 \cdot 10^6$ células mL⁻¹ em 50 sementes. Em seguida, as células bacterianas para produção do inóculo foram centrifugadas, ressuspendidas em solução salina à 0,9%, seguindo a metodologia de Dall'Óglio-Chaves (2013) com adaptações.

3.3 MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado para desenvolver o experimento foi a cultivar de trigo CD 150, de porte baixo e precoce, alto potencial produtivo em solos de alta fertilidade, boa sanidade e tolerância à brusone, trigo melhorador, de farinha de alta qualidade industrial (COODETEC, 2014).

3.4 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O substrato utilizado para a condução dos experimentos foi proveniente do horizonte A (camada de 0 a 0,20 m) de um solo classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico (LVef) (EMBRAPA, 2006), de textura muito argilosa.

A análise química do substrato foi realizada no Laboratório de Química Agrícola e Ambiental da Unioeste, *Campus* de Marechal Cândido Rondon. As características químicas observadas foram: pH (CaCl₂): 5,22; P disponível (Mehlich-1): 6,86 mg dm⁻³; K (Mehlich-1): 0,15 Cmol_cdm⁻³; Ca⁺² (KCl 1mol L⁻¹): 3,34 Cmol_c dm⁻³; Mg⁺² (KCl 1mol L⁻¹): 1,32 Cmol_c dm⁻³ e Al⁺³ (KCl 1mol L⁻¹): 0,00 Cmol_c dm⁻³; H+Al (acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹): 4,67 Cmol_c dm⁻³; SB: 4,81 Cmol_c dm⁻³; V%: 50,74; M.O.: 17,77 g dm⁻³; CTC: 9,48.

Após o resultado da análise, o solo foi peneirado e homogeneizado em betoneira, sendo acrescentado o equivalente a 40 – 60 Kg ha⁻¹ cloreto de potássio e de superfosfato simples, conforme recomendação de Marchioro e Franco (2010).

Como unidades experimentais foram utilizados vasos plásticos de nº 04, contendo aproximadamente 3,4 dm³ de solo. Nestes foram semeadas 12 sementes de trigo no dia 26 de junho de 2015. Aos três dias após a emergência (DAE) procedeu-se o debaste de plântulas, mantendo quatro plantas por vaso. Os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade durante o decorrer do experimento.

3.5 VARIÁVEIS AVALIADAS

Realizou-se avaliação com coleta destrutiva no experimento que foi conduzido até o estágio de florescimento. Nesta etapa, foram mensuradas as seguintes variáveis: diâmetro de colmo (DC); comprimento de plantas (CP); comprimento de folhas (CF); número de folhas (NF); número de perfilhos viáveis (NP); número de espigas (NE); comprimento de espigas (CE) e teor relativo de clorofila (índice SPAD). Em seguida, as plantas foram seccionadas em: raiz, colmo + bainha, folhas e estruturas reprodutivas (espigas), e submetidas à desidratação em estufas de circulação de ar forçado à temperatura de 65°C, por 72 horas. As amostras foram pesadas em balança de precisão do tipo capela, obtendo-se as variáveis de massa de matéria seca de folhas (MSF),

massa de matéria seca de colmo + bainha (MSCB), massa de matéria seca de espigas (MSE), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR).

Decorridas seis semanas da implantação do experimento, no início do estágio de emborrachamento, do experimento que foi conduzido até a maturação dos grãos, foram realizadas avaliações semanais não destrutivas, sendo feitas sete mensurações semanalmente, das seguintes variáveis: comprimento de plantas, com auxílio de régua; e teor relativo de clorofila (índice SPAD), com clorofilômetro portátil SPAD 502 plus da *Daminolta*.

No estágio de florescimento, do experimento que foi conduzido até a maturação dos grãos, foram mensuradas as trocas gasosas das folhas. Estas medidas foram realizadas no período da manhã, entre 09:00 e 11:00 h, sempre em folhas bandeiras, bem desenvolvidas e expostas à radiação solar, sem sinais de deficiência nutricional ou danos provocados por pragas ou patógenos. Para tanto, utilizou-se um aparelho portátil de medidas de trocas gasosas, IRGA LI-6400XT da LI-COR (Lincon, Nebraska – USA).

Por meio destas análises foram mensuradas as seguintes variáveis: A - Taxa de assimilação líquida de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E – Taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s – Condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i – Concentração interna de CO_2 ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); e CTI – temperatura foliar computadorizada. Foram ainda calculadas as razões: $WUE = A/E$ (eficiência no uso da água), $iWUE = A/g_s$ (eficiência intrínseca no uso da água) e $fc = A/C_i$ (eficiência instantânea de carboxilação).

Ao final do ciclo da cultura, no estágio de maturação de grãos, foram determinados os seguintes componentes da produção: número de espigas (NE), número de espiguetas por espiga (NEE), comprimento de espigas (CE), número de grãos (NG), massa de grãos (MG), massa de 100 grãos (M100), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) e índice de colheita (IC), calculado pela relação entre a massa de matéria seca de grãos pela massa de matéria seca de grãos + massa de matéria seca de parte aérea da planta.

3.6 TABULAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos das avaliações não destrutivas, mensuradas semanalmente, foram submetidos à análise de variância pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Em seguida, foi escolhido o modelo de regressão para cada variável, baseando-se na significância do coeficiente de regressão (teste *t-Student*) e a proporção da variância explicada pelas equações dos modelos foi dada pelo coeficiente de determinação.

As demais variáveis oriundas das avaliações destrutivas foram submetidas à análise de variância pelo teste F, e quando apresentaram diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Essas análises foram realizadas com auxílio do aplicativo computacional SISVAR (FERREIRA, 2010).

A partir dos dados obtidos dos dois experimentos foi realizada a correlação de Pearson, considerando o limite de 5% de probabilidade de erro. E por último, as médias foram submetidas ao teste de dissimilaridade de distância de Mahalanobis e a partir das distâncias foi gerado o dendograma pelo método de agrupamento Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), além deste também foi realizado o agrupamento pelo método de Tocher. O trabalho realizado teve 21 tratamentos, o método foi empregado a partir das médias dos tratamentos para cada uma das variáveis analisadas. Estas análises estatísticas foram realizadas com auxílio do aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 VARIÁVEIS MENSURADAS AO LONGO DO CICLO

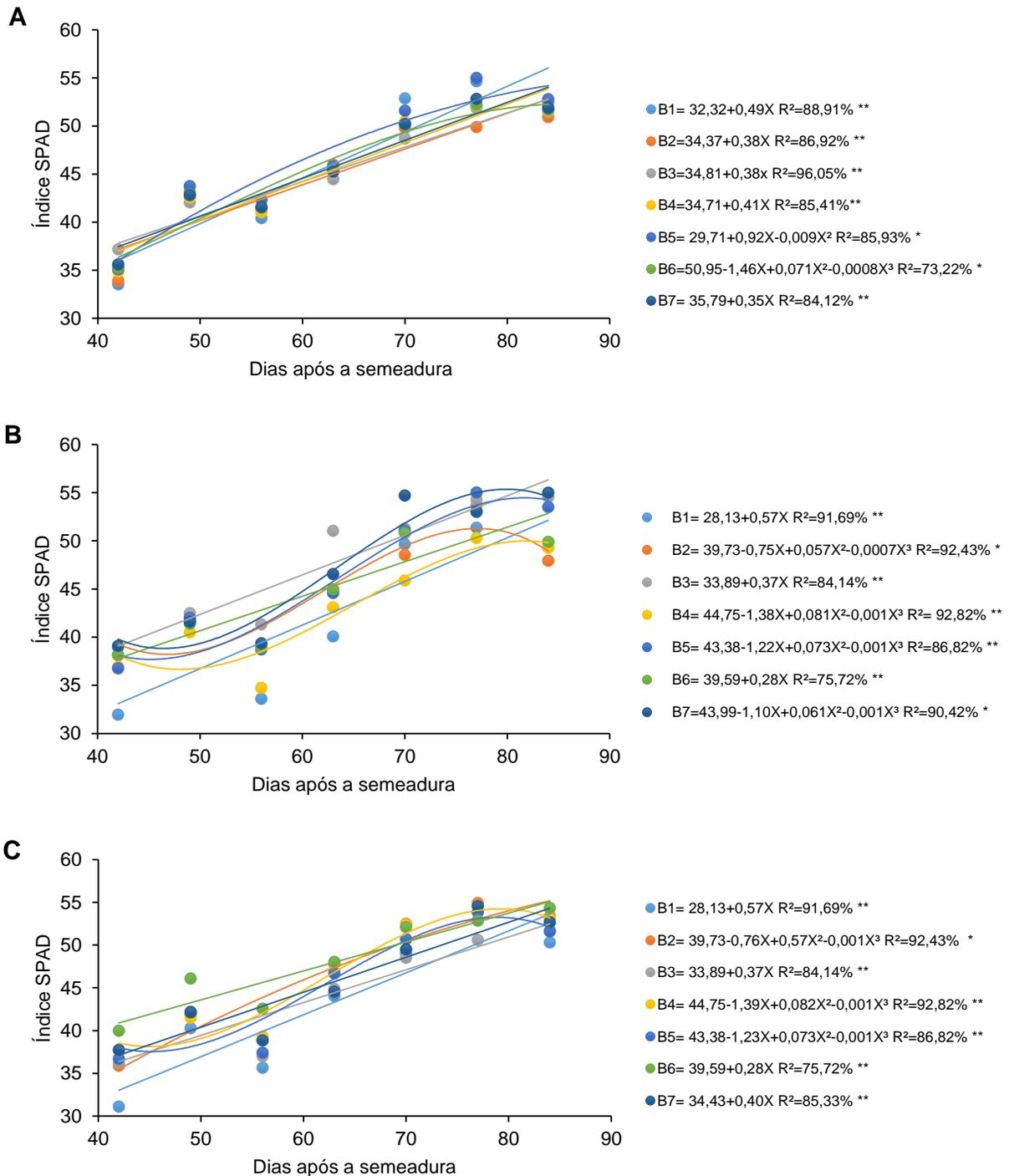
Diante das três doses de nitrogênio testadas, associadas a diferentes fontes de inoculação foi verificado para o índice SPAD, que este aumentou com o decorrer do ciclo da cultura do trigo.

Na figura 1 A está representado o gráfico da dose de 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, podendo ser observado o ajuste linear para a maioria das fontes de inoculação testadas, exceto para B5 e B6, que apresentaram ajustes polinomial quadrático e cúbico, respectivamente. Neste caso *E. adhaerens* (B5) e *B. ambifaria* (B6), podem ter apresentado estes ajustes por características próprias que podem ter influenciado o teor de clorofila das plantas de trigo com esta inoculação.

Quando feito uso de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio (Figura 1 B), foi verificado que para a estirpe utilizada como padrão, *A. brasilense* (B7), o ajuste para o índice SPAD foi polinomial cúbico, bem como para B2, B4 e B5. Para as demais fontes de inoculação o ajuste foi linear. Esses ajustes estão relacionados a resposta obtida pela fertilização nitrogenada somada a inoculação associada a planta, que pode ser muito diversificada.

Para a dose de 90 Kg ha⁻¹ (Figura 1 C), as fontes de inoculação B2, B4 e B5 apresentaram ajuste cúbico, enquanto que as demais, ajuste linear. Alguns autores afirmam que estas bactérias quando submetidas a maiores doses de nitrogênio pode ocasionar alterações na diversidade dessas, ou até mesmo, anulação do efeito da inoculação (REPKE et al., 2013).

Dessa forma, o índice SPAD se apresentou de forma crescente durante o desenvolvimento da cultura. Nesta variável, o nitrogênio é de fundamental importância, pois ele participa da síntese de proteínas, enzimas, co-enzimas, ácidos nucleicos e fitocromos, estes que fazem parte da composição da molécula de clorofila (COELHO, 2006). A absorção e acúmulo de nitrogênio podem atuar contribuindo com a síntese de clorofila nas folhas, conforme mencionado por Teixeira-Filho et al. (2013), podendo ser observado que o índice SPAD das plantas que recebem a inoculação, representa uma resposta fisiológica induzida por bactérias promotoras de crescimento (HUNGRIA et al., 2011).



*, **Significativo pelo teste T de Student $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$, respectivamente

B1 - Ausência de Inoculação; B2 - UFPRPALT2-24; B3 - *Pseudomonas chloraphis*; B4 - UFPRPALM1-131; B5 - *Ensifer adhaerens*; B6 - *Burkholderia ambifaria*; B7 - *Azospirillum brasilense*

Figura 1 - Índice SPAD de plantas de trigo submetidas à fertilização nitrogenada e inoculação. **A.** Índice SPAD de plantas na dose de 0 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação. **B.** Índice SPAD de plantas na dose de 45 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação. **C.** Índice SPAD de plantas na dose de 90 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação.

Os dados obtidos de comprimento de plantas (Figura 2), mostram que as plantas alcançaram seu ponto máximo por volta dos 80 dias após a semeadura do trigo.

Na dose de 0 Kg ha⁻¹ (Figura 2 A), os ajustes foram polinomiais cúbicos, indicando que todos os tratamentos cresceram até determinado momento e mantiveram sua estatura a partir deste.

Na associação da inoculação com a dose de 45 Kg ha⁻¹ (Figura 2 B), foi verificado para B2, B3, e B6 que apresentaram ajuste polinomial quadrático de suas equações. Para as demais fontes de inoculação testadas o ajuste foi polinomial cúbico.

Para a dose de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio (Figura 2 C), foram verificados diferentes ajustes, conforme a fonte de inoculação utilizada. O que pode ter ocorrido pela possível influência do nitrogênio nos mecanismos de atuação das bactérias, apresentando diferentes respostas.

Repke et al. (2013), relataram em seu estudo que a altura de plantas de milho foi influenciada pelas doses de nitrogênio, após as avaliações verificaram que após 60 dias o aumento da dose de nitrogênio não influenciou a altura de plantas.

Os ajustes observados para o comprimento de plantas para as doses de 45 e 90 Kg ha⁻¹, se ajustaram de forma quadrática para UFPRPALT2-21 (B3 – *P. chlororaphis*) e UFPRPALM3-87 (B6 – *B. ambifaria*). O gênero *Burkholderia* pode ser usado como biofertilizantes, e podem estar atuando na promoção de crescimento seja pela fixação de nitrogênio, liberação de ferro ou pela solubilização de fosfatos, para beneficiar culturas, de forma principal as cultivadas em solos de baixa fertilidade, sendo uma alternativa ecológica e/ou de importância econômica (COMPANT et al., 2008).

Já UFPRPALT1-131 (B4), UFPRPALT2-32 (B5 – *E. adhaerens*) e AbV5 (B7 – *A. brasilense*) apresentaram ajustes cúbicos nas doses com presença de nitrogênio. A utilização do *A. brasilense* em espécies de plantas da família Poaceae para incremento da produção é uma prática muito estudada, demonstrando as diversas respostas desta estirpe, favorecendo o incremento da produção de plantas que são inoculadas.

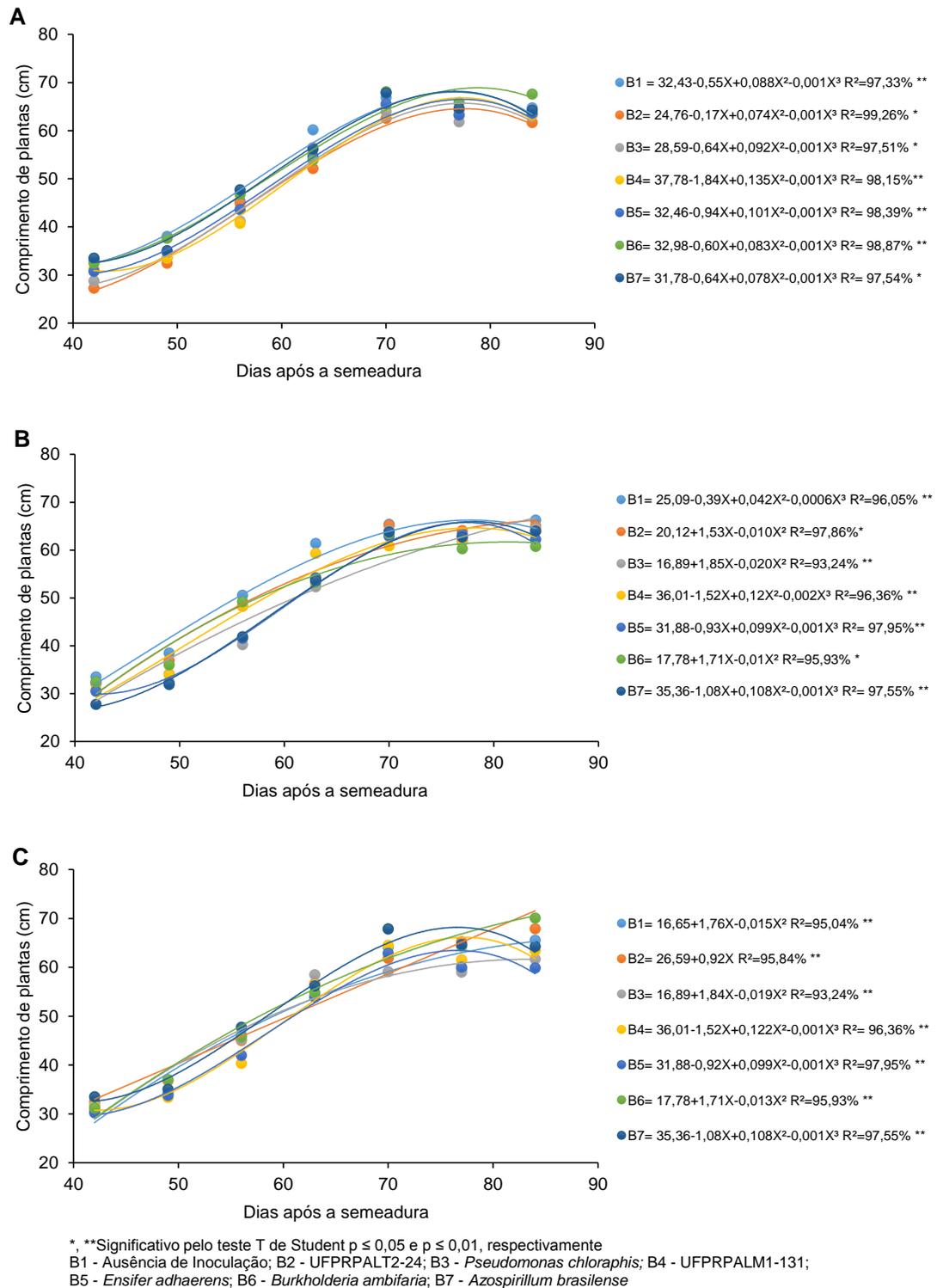


Figura 2—Comprimento de plantas de trigo submetidas à fertilização nitrogenada e inoculação. **A.** Comprimento de plantas na dose de 0 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação. **B.** Comprimento de plantas na dose de 45 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação. **C.** Comprimento de plantas na dose de 90 kg ha^{-1} com diferentes fontes de inoculação.

4.2 VARIÁVEIS MENSURADAS NO FLORESCIMENTO E MATURAÇÃO DE GRÃOS

A análise de variância das variáveis morfométricas da cultura do trigo, avaliadas no estágio de florescimento, diante dos fatores doses de nitrogênio (N) (0 Kg ha⁻¹ - 0%; 45 Kg ha⁻¹ - 50%; 90 Kg ha⁻¹ - 100%) e inoculação (controle sem inoculação, UFPRPALT2-24, UFPRPALT2-21, UFPRPALM1-131, UFPRPALT2-32, UFPRPALM3-87 e AbV5) são apresentados na tabela 1.

Ao se considerar o comprimento das plantas foi verificada diferença significativa somente dentro do fator inoculação, sendo que UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), foi superior à UFPRPALM1-131, mas não diferiu dos demais. UFPRPALM3-87 pode ter se destacado pela sua capacidade de realizar solubilização de fosfatos, que somada a outras características faz com que esta espécie atue como promotora de crescimento vegetal (COMPANT et al., 2008). No trabalho realizado por Ferreira et al. (2014), plantas que foram inoculadas com *Burkholderia* apresentaram comprimento de planta superior, quando comparada às plantas que foram inoculadas com outras espécies de bactérias.

Quanto ao número de perfilhos viáveis por planta, a diferença foi verificada para os tratamentos dentro do fator inoculação, o UFPRPALM1-131 se sobressaiu em relação às plantas controle. Porém, este não diferiu das demais fontes de inoculação utilizadas. O UFPRPALM1-131 pode ter levado ao incremento do número de perfilhos viáveis por planta por ser capaz de realizar a síntese fitohormônios, como a auxina (DALL'ÓGLIO-CHAVES, 2013), que está envolvida no controle do perfilhamento em trigo, interagindo com o nível de suprimento de assimilados (TERUEL; SMIDERLE, 1999).

A partir da análise de variância das variáveis de trocas gasosas (Tabela 2), foi verificada significância somente para a concentração interna de CO₂, que não mostrou diferença, mas quando realizado o desdobramento das médias, o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) foi superior em relação à UFPRPALT2-24 (dose 0 Kg ha⁻¹ de N). Ainda foi verificada diferença entre UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e AbV5, sendo o primeiro superior em relação a segundo, porém, não diferindo dos demais (dose 45 Kg ha⁻¹ de N).

O quadro da análise de variância dos componentes de produção, mostra que todas as variáveis com significância apresentaram interação entre os fatores testados (Tabela 3).

Tabela 1 – Análise de variância da avaliação no estágio de florescimento, para comprimento de plantas (CP), diâmetro (D), número de folhas (NF), comprimento de folhas (CF), comprimento de espigas (CE), número de perfilhos (NP), número de espigas (NE), índice SPAD (SPAD), número de perfilhos viáveis (NPV), massa de matéria seca de folhas (MSF), massa de matéria seca de colmo + bainha (MSCB), massa de matéria seca de espigas (MSE), massa de matéria seca de raiz (MSR) e relação raiz-parte aérea (R/PA), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

	CP	D	NF	CF	CE	NP	NE	SPAD	PV	MSF	MSCB	MSE	MSR	R/PA		
Nitrogênio	cm	mm		----- cm -----							----- g -----					
0 kg ha ⁻¹	55,92	2,89	3,11	13,43	7,66	18,71	15,93	49,08	85,02	2,34	7,88	7,49	2,99	17,41		
45 kg ha ⁻¹	56,28	2,86	3,13	12,35	7,46	16,89	14,11	50,14	82,52	2,47	7,23	7,76	2,88	17,63		
90 kg ha ⁻¹	55,29	2,86	3,06	12,69	7,47	17	14,36	48,4	83,83	2,65	7,25	8,59	2,5	13,85		
Inoculação																
Controle	56,63	ab	2,83	3,18	13,48	7,32	16,5	12,33	47,72	74,34	b	1,91	5,95	6,99	2,22	14,62
UFPRPALT2-24	58,09	ab	2,92	3,2	13,65	7,64	16,92	14,42	50,75	84,59	ab	3,47	9,74	10,6	3,14	13,48
UFPRPALT2-21	54,42	ab	2,83	3,08	11,65	7,39	15,83	13,33	45,92	83,14	ab	2,72	8,26	8,14	2,83	14,07
UFPRPALM1-131	52,82	b	2,75	3,12	11,3	7,2	16,58	14,67	50,97	89,09	a	2,02	5,86	7,33	2,66	18,06
UFPRPALT2-32	53,84	ab	2,83	3,02	12,68	7,29	18,58	15,33	47,92	82,5	ab	2,47	7,28	8,89	3,17	16,53
UFPRPALM3-87	59,72	a	3	2,93	14,12	8,26	19,83	17,42	49,88	86,8	ab	2,02	6,07	6,92	2,59	18,56
AbV5	55,66	ab	2,92	3,17	12,88	7,6	18,5	16,08	51,29	86,08	ab	2,79	6,65	7,27	2,92	18,75
F. de variação																
Nitrogênio (N)	0,27	0,1	0,51	1,34	0,77	1,07	1,04	0,42	0,41	4,45 *	0,81	5,3 *	12,1 *	16,91 *		
Isolado (I)	2,95 *	0,65	1,37	2,02	3,28 *	0,92	1,31	0,97	2,53 *	24,83 *	16,37 *	13,73 *	9,04 *	8,04 *		
N x I	1,55	0,9	0,64	1,03	2,34 *	1,13	1,29	1,24	1,66	24,99 *	13,75 *	13,56 *	12,88 *	5,95 *		
C.V. (%)	9,04	12,18	9,17	19,8	9,2	29,79	34,59	14,56	12,31	15,63	17,35	16,65	13,8	16,77		

* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*). AbV5 (*Azospirillum brasilense*). C.V. = coeficiente de variação.

Tabela 2 – Análise de variância da avaliação no estágio de florescimento para a análise de trocas gasosas, para taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), condutância estomática (*gs*), taxa de transpiração (*E*), concentração interna de CO₂ (*Ci*), temperatura foliar computadorizada (*CTI*), eficiência no uso da água (*WUE – A/E*), eficiência intrínseca no uso da água (*iWUE – A/gs*) e eficiência instantânea de carboxilação (*fc – A/Ci*), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>E</i>	<i>Ci</i>	<i>CTI</i>	<i>WUE</i>	<i>iWUE</i>	<i>fc</i>
Nitrogênio	$\mu\text{mol CO}_2$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\text{mmol H}_2\text{O}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	°C	<i>A/E</i>	<i>A/gs</i>	<i>A/Ci</i>
0 kg ha ⁻¹	20,31	0,78	8,01	302,83	28,05	2,65	29,31	0,07
45 kg ha ⁻¹	19,99	0,99	8,31	309,51	27,94	2,46	24,71	0,06
90 kg ha ⁻¹	21,08	0,88	8,49	306,44	27,89	2,58	25,52	0,07
Inoculação								
Controle	19,90	0,88	8,32	310,97	27,83	2,49	23,92	0,06
UFPRPALT2-24	20,17	0,90	8,47	311,24	27,81	2,46	23,60	0,06
UFPRPALT2-21	20,60	0,74	7,80	301,14	28,09	2,69	30,08	0,07
UFPRPALM1-131	20,54	1,16	8,53	312,19	27,70	2,43	23,29	0,07
UFPRPALT2-32	20,32	0,91	8,32	307,91	28,01	2,48	25,55	0,06
UFPRPALM3-87	20,60	0,80	8,27	300,19	28,17	2,70	29,52	0,07
AbV5	21,35	0,78	8,18	300,18	28,11	2,70	29,64	0,07
F. de variação								
Nitrogênio (N)	0,76	1,32	1,65	2,37	0,20	1,41	2,86	0,82
Isolado (I)	0,21	0,96	0,68	2,79 *	0,44	1,13	1,97	0,80
N x I	0,61	1,05	0,80	1,60	1,19	0,62	0,98	1,04
C.V. (%)	16,72	55,29	12,01	3,76	3,36	16,24	28,93	17,32

* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*). AbV5 (*Azospirillum brasilense*). C.V. = coeficiente de variação.

Tabela 3 – Análise de variância da avaliação no estágio de produção, para número de espigas (NE), número de espiguetas por espiga (NEE), comprimento de espigas (CE), número de grãos (NG), produção (PROD), massa de 100 grãos (M100), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA) e índice de colheita (IC), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

	NE	NEE	CE	NG	PROD	M100	MSPA	IC
Nitrogênio			--- cm ---			----- g -----		
0 kg ha ⁻¹	15,32	14,09	6,74	479,60	14,44	3,02	11,78	0,49
45 kg ha ⁻¹	17,43	14,71	6,95	447,82	14,02	3,00	14,92	0,49
90 kg ha ⁻¹	15,54	14,67	7,25	506,18	15,45	2,98	13,53	0,50
Inoculação								
Controle	15,00	15,17	7,23	414,08	13,28	2,95	13,64	0,50
UFPRPALT2-24	16,17	14,55	6,95	435,89	16,15	2,95	14,10	0,48
UFPRPALT2-21	17,00	14,35	6,75	427,36	12,36	3,10	12,43	0,46
UFPRPALM1-131	18,25	14,78	7,18	568,19	16,46	2,96	15,84	0,49
UFPRPALT2-32	14,92	13,52	6,84	508,52	15,08	3,06	12,80	0,49
UFPRPALM3-87	15,83	15,30	7,18	549,36	16,03	3,00	13,91	0,51
AbV5	15,50	13,77	6,72	441,56	13,11	2,99	11,15	0,51
F. de variação								
Nitrogênio (N)	1,37	1,17	3,79 *	7,18 *	2,23	0,28	2,87	0,05
Isolado (I)	0,62	1,88	1,16	14,36 *	4,99 *	0,75	1,09	2,18
N x I	1,42	1,46	1,93 *	16,08 *	6,57 *	0,92	1,49	3,23 *
C.V. (%)	32,59	12,69	9,97	12,08	17,89	7,73	36,59	8,03

* Significativo a 0,05 de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey. UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*). AbV5 (*Azospirillum brasilense*). C.V. = coeficiente de variação.

Diante das variáveis analisadas, as que apresentaram interação entre os fatores dose de N e fonte de inoculação ($P \leq 0,05$) no estágio de florescimento foram: massa de matéria seca de folhas, massa de matéria seca de colmo + bainha, massa de matéria seca de espigas, massa de matéria seca de raízes e comprimento de espigas.

Quando avaliada a massa de matéria seca de folhas (Tabela 4), considerando as fontes de inóculo que foram utilizadas na dose 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*), destacou-se diante dos demais inóculos, mas, não diferiu do tratamento controle e do UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*). A bactéria *P. chlororaphis*, pode ter levado ao incremento da massa de matéria seca de folhas pela sua capacidade de promoção de crescimento já conhecida, e possível suprimento da demanda de nitrogênio da planta (CHEN et al., 2015). E a *B. ambifaria* pode não ter diferido também por ser uma bactéria com potencial para a promoção do crescimento vegetal, pois é capaz de fixar nitrogênio, o que favorece o aumento na massa de matéria seca de folhas (BALDOTTO et al., 2014). A 45 Kg ha⁻¹ de fertilização

nitrogenada a AbV5 (*A. brasilense*) superou todos os demais inóculos utilizados, diferindo estatisticamente. Na dose correspondente a 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio o UFPRPALT2-24 destacou-se entre os demais, possivelmente pela sua capacidade de solubilizar fosfatos e produzir fitohormônios (DALL-ÓGLIO-CHAVES, 2013).

Quando analisadas as três doses de nitrogênio para massa de matéria seca de folhas, foi verificada diferença entre as doses para todas as fontes de inoculação. Para o controle a melhor dose de nitrogênio foi a de 0 Kg ha⁻¹. Enquanto que, para o UFPRPALT2-24 a dose superior foi a de 90 Kg ha⁻¹ diferindo estatisticamente das demais. Já para o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) e UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) a dose que se destacou foi a de 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada que por sua vez não diferiu da dose de 90 Kg ha⁻¹. O UFPRPALM1-131 foi igualmente superior nas doses de 0 e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferindo estatisticamente da dose de 50%. Isso que pode ser devido sua capacidade em realizar a promoção do crescimento pela solubilização de fosfatos, e/ou pela produção de fitohormônios (DALL'ÓGLIO-CHAVES, 2013). Para o UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) a dose superior foi a de 45 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, que não diferiu significativamente da dose 90 Kg ha⁻¹. E para a AbV5 (*A. brasilense*) a maior massa de matéria seca foi observada na dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferindo estatisticamente das demais doses testadas. Sendo que o incremento proporcionado pela *A. brasilense* pode ser pela capacidade em atuar promovendo o crescimento de plantas, por diversas formas (PEDRINHO et al., 2010).

Quando analisada a massa de matéria seca de colmo + bainha (Tabela 4) dentro da dose 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) foi superior as demais fontes de inoculação testadas, não diferindo estatisticamente do tratamento controle, do UFPRPALT2-24, do UFPRPALM1-131 e do UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*). A demanda de nitrogênio pode ter sido suprida pela fixação biológica de nitrogênio realizada por *B. ambifaria*, conforme relatado no trabalho realizado por Luvizotto et al. (2010), em que espécies do gênero *Burkholderia* foram estudadas, verificando que as espécies deste gênero apresentam a capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio. Na dose de correspondente à 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio o UFPRPALT2-24 e a AbV5 (*A. brasilense*) foram igualmente superiores as demais fontes de inóculo utilizadas, não diferindo apenas do UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*). E à 90 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, o UFPRPALT2-24 destacou-se das demais fontes de inóculo não diferindo significativamente do UFPRPALT2-21

(*P. chlororaphis*). O UFPRPALT2-24 conforme testes realizados sobre sua capacidade de promoção de crescimento, mostram que este possui capacidade de realizar tanto a síntese de fitohormônios bem como a solubilização de fosfatos (DALL'ÓGLIO-CHAVES, 2013), contribuindo para incremento da variável analisada.

Tabela 4 – Massa de matéria seca de folhas e de colmo + bainha de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Inoculação	Massa de matéria seca de folhas ----- g -----			Massa de matéria seca de colmo + bainha ----- g -----		
	Nitrogênio					
	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹
Controle	2,50 abA	1,57 cdB	1,67 cB	6,38 abA	5,47 cdA	6,01 bcA
UFPRPALT2-24	2,34 bC	3,03 bB	5,04 aA	8,04 abB	10,67 aA	10,52 aA
UFPRPALT2-21	3,20 aA	2,31 bcB	2,64 bAB	8,70 aA	7,84 bcA	8,26 abA
UFPRPALM1-131	2,22 bcA	1,52 cdB	2,33 bcA	6,95 abA	3,63 dB	7,01 bcA
UFPRPALT2-32	2,04 bcB	2,78 bA	2,58 bAB	6,01 bcB	8,76 abA	7,08 bcAB
UFPRPALM3-87	2,62 abA	1,45 dB	2,00 bcAB	8,60 abA	3,11 dB	6,52 bcA
AbV5	1,46 cC	4,65 aA	2,28 bcB	3,46 cB	11,11 aA	5,38 cB
C.V.%	15,63			17,35		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre diferentes bactérias, maiúscula na linha, para a comparação entre as doses de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), * UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), AbV5 (*Azospirillum brasilense*). C.V. = coeficiente de variação.

Levando em consideração as diferentes doses de nitrogênio aplicadas não foi verificada diferença entre as doses para controle e o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*). O UFPRPALT2-24 apresentou as maiores massas de matéria seca de colmo + bainha nas doses de 45 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferindo estatisticamente da dose 0%. Na inoculação com UFPRPALM1-131 e o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) foram observadas as maiores massas nas doses de 0 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferindo significativamente da dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. O UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) destacou-se na presença da dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio não diferindo estatisticamente da dose de 90 Kg ha⁻¹. E para a AbV5 (*A. brasilense*) a dose que se destacou foi a de 45 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, com diferença significativa para as demais doses. Dados estes que se assemelham aos encontrados por Didonet et al. (2000), que na mesma dose 45 kg ha⁻¹, aplicados no afilamento com inoculação de *A. brasilense*, obteve uma das maiores médias de massa de matéria seca de colmos.

Para massa de matéria seca de espigas (Tabela 5), a fonte de inoculação que se destacou na dose de 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio foi a UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*), com diferença significativa em relação ao UFPRPALT2-32 (*E. adharens*) e AbV5 (*A. brasilense*). Na dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio as melhores fontes de inoculação foram o UFPRPALT2-24, o UFPRPALT2-32 (*E. adharens*) e a AbV5 (*A. brasilense*), que diferiram significativamente dos demais inóculos utilizados. A 90 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, o UFPRPALT2-24 destacou-se e diferiu estatisticamente das demais fontes de inóculo utilizadas.

Os tratamentos que receberam inoculação foram os que mais se destacaram independente da dose de fertilização nitrogenada, sendo que o fator analisado está diretamente relacionado com a produção. Desta forma, essa resposta mostra a capacidade que as fontes de inóculo testadas apresentam, seja pela fixação biológica do nitrogênio, solubilização de fosfatos ou pela produção de fitohormônios (SILVA et al., 2012).

Tabela 5 – Massa de matéria seca de espigas e de raízes de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Inoculação	Massa de matéria seca de espigas ----- g -----			Massa de matéria seca de raízes ----- g -----		
	Nitrogênio					
	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹
Controle	7,87 abA	6,57 bA	6,52 cA	2,40 cA	1,68 dB	2,58 aA
UFPRPALT2-24	7,29 abcB	11,19 aA	13,31 aA	3,32 abA	3,04 bA	3,05 aA
UFPRPALT2-21	9,86 aA	3,32 bB	8,25 bcAB	3,50 abA	2,52 bcB	2,47 aB
UFPRPALM1-131	7,65 abA	4,76 bB	9,56 bA	3,57 aA	2,13 cdB	2,29 aB
UFPRPALT2-32	6,92 bcB	11,63 aA	8,12 bcB	2,69 bcB	4,36 aA	2,47 aB
UFPRPALM3-87	8,13 abA	3,74 bB	7,41 bcA	3,08 abcA	2,42 bcdB	2,27 aB
AbV5	4,69 cC	10,14 aA	6,98 bcB	2,37 cB	3,99 aB	2,41 aA
C.V.%	16,65			13,80		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre diferentes bactérias, maiúscula na linha, para a comparação entre as doses de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$),* UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), AbV5 (*Azospirillum brasilense*).C.V. = coeficiente de variação.

Em relação a dose de fertilização nitrogenada para cada inóculo, não foi verificada diferença entre as doses de nitrogênio para o tratamento controle. Para o UFPRPALT2-24 as doses 45 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio diferiram significativamente da 0 Kg ha⁻¹. O UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) na dose de 0 Kg

ha⁻¹, destacou-se dentre as demais doses de nitrogênio, mas não diferiu da dose de 90 Kg ha⁻¹. Já o UFPRPALM1-131 e o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), apresentaram as maiores massas de matéria seca de espigas à 0 Kg ha⁻¹ e à 90 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, diferindo da dose de 45 Kg ha⁻¹. A melhor dose de nitrogênio para o UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) foi a de 45 Kg ha⁻¹, diferindo significativamente das demais doses utilizadas.

A dose que se destacou com a inoculação utilizando a AbV5 (*A. brasilense*) foi a de 45 Kg ha⁻¹, que diferiu significativamente da dose de 0 e 90 Kg ha⁻¹. Didonet et al., (2000), quando avaliaram a massa de matéria seca de espigas, as diferenças foram verificadas apenas nos tratamentos com inoculação, sendo que quando o trigo foi inoculado com *A. brasilense* e recebeu a fertilização nitrogenada de 45 Kg ha⁻¹ no afilamento, correspondente a dose 50% de N, foi obtida a maior média do tratamento.

Para massa de matéria seca de raízes (Tabela 5), dentro de cada dose de fertilização nitrogenada, na dose correspondente a 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio a fonte de inóculo que se destacou foi o UFPRPALM1-131, que diferiu significativamente do tratamento controle, do UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e AbV5 (*A. brasilense*).

Para a dose de 45 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada as fontes de inóculo que se sobressaíram foram o UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e a AbV5 (*A. brasilense*), que diferiram estatisticamente dos demais inóculos utilizados. O *A. brasilense*, já conhecido pela sua capacidade de promoção de crescimento, possui como um dos mecanismos de promoção de crescimento a produção de fitohormônios, estes que quando presentes, estimulam a iniciação de raízes laterais, de raízes adventícias (TAIZ; ZEIGER, 2013) e pêlos radiculares (PICCININ et al., 2015). E à 90 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada não foi verificada diferença significativa entre as fontes de inóculo utilizadas.

Relacionado a qual a dose de nitrogênio apresentou maior massa de matéria seca de raízes para cada inóculo utilizado, para o tratamento controle a dose 0 Kg ha⁻¹ não diferiu estatisticamente da dose de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. Para o UFPRPALT2-24, não houve diferença entre as doses de nitrogênio testadas. O UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*), UFPRPALM1-131 E UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), se sobressaiu a dose 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, diferindo significativamente das demais doses, resultado este relacionado com sua capacidade de promoção de crescimento. Além disso *B. ambifaria* tem seu genoma muito similar a outra espécie deste gênero *B. cepacia*, que também é capaz de realizar a promoção

do crescimento de plantas (COENYE et al., 2010), sendo mais conhecida pelo mecanismo de solubilização de fosfatos (MORA; TORO, 2007).

Para o UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*), a dose de nitrogênio correspondente a 45 Kg ha⁻¹ foi superior, com diferença significativa em relação as doses de 0 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹, neste caso a dose que se destacou, quando realizada a inoculação com a AbV5 (*A. brasilense*) foi a de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, superando as demais doses testadas.

O comprimento de espigas (Tabela 6) na dose de nitrogênio de 0 Kg ha⁻¹, UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) foi superior, porém, este não diferiu de UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*). Para a dose referente a 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio não foi verificada diferença entre os isolados. Quando utilizada a dose de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, novamente UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) destacou-se, mas não diferiu do UFPRPALT2-24. Desta forma, *B. ambifaria* pode ter suprido a demanda inicial de nitrogênio (COMPANT et al., 2008), nutriente determinante para esta variável, fazendo com que o comprimento de espigas tenha se apresentado maior na presença desta bactéria.

Quando analisado cada isolado diante das doses de nitrogênio, o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) foi superior na dose de 45 Kg ha⁻¹, mas não diferiu estatisticamente de 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. E o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) nas doses 0 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferiram da dose de 45 Kg ha⁻¹.

Tabela 6 – Comprimento de espigas de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Inoculação	Comprimento de espigas (Florescimento) ----- cm -----			Comprimento de espigas (Maturação) ----- cm -----		
	Nitrogênio					
	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹
Controle	7,57 abA	7,21 aA	7,16 bA	6,94 abA	7,00 aA	7,75 aA
UFPRPALT2-24	7,36 abA	7,71 aA	7,85 abA	6,53 abA	6,95 aA	7,35 aA
UFPRPALT2-21	7,10 bAB	8,26 aA	6,80 bB	6,99 abA	6,43 aA	6,82 aA
UFPRPALM1-131	7,38 abA	6,90 aA	7,31 bA	6,97 abA	6,99 aA	7,56 aA
UFPRPALT2-32	7,58 abA	7,22 aA	7,06 bA	5,94 bB	7,11 aAB	7,47 aA
UFPRPALM3-87	8,76 aA	7,21 aB	8,81 aA	6,76 aA	7,05 aA	6,72 aA
AbV5	7,85 abA	7,69 aA	7,25 bA	6,03 bA	7,09 aA	7,04 aA
C.V.%	9,20			9,97		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre diferentes bactérias, maiúscula na linha, para a comparação entre as doses de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$),* UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), AbV5 (*Azospirillum brasilense*).C.V. = coeficiente de variação.

Das variáveis analisadas no estágio de maturação de colheita, a interação significativa foi verificada ($P \leq 0,05$) para os fatores: comprimento de espigas, relação raiz-parte aérea, índice de colheita, produção e número de grãos.

Em relação ao comprimento de espigas na maturação de colheita (Tabela 6), na dose 0 Kg ha⁻¹, UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) mostrou-se superior, diferindo de UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e AbV5 (*A. brasilense*). Lovaisa et al., (2015) quando realizaram a inoculação com *A. brasilense* e *Burkholderia vietnamensis*, não verificaram diferenças para as variáveis analisadas de produção. Não foi verificada diferença para as doses de 45 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio.

Quando a análise foi relacionada as fontes de inoculação nas três diferentes doses de N, verificou-se diferença estatística entre as doses de nitrogênio apenas para UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) apresentando a maior média no tratamento com 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, porém este não diferiu da dose de 45 Kg ha⁻¹.

Para a variável índice de colheita, (Tabela 7) foi verificado que na dose 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio a AbV5 (*A. brasilense*) se destacou, mas não diferiu do controle, UFPRPALT2-24 e UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*). Nas doses 45 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio não houve diferença.

Avaliando as doses de nitrogênio a UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) mostrou maior acréscimo na dose 45 Kg ha⁻¹ e não diferiu da dose de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. O UFPRPALM1-131 se sobressaiu na dose 90 Kg ha⁻¹, mas, não diferiu da dose de 45 Kg ha⁻¹. Já a AbV5 (*A. brasilense*) se destacou na dose 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, diferindo estatisticamente das doses 45 Kg ha⁻¹ e 90 Kg ha⁻¹, ou seja, apresentando maior incremento em comparação com a fertilização nitrogenada. Com isso, confirma-se que *A. brasilense* possui potencial para suprir a demanda de nitrogênio para o trigo. Didonet et al. (2000), quando inocularam trigo com *A. brasilense* verificaram para a variável índice de colheita, que a média foi superior em relação ao tratamento com ausência de inoculação.

Para a relação raiz-parte aérea (Tabela 7), dentro da dose de 0Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada a AbV5 (*A. brasilense*) se destacou em relação as demais fontes de inóculo utilizadas, mas, não diferiu do UFPRPALM1-131 e UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*). Lemos et al. (2013), relataram que quando realizaram a inoculação com *A. brasilense* na ausência de nitrogênio, o resultado foi semelhante ao somente a aplicação de nitrogênio, mostrando que essa espécie possui capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio. Na dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio o inóculo que

sobressaiu foi o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), que não diferiu estatisticamente do UFPRPALM1-131. E na dose de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio não foi verificada diferença estatística entre as fontes de inóculo utilizadas.

Tabela 7 – Índice de colheita e relação raiz parte aérea de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Inoculação	Índice de colheita			Relação Raiz – Parte Aérea		
	Nitrogênio					
	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹
Controle	51,50 abA	49,12 aA	50,29 aA	13,71 cA	13,51 cA	16,65 aA
UFPRPALT2-24	49,09 abcA	49,34 aA	46,83 aA	14,84 cA	14,72 cA	10,88 aA
UFPRPALT2-21	42,49 cB	51,60 aA	45,69 aAB	14,57 cA	14,88 cA	12,76 aA
UFPRPALM1-131	45,62 bcB	47,78 aAB	53,73 aA	20,78 abA	21,91 abA	11,48 aB
UFPRPALT2-32	48,46 bcA	49,90 aA	48,09 aA	18,25 abcA	17,14 bcA	14,21 aA
UFPRPALM3-87	51,06 abA	48,87 aA	54,09 aA	15,83 bcB	25,06 aA	14,79 aB
AbV5	57,14 aA	48,24 aB	48,26 aB	23,89 aA	16,22 bcB	16,16 aB
C.V.%	8,03			16,77		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre diferentes bactérias, maiúscula na linha, para a comparação entre as doses de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$),* UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), AbV5 (*Azospirillum brasilense*).C.V. = coeficiente de variação.

Relacionado as doses de nitrogênio para cada inóculo, não foi verificada diferença entre as doses para os tratamentos controle, UFPRPALT2-24, UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) e UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*). Quando Chen et al. (2015), analisaram o genoma de *P. chlororaphis*, foi confirmada a presença de genes relacionados a promoção de crescimento de plantas, como o gene da ACC-deaminase e da síntese de auxinas, sendo que estes autores afirmam que *P. chlororaphis* é segura e adequada para ser aplicada na agricultura como promotora de crescimento. O UFPRPALM1-131, destacou-se nas doses de 0 e 45 Kg ha⁻¹ que não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram de 90 Kg ha⁻¹. Para o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), a relação raiz-parte aérea foi superior na dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, diferindo das demais doses. E a AbV5 (*A. brasilense*), destacou-se a dose de 0Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, que diferiu estatisticamente da dose 45 e 90 Kg ha⁻¹.

Na tabela 8 para a variável produção, quando avaliada cada dose de nitrogênio isoladamente, relacionado a qual fonte de inóculo se destacou dentro de cada dose, pode-se observar que na dose 0Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, a única fonte de inoculação que não se sobressaiu foi a UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*). Na dose de 45 Kg ha⁻¹ os inóculos que se destacaram foram o UFPRPALT2-32 (*E.*

adharens) e UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*), que diferiram significativamente do tratamento controle e da AbV5 (*A. brasilense*).

Para a dose de 90 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, a maior produção foi verificada a partir da inoculação com UFPRPALT2-24, que não diferiu do UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) e do UFPRPALM1-131. Desta forma pode-se destacar que os inóculos testados que apresentaram produção superior, dentro das doses de nitrogênio, alguns destes já são conhecidos por sua capacidade de promoção de crescimento, como citados por Mariano et al. (2004).

Tabela 8 – Produção e número de grãos de plantas de trigo, em resposta à diferentes doses de nitrogênio e inoculação com diferentes isolados via semente, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Inoculação	Produção ----- g vaso ⁻¹ -----			Número de grãos		
	Nitrogênio					
	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹	0 Kg ha ⁻¹	45 Kg ha ⁻¹	90 Kg ha ⁻¹
Controle	12,74 aA	14,21 abA	12,91 bA	386,67 cA	434,42 bcdA	424,16 dA
UFPRPALT2-24	17,77 aA	11,32 bB	19,35 aA	606,67 aA	318,67 dA	382,33 dB
UFPRPALT2-21	6,19 bC	12,67 abB	18,23 abA	230,75 dC	403,00 cdA	648,33 aA
UFPRPALM1-131	17,92 aA	15,16 abA	16,31 abA	590,83 abAB	503,33 abcB	610,41 abA
UFPRPALT2-32	14,75 aA	17,04 aA	13,47 bA	479,94 bcA	554,91 abA	491,00 bcdA
UFPRPALM3-87	15,41 aA	17,53 aA	15,14 bA	510,00 abA	586,67 aA	551,41 abcA
AbV5	16,34 aA	10,19 bB	12,79 bAB	555,33 abA	333,75 dC	435,58 cdB
C.V.%	17,89			12,08		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, para a comparação entre diferentes bactérias, maiúscula na linha, para a comparação entre as doses de nitrogênio, não diferem pelo teste de Tukey (p≤0,05),* UFPRPALT2-21 (*Pseudomonas chlororaphis*), UFPRPALT2-32 (*Ensifer adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*Burkholderia ambifaria*), AbV5 (*Azospirillum brasilense*).C.V. = coeficiente de variação.

Relacionado a melhor dose para cada uma das fontes de inóculo utilizadas, não foi observada diferença estatística para os tratamentos controle, UFPRPALM1-131, UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*). O UFPRPALT2-24, apresentou produção superior nas doses de 0 e 90 Kg ha⁻¹ diferindo significativamente da dose de 45 Kg ha⁻¹. Para o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*), a dose que se destacou foi a de 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, que diferiu significativamente da dose de 0 e 45 Kg ha⁻¹. E a AbV5 (*A. brasilense*) se sobressaiu na dose 0 Kg ha⁻¹ de fertilização nitrogenada, mas, não diferiu estatisticamente da dose 90 Kg ha⁻¹. Isso mostra que o *A. brasilense*, quando associado a fertilização nitrogenada, atua favorecendo positivamente as características agrônomicas da cultura do trigo, além de contribuir com incremento no rendimento (PICCININ et al., 2013).

Quando analisado o número de grãos (Tabela 8), dentro de cada dose de nitrogênio, procurando saber qual a fonte de inóculo com maior número de grãos, pode-se observar que na dose de 0 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, o UFPRPALT2-24 destacou-se, diferindo significativamente do controle, do UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) e do UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*).

Dentro da dose de 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*) se sobressaiu, porém, não diferindo estatisticamente do UFPRPALM1-131 e do UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*). Em relação a número de grãos na dose 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio, o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*) destacou-se, mas, não diferiu significativamente do UFPRPALM1-131 e do UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*).

Para as diferentes doses de nitrogênio, não foi verificada diferença estatística entre doses para o controle, o UFPRPALT2-32 (*E. adhaerens*) e para o UFPRPALM3-87 (*B. ambifaria*). Para o UFPRPALT2-24 as doses 0 e 45 Kg ha⁻¹ de nitrogênio diferiram significativamente da dose 90 Kg ha⁻¹. Para o UFPRPALT2-21 (*P. chlororaphis*), destacaram-se as doses de 45 e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. Quando o inóculo foi o UFPRPALM1-131, a dose 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio apresentou número de grãos superior, porém, não diferiu da dose 0 Kg ha⁻¹. E para a AbV5 (*A. brasilense*) a dose de fertilização nitrogenada que se sobressaiu foi a de 0 Kg ha⁻¹, que por sua vez diferiu significativamente das doses 45 e 90 Kg ha⁻¹ de nitrogênio. Em contrapartida, Lemos et al., (2013) testando doses de N e inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas, obteve os melhores rendimentos para a variável número de grãos, quando inoculadas as sementes e fornecido acima de 50% da dose recomendada de nitrogênio, discordando com os resultados deste trabalho.

4.3 CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS ANALISADAS

Ao avaliar os valores de correlação, foram observadas um grande número de correlações significativas, porém uma parte destas já eram esperadas (Tabela 9).

Pode-se verificar correlação positiva entre as massas de matérias secas de colmo + bainha, espigas e raízes, indicando que quando uma das massas é maior, maior será a outra massa em questão. Vale destacar que para as variáveis de massa seca, as correlações foram verificadas ao nível de 1% de significância.

Foi verificada correlação significativa para massa de matéria seca de folhas com massa de matéria seca de colmo + bainha, massa de matéria seca de espigas,

massa de matéria seca de raízes, relação raiz parte aérea e com o número de grãos, sendo os coeficientes de correlação 0,86; 0,84; 0,59; -0,52 e -0,48 respectivamente. As correlações negativas com relação raiz parte aérea e número de grãos, demonstram que quanto maior a massa de matéria seca de folhas menor serão estas variáveis. Desta forma não sendo de interesse por estar envolvendo o número de grãos, variável determinante para a produção.

Para massa de matéria seca de colmo + bainha foi verificada a correlação com as variáveis: massa de matéria seca de espigas, massa de matéria seca de raízes e relação raiz parte aérea, com os coeficientes de 0,88; 0,65; e -0,65 respectivamente.

As correlações para massa de matéria seca de espigas foram verificadas com massa de matéria seca de raízes e com relação raiz parte aérea, apresentando os seguintes coeficientes de correlação: 0,60 e -0,66. A correlação negativa verificada com a relação raiz parte aérea, infere que quando maior as massas de matéria seca de colmo + bainha, de folhas e de espigas, menor será a relação raiz parte aérea.

O diâmetro se correlacionou com as variáveis número de espigas, comprimento de folhas, perfilhos viáveis, relação parte aérea/raiz e índice de colheita, tendo como coeficientes -0,46; -0,58; -0,46; -0,43 e -0,49, conforme a ordem das variáveis. Quando se leva em conta a correlação com número de espigas, comprimento de folhas e perfilhos viáveis, pode ser inferido que plantas com maior diâmetro apresentam estas variáveis reduzidas, pois, as plantas com maior diâmetro conseqüentemente apresentam um número de perfilhos reduzidos.

Número de espigas apresentou correlações com número de perfilhos, comprimento de plantas, comprimento de espigas, comprimento de folhas, perfilhos viáveis e índice de colheita, com coeficientes de 0,92; 0,56; 0,78; 0,63; 0,64 e 0,51 respectivamente. Variável número de perfilhos se correlacionou com comprimento de plantas, comprimento de espigas, comprimento de folhas e índice de colheita, apresentando os seguintes coeficientes de correlação: 0,64; 0,80; 0,69 e 0,45. As correlações verificadas para número de espigas e número de perfilhos, explicam que as variáveis a estas correlacionadas fazem entender que quanto maior o número de espigas e de perfilhos, maiores serão as variáveis a estes correlacionadas.

Para índice SPAD foi verificada a correlação com comprimento de espigas e com índice de colheita, exibindo como coeficientes 0,45 e 0,44. Comprimento de plantas estabeleceu correlação com comprimento de espigas, comprimento de folhas e relação parte aérea/raiz, com os respectivos coeficientes: 0,83; 0,73 e 0,48.

Tabela 9 – Valores de correlação com a inoculação com bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada na cultura do trigo, Marechal Cândido Rondon/PR, 2015

	MSF	MSCB	MSE	MSR	D	NE	NP	SPAD	CP	CE	CF	NF	PV	A/R	R/A	CEM	NEM	NG	M100	MSPA	IC	PROD	NEE	
MSF	1																							
MSCB	0,86**	1																						
MSE	0,84**	0,88**	1																					
MSR	0,59**	0,65**	0,60**	1																				
D	0,25	0,15	0,11	0,12	1																			
NE	0,16	0,08	0,12	0,21	-0,46*	1																		
NP	0,18	0,07	0,13	0,14	-0,34	0,92**	1																	
SPAD	0,18	0,21	0,09	0,21	0,09	0,35	0,36	1																
CP	0,26	0,30	0,22	0,08	-0,34	0,56**	0,64**	0,29	1															
CE	0,14	0,23	0,08	0,03	-0,42	0,78**	0,80**	0,45*	0,83**	1														
CF	-0,03	0,03	0,00	0,02	-0,58**	0,63**	0,69**	0,17	0,73**	0,72**	1													
NF	0,12	0,17	0,23	0,16	0,15	-0,32	-0,31	0,01	-0,03	-0,34	-0,08	1												
PV	0,06	0,09	0,08	0,31	-0,46*	0,64**	0,28	0,18	0,07	0,33	0,14	-0,19	1											
A/R	-0,08	0,11	0,07	0,18	-0,43*	0,34	0,40	0,38	0,48*	0,53*	0,61**	-0,15	0,08	1										
R/A	-0,52*	-0,65**	-0,66**	0,00	-0,14	0,16	0,08	0,04	-0,16	-0,10	0,00	-0,14	0,26	-0,04	1									
CEM	0,25	0,25	0,35	0,09	0,27	-0,20	-0,24	-0,03	-0,04	-0,11	-0,21	-0,25	0,01	0,00	-0,33	1								
NEM	0,37	0,42	0,42	0,30	0,20	-0,13	-0,23	-0,12	-0,09	-0,15	-0,46*	0,05	0,17	-0,22	-0,10	0,53*	1							
NG	-0,48*	-0,41	-0,36	-0,17	-0,18	0,07	-0,06	0,27	-0,37	-0,09	-0,04	-0,14	0,28	-0,02	0,28	-0,10	-0,38	1						
M 100	0,15	-0,01	-0,10	-0,08	0,40	0,00	0,14	0,00	-0,12	0,02	-0,23	-0,23	-0,33	-0,17	-0,14	-0,34	-0,28	0,00	1					
MSPA	0,23	0,34	0,38	0,11	0,21	-0,24	-0,29	0,11	-0,12	-0,13	-0,38	-0,08	0,02	0,05	-0,26	0,75**	0,80**	-0,08	-0,30	1				
IC	-0,37	-0,32	-0,29	-0,35	-0,49*	0,51*	0,45*	0,44*	0,31	0,53*	0,48*	-0,18	0,33	0,50*	0,14	-0,18	-0,39	0,31	-0,23	-0,15	1			
PROD	-0,15	-0,21	-0,09	-0,10	-0,15	0,18	0,11	0,39	-0,12	0,01	0,15	-0,05	0,19	0,04	0,16	-0,05	-0,37	0,82**	-0,01	-0,05	0,21	1		
NEE	0,22	0,20	0,23	0,10	0,12	-0,27	-0,28	-0,20	0,12	-0,13	-0,13	0,04	-0,13	-0,16	-0,14	0,75**	0,59**	-0,15	-0,33	0,62**	-0,43*	-0,05	1	

** , * Significativo pelo teste *T-student* $p \leq 0,01$ e $\leq 0,05$ respectivamente. Massa de matéria seca de folhas (MSF), Massa de matéria seca de colmo + bainha (MSCB), Massa de matéria seca de espigas (MSE), Massa de matéria seca de raiz (MSR), Diâmetro (D), Número de espigas (NE), Número de perfilhos (NP), Índice de clorofila (SPAD), Comprimento de plantas (CP), Comprimento de espigas (CE), Comprimento de folhas (CF), Número de folhas (NF), Perfilhos viáveis (PV), Relação parte aérea/raiz (A/R), Relação raiz/parte aérea (R/A), Comprimento de espigas maturação (CEM), Número de espigas (NEM), Número de grãos (NG), Massa de 100 grãos (M100), Massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), Índice de colheita (IC), Produção (PROD) e Número de espiguetas por espiga (NEE), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

Comprimento de espigas teve correlação com comprimento de folhas, relação parte aérea/raiz e índice de colheita, com os respectivos coeficientes 0,72; 0,53 e 0,53. Comprimento de folhas se correlacionou com relação parte aérea/raiz, número de espigas (maturação) e índice de colheita, apresentando os respectivos coeficientes de correlação: 0,61; -0,46 e 0,48. Pode ser entendido por meio destas correlações, que as plantas apresentaram crescimento proporcional de suas estruturas, o que pode explicar esta situação.

A relação parte aérea/raiz se correlacionou com índice de colheita, obtendo o coeficiente de 0,50. Para comprimento de espigas (maturação) foi observada correlação com número de espigas (maturação), massa de matéria seca de parte aérea e número de espiguetas por espiga, com os coeficientes de 0,53; 0,75 e 0,75.

O número de espigas (maturação) correlacionou-se com massa de matéria seca de parte aérea e com número de espiguetas por espiga com os coeficientes de 0,80 e 0,59, seguindo a ordem de descrição. O número de grãos apresentou correlação com a variável produção, estabelecendo um coeficiente de 0,82. A massa de matéria seca de parte aérea e índice de colheita tiveram correlação com número de espiguetas por espiga, apresentando os coeficientes de 0,62 e -0,43, respectivamente.

Conforme citado por Figueiredo-Filho e Silva Jr. (2009), os coeficientes de correlação apresentam uma classificação, sendo que o coeficiente de 0,10 até 0,30 (fraco), 0,40 a 0,6 (moderado) e de 0,7 à 1 (forte).

De modo geral quando analisadas as correlações das variáveis analisadas tanto no estágio de florescimento, bem como as do estágio de maturação de colheita, os coeficientes variaram de moderados a fortes. Sendo que as correlações verificadas em sua grande maioria já eram esperadas, como as verificadas entre as massas de matéria seca.

Vários autores encontraram correlações entre os componentes de produção de grãos, conforme foi verificado por Lemos et al., (2013) em plantas de trigo com tratamentos com inoculação, no qual a massa de 1000 grãos se correlacionou com número de espiguetas por espiga e comprimento de espigas. Correlações entre componentes de produção também foram verificadas por Muller et al. (2012) e Dalchiavon et al. (2012). Essas correlações auxiliam na explicação das respostas de produção de grãos, relacionadas a determinadas culturas e os tratamentos utilizados em cada experimento. Desta maneira, esperava-se comportamento semelhante neste

estudo, contudo isso não foi verificado, exceto para a correlação entre número de grão e produção.

Sendo que as correlações estabelecidas de índice SPAD com comprimento de espigas e índice de colheita, mostram que o teor de clorofila está diretamente relacionado com essas variáveis, que estão ligadas a produção final. O teor de clorofila na planta está relacionado a um processo vital para uma boa produtividade, a fotossíntese. A maior capacidade fotossintética resulta em maior acúmulo de fotoassimilados refletindo em uma maior produção. Conforme Teruel e Smiderle (1999), cerca de 90 à 95% do carboidratos nos grãos são derivados da fixação de CO₂, a fotossíntese durante a fase de formação das espigas pode influenciar profundamente a produtividade, pelos seus efeitos sobre os componentes da capacidade de armazenamento.

4.4 MÉTODOS DE AGRUPAMENTO

Foram utilizados dois métodos de agrupamento, sendo eles o método de agrupamento UPGMA, pela distância de Mahalanobis e o método de Tocher. Os agrupamentos foram utilizados com a finalidade de agrupar os tratamentos semelhantes e separá-los dos tratamentos que se destacaram dos demais.

Métodos de agrupamento são utilizados em alguns trabalhos com bactérias promotoras de crescimento, na maioria dos casos em ensaios moleculares (SILVA; MELLONI, 2011), em alguns trabalhos para agrupamentos diante de testes bioquímicos ou baseados em características morfológicas (NÓBREGA et al., 2004). Com a finalidade de agrupar tratamentos os métodos do Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) e o método de Tocher, ambos baseados na dissimilaridade expressa pela distância de Mahalanobis, também foi utilizado por Baldotto et al. (2010).

Para a avaliação do método UPGMA, foi realizado um corte à 70%, obtendo-se a formação de três grupos (Figura 3). O primeiro grupo ficou composto pela maioria dos tratamentos que apresentaram resultados similares para as variáveis analisadas. O segundo grupo ficou composto por quatro tratamentos: B2N50 (UFPRPALT2-24 + 45 Kg ha⁻¹ de N), B3N0 (*P. chlororaphis* + 0 Kg ha⁻¹ de N), B7N50 (*A. brasilense* + 45 Kg ha⁻¹ de N) e B5N50 (*E. adhaerens* + 45 Kg ha⁻¹ de N). E o terceiro grupo ficou constituído pelo tratamento B2N100 (UFPRPALT2-24 + 90 Kg ha⁻¹ de N).

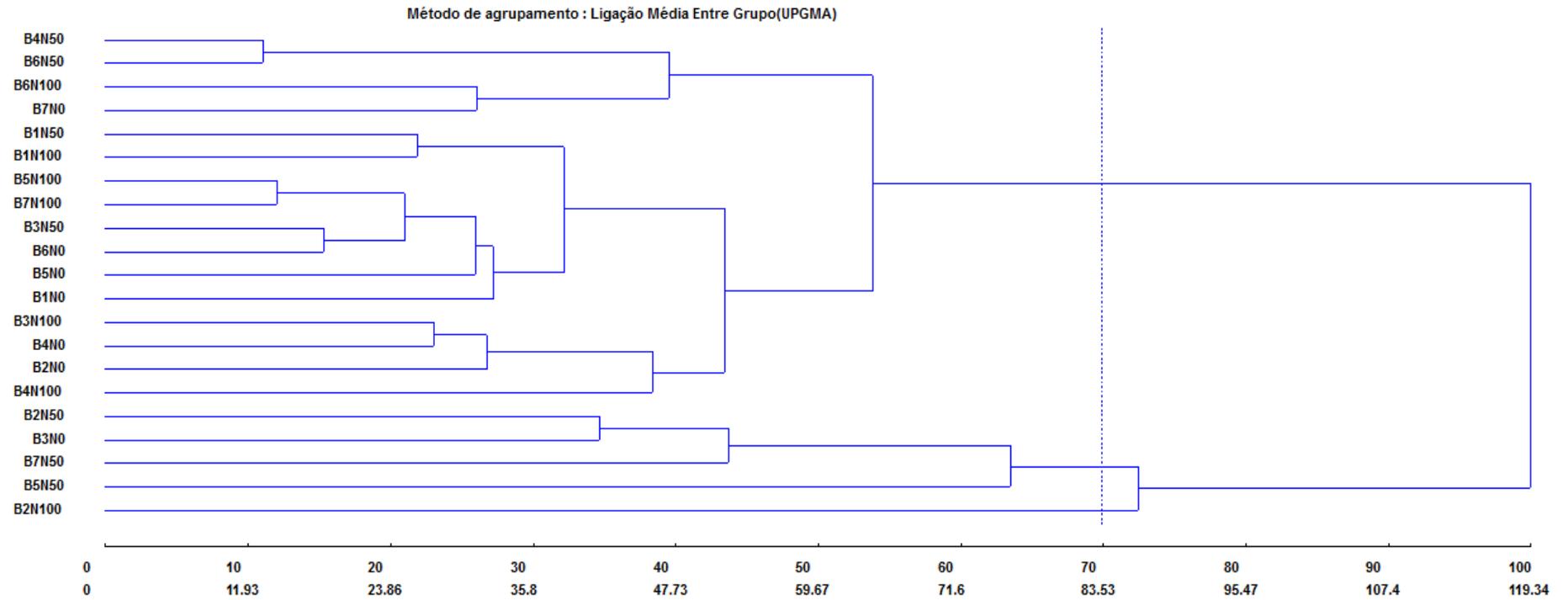


Figura 3 – Dendrograma das médias das variáveis morfométricas, baseado na análise de dissimilaridade de Mahalanobis, GENES (CRUZ, 2008) agrupado pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), Marechal Cândido Rondon/PR, 2015.

No método de agrupamento por Tocher foram formados cinco grupos (Tabela 10). O primeiro e grande grupo se constituiu por 15 dos 21 tratamentos. O grupo II possui como membros os tratamentos 5 (B2N50 – UFPRPALT2-24 + 45 Kg ha⁻¹ de N), 7 (B3N0 – *P. chlororaphis* + 0 Kg ha⁻¹ de N) e 20 (B7N50 – *A. brasilense* + 45 Kg ha⁻¹ de N). O grupo III tem como componente o tratamento 14 (B5N50 – *E. adhaerens* + 45 Kg ha⁻¹ de N). Já o grupo IV ficou composto pelo tratamento 6 (B2N100 – UFPRPALT2-24 + 90 Kg ha⁻¹ de N). E o grupo V é constituído pelo tratamento 19 (B7N0 – *A. brasilense* + 0 Kg ha⁻¹ de N).

Tabela 10 – Grupos de tratamentos estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, baseado na dissimilaridade expressa pela distância de Mahalanobis.

Grupo	Tratamento*
I	11, 17, 10, 15, 16, 21, 8, 13, 9, 12, 18, 2, 3, 4, 1
II	5, 7, 20
III	14
IV	6
V	19

Tratamentos: 1-B1N0; 2-B1N50; 3-B1N100; 4-B2N0; 5-B2N50; 6-B2N100; 7-B3N0; 8-B3N50; 9-B3N100; 10-B4N0; 11-B4N50; 12-B4N100; 13-B5N0; 14-B5N50; 15-B5N100; 16-B6N0; 17-B6N50; 18-B6N100; 19-B7N0; 20-B7N50; 21-B7N100.

Observou-se que os tratamentos presentes nos grupos II, III, IV e V diferiram dos tratamentos controle, com a ausência de inoculação.

A utilização destas análises possibilitou a conclusão de que as bactérias inoculadas mostraram divergências na promoção do crescimento nas plantas de trigo inoculadas e submetidas a diferentes doses de nitrogênio.

Diante dos resultados obtidos, é de grande relevância a realização do sequenciamento das bactérias UFPRPALT2-24 e UFPRPALM1-131, por apresentarem alguns resultados promissores no presente estudo.

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados expostos no trabalho, pode-se concluir que:

- As bactérias testadas foram capazes de atuar como promotoras de crescimento na cultura do trigo;
- As bactérias utilizadas como fontes de inóculo apresentam potencial para a promoção de crescimento quando em associação com doses de fertilização nitrogenada;
- Quando as bactérias foram comparadas com o *Azospirillum brasilense*, foi verificado o comportamento de forma igual ou superior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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, p. 349-360, 2010.
- BALDOTTO, L. E. B. et al. Performance of pineapple slips inoculated with diazotrophic phosphate-solubilizing bacteria and rock phosphate. **Revista Ceres**, v. 61, n.3, p. 414-423, 2014.
- BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e coinoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 01-07, 2009.
- BASHAN, Y; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 591-608, 1990,
- BERGAMASCHI, C. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 727-733, 2007.
- BERGOTTINI, V. M. et al. Bio-inoculation of yerba mate seedlings (*Ilex paraguariensis* St.Hill.) with native plant growth-promoting rhizobacteria: a sustainable alternative to improve crop yield. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 6, p. 749-755, 2015.
- BOTTINI, R. et al. Identification of gibberellins A1, A3 and Iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 10, n. 1, p. 45–47, 1989.
- 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.
- CARDOSO, S. M. et al. Fontes e parcelamento do nitrogênio em cobertura, na cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.6, n.1, p.23-28, 2011.
- 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.
- CHEN, Y. et al. Comparative genomic analysis and phenazine production of *Pseudomonas chlororaphis*, a plant growth-promoting rhizobacterium. **Genomics Data**, v. 4, p. 33-42, 2015.
- COELHO, M. A. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10p. (Embrapa – CNPAB. Circular Técnica, 78).
- COENYE, T. et al. *Burkholderia ambifaria* sp. nov., a novel member of the *Burkholderia cepacia* complex including biocontrol and cysticfibrosis-related isolates. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.1481–1490, 2001.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: Grãos**, v. 3- Safra 2015/16 - Primeiro levantamento, Outubro 2015. Brasília: CONAB, 2015 p. 1-104.

COMPANT, S. et al. Diversity and occurrence of *Burkholderia* spp. in the natural environment. **FEMS Microbiology Reviews**, v.32, p. 607–626, 2008.

COODETEC – Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola. **Guia de Produtos 2014: Região Sul**, 2014, 27p.

CORRÊA, É. B. et al. Controle biológico da podridão radicular (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento por *Pseudomonas chlororaphis* 63-28 e *Bacillus subtilis* GB03 em alface hidropônica. **Summa phytopathologica**, v. 36, n. 4, p. 275-281, 2010.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**– diversidade genética. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2008, v. 1, 278 p.

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

DALCHIAVON, F. C. et al. Correlação linear entre componentes da produção e produtividade do arroz de terras altas em sistema plantio direto. **Semina**, v. 33, n. 5, p. 1629-1642, 2012.

DALL'ÓGLIO-CHAVES, E. I. **Diversidade de bactérias endofíticas obtidas de solos do oeste do Paraná usando milho e trigo como planta isca**. 2013. 133f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia. Marechal Cândido Rondon-PR, 2013.

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

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.

DÖBEREINER, J. et al. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1995, 60p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, **Trigo**, Londrina: Embrapa Soja, 2015, Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/trigo1>>, Acesso em: 9 nov. 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO, **Statistical yearbook: World Food and Agriculture**, FAO: Roma, 2013, 289p.

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

FERREIRA, J. S. et al. **Avaliação de duas variedades de trigo inoculadas com bactérias diazotróficas na ausência ou presença de doses de N-fertilizante, em condições de casa-de-vegetação**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2010. 20p.

FERREIRA, E. P. B. et al. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 655-665, 2014.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA-JR, J. A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r^*). **Revista Política Hoje**, v. 18, n.1, p. 115-146, 2009.

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

GANESHAN, G.; KUMAR, A. M. *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. **Journal of Plant Interactions**, v. 1, p. 123-134, 2005.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v. 2012, Article ID 963401, p. 15, 2012.

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.

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

ILYAS, N.; BANO, A. *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.46, p. 393–406, 2010.

JIAO, Z. et al. Characterisation of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* strain Pa40 with the ability to control wheat sharp eyespot disease. **Annals of Applied Biology**, v.163, n. 3, p. 444–453, 2013.

JORDÃO, L. T. et al. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: **XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**. 13 à 17 de setembro de 2010, Sociedade Brasileira de Ciência, 2010.

KUSS, A. V. et al. Inoculação de bactérias diazotróficas e desenvolvimento de plântulas de arroz irrigado em solução nutritiva e câmara de crescimento, **Revista FZVA**, v. 14, n. 2, p. 23-33, 2007.

LEMOS, 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.

LIRA-CADETTE, L. et al. Variabilidade genética de bactérias diazotróficas associadas a plantas de cana-de-açúcar capazes de solubilizar fosfato inorgânico. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 122-129, 2012.

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.

LOVAISA, N.C. et al. Response of strawberry plants inoculated with *Azospirillum* and *Burkholderia* at field conditions. **Revista agronómica del noroeste argentino**, v.35, n.1, p. 33-36, 2015.

LUVIZOTTO, D. M. et al. Genetic diversity and plant-growth related features of *Burkholderia* spp. from sugarcane roots. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 26, p. 1829-1836, 2010.

MACHADO, H. B. et al. The ntrBC genes of *Azospirillum brasilense* are part of nifR3-like-ntrB-ntrC operon and are negatively regulated. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 674-684, 1995.

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

MARIANO, R. L. R. et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável, **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, vol. 1, p. 89-111, 2004.

MARRA, L. M. et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant Soil**, n. 357, p. 289–307, 2012.

MORAIS, R. F. et al. Contribution of biological nitrogen fixation to elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.), **Plant Soil**, v. 356, p. 23-34, 2012.

MORA, E.; TORO, M. Estimulación del crecimiento vegetal por *Burkholderia cepacia*, uma cepa nativa de suelo ácidos de sabanas venezolanas. **Agronomía Tropical**, v. 57, n. 2, p. 123-128, 2007.

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

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

MULLER, L. et al. Correlações de Pearson e canônica entre componentes da matéria seca da forragem e sementes de azevém. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p.086-093, 2012.

NÓBREGA, R. S. A. et al. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 269-279, 2004.

PEDRAZA, R. O. et al. Aromatic amino acid aminotransferase activity and índole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bactéria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, p. 15-21, 2004.

PEDRINHO, E. A. N. et al. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.

PICCININ, G. G. et al. Rendimento e desempenho agrônômico da cultura do trigo em manejo com *Azospirillum brasilense*. **Revista Agrarian**, v. 6, n. 22, p. 393-401, 2013.

PICCININ, G. G. et al. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de biorregulador. **Informativo ABRATES**, v. 25.n. 1, p. 30-38, 2015.

REIS, V. M. **Uso de bactérias de nitrogênio inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 14p.

REIS-JUNIOR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p. 1139-1146, 2008.

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.

ROESCH, L. F. et al. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1201-1204, 2005.

ROGEL, M. A. et al. Nitrogen-fixing nodules with *Ensifer adhaerens* harboring *Rhizobium tropici* symbiotic plasmids. **Applied and environmental microbiology**, v. 67, n. 7, p. 3264–3268, 2001.

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.

SANGOI, L. et al. Características agrônômicas de cultivares de trigo em resposta à época da adubação nitrogenada de cobertura. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1564-1570, 2007.

SANGOI, L. et al. Disponibilidade de nitrogênio, sobrevivência e contribuição dos perfilhos ao rendimento de grãos do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 183-191, 2011.

SANTOS, I. B. et al. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 142-149, 2012.

SILVA-FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 311-319, 2000.

SILVA, M. O et al. Isolamento e prospecção de bactérias endofíticas e epifíticas na cana-de-açúcar em áreas com e sem cupinicida. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p.1113-1121, 2012.

SILVA, T. F.; MELLONI, R. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas não simbióticas em solos da reserva biológica serra dos toledos, Itajubá (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 359-371, 2011.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, Minas Gerais: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 215-252.

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

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

TERUEL, D. A.; SMIDERLE, O. J. Trigo. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca**. São Paulo: Nobel, 1999. p. 13-40.

VOGEL, G. F. et al. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: importâncias e resultados. **Agropecuária científica no semiárido**, v. 10, n. 1, p. 01-06, 2014.

YOUNG, J. M. *Sinorhizobium* versus *Ensifer*. May a taxonomy subcommittee of the ICSP contradict the Judicial Commission. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 1711-1713, 2010.

ZUFFO, A. M. et al. Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.