

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SEMENTES



Tese

**PRODUÇÃO, QUALIDADE FISIOLÓGICA E INDUSTRIAL DE SEMENTES DE
TRIGO: ASSOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasiliense* COM NITROGÊNIO**

Ewerton Gewehr

Pelotas, 2018
Ewerton Gewehr

**PRODUÇÃO, QUALIDADE FISIOLÓGICA E INDUSTRIAL DE SEMENTES DE
TRIGO: ASOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasiliense* COM NITROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Sementes).

Orientadora: Prof. Dra. Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Co-orientador: Prof. Dr. Luciano do Amarante

Co-orientador: Prof. Dr. José Antonio Gonzalez da Silva

Pelotas, 2018

Ewerton Gewehr

**PRODUÇÃO, QUALIDADE FISIOLÓGICA E INDUSTRIAL DE SEMENTES DE
TRIGO: ASOCIAÇÃO DE *Azospirillum brasiliense* COM NITROGÊNIO**

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciências,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de
Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 20 de julho de 2018.

Banca examinadora:

.....
Dra. Andreia da Silva Almeida
(FAEM/UFPEL)

.....
Dra. Andrea Bicca Noguez Martins
(FAEM/UFPEL)

.....
Prof. Dra. Aline Ritter Curti
(FAEM/UFPEL)

.....
Prof. Dr. Luciano do Amarante
(FAEM/UFPEL)

.....
Prof.Dr. Daniel Ândrei Robe Fonseca
(UNIPAMPA)

.....
Prof. Dra. Lilian Vanusa Madruga de Tunes
(FAEM/UFPEL, Orientadora)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Elton Rudi Gewehr e Tânia Maria Gewehr a minha esposa Maristela dos Santos Gewehr e a meu irmão Elton Gewehr Junior e demais familiares, que contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por esta sempre do meu lado concebendo proteção e sabedoria, para vencer as dificuldades e os obstáculos da vida.

Aos meus pais, Elton Rudi Gewehr e Tânia Maria Gewehr, por todo amor, dedicação e carinho, por terem me apoiado em mais uma etapa da minha vida, sempre estando presente em todos os momentos da minha caminhada até aqui, meu muito obrigado.

A minha esposa Maristela dos Santos Gewehr, por estar sempre ao meu lado me dando apoio em todos os momentos desta caminhada, sempre disposta a me ajudar, pelo amor, carinho, compreensão e pela paciência nos momentos difíceis. Meu muito obrigado meu amor.

A meu irmão por estar sempre presente na minha vida, disposto a ajudar nas horas em que solicitei, pelo companheirismo e amizade que sempre esteve presente.

A Professora amiga e orientadora Dra. Lilian Madruga de Tunes, pela paciência, coerência, clareza e dedicação em seus ensinamentos sempre disposta a atender minhas necessidades e dúvidas.

Ao professor Dr. Luciano do Amarante pelos seus ensinamentos e apoio no decorrer do trabalho.

Aos colegas, Otávio de Oliveira Correa, Daniel Fonseca, Anna Suñé, Henrique Chagas, Luís Konzen, Gustavo Fonseca, Bruna Barreto dos Reis, Daniele Brandstetter Rodrigues e todos os estagiários do grupo de pesquisa, pela ajuda na realização do trabalho e acima de tudo pela amizade de todos.

A funcionárias e amiga do laboratório do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, pelos conhecimentos transmitidos e experiências repassadas ao longo do curso.

E a todos os colegas do programa pela amizade e companheirismo, e a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a conclusão desse trabalho.

À Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), pelo comprometimento com a pesquisa e com o desenvolvimento regional.

Ao professor Dr. José Antonio Gonzalez da Silva, pela paciência, coerência, clareza e dedicação em seus ensinamentos sempre disposto a atender minhas necessidades e dúvidas.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa de Sistemas Técnicos de Produção Animal e Vegetal do Curso de agronomia pelo incansável trabalho deste a implantação até a conclusão do experimento.

Aos funcionários do Instituto Regional de Desenvolvimento Rural (IRDeR), que não mediram esforços na execução e condução dos trabalhos.

Obrigado.

RESUMO

Gewehr, Ewerton. **Produção, qualidade fisiológica e industrial de sementes de trigo: associação de *azospirillum brasiliense* com nitrogênio** 2018. 82f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes estirpes da bactéria do gênero *Azospirillum* sp., associado com aplicação de doses de nitrogênio na cultura do trigo, e seu reflexo nos caracteres agrônômicos, qualidade fisiológica e industrial de sementes produzidas. O experimento foi constituído por delineamento de blocos casualizados, em um esquema fatorial duplo, 4x5 com quatro repetições, totalizando 80 unidades experimentais. Os tratamentos foram constituídos por quatro combinações de duas estirpes (ABv5 e ABv6) da bactéria *Azospirillum brasiliense* e cinco doses de nitrogênio: testemunha (zero); 30; 60; 90 e 120 Kg de nitrogênio por hectare. Foi realizado, a avaliação dos caracteres agrônômicos, qualidade fisiológica e industrial das sementes produzidas, durante o desenvolvimento da cultura será feita coleta de folhas para realização de análises bioquímicas. Verificou-se, que a inoculação com as estirpes ABb5 e ABv5 de forma isolada e associada, proporcionou incremento no peso e comprimento de espiga, assim como em um maior número de afilhos férteis quando comparado com a testemunha. A inoculação com as estirpes ABv5 e ABv6, tanto de forma isolada como associada, se destacaram em relação a testemunha para as variáveis peso hectolitro, peso de mil sementes e rendimento de grão. Para a primeira contagem de germinação, foi observado interação entre as doses e as formas de inoculação. As estirpes ABv5 e AVb6 tanto de forma isolada como associada proporcionaram melhores resultados para a germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, quando comparadas com a testemunha. Porém, quando a inoculação foi realizada com a associação das estirpes (ABv5 + ABv6), os resultados foram superiores aos demais tratamentos, evidenciando uma diferença média de 11 p.p para G, 15 p.p para EA e $6,68 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ para CE. Para essas mesmas variáveis, foi verificado que as diferentes doses de nitrogênio influenciaram positivamente,. Os dados de comprimento de parte aérea, raiz e total de plântulas e massa seca de parte aérea, raiz e total de plântulas, não diferiram estatisticamente em relação à inoculação as doses de nitrogênio aplicadas. Verificou-se que as estirpes da bactéria *Azospirillum brasiliense*, influenciaram positivamente o índice de clorofila foliar total, teor de nitrogênio na folha e teor de proteína quando aplicadas de forma isolada, no entanto, se obteve o melhor resultado quando as mesmas foram aplicadas de forma associada, também observou-se que para kg^{-1} de N aplicado, proporcionou incremento de 0,0223 no (ICFT) e $0,0286 \text{ g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de nitrogênio na folha e $0,024 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{MF}$ de proteína na folha. Para variável aminoácidos, houve interação entre os tratamentos, em relação ao açúcar solúvel total, a inoculação com as duas estirpes (ABv5 + ABv6) acumularam mais açúcares na folha, em relação aos demais tratamentos. A atividade de nitrato redutase foi maior nas plantas inoculadas com a associação das estirpes (ABv5 + ABv6), e para cada Kg^{-1} de N aplicado incrementou $0,0181 \text{ nmol NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \text{MF} \cdot \text{h}^{-1}$. As variáveis proteína

no grão, número de queda e força de glúten, responderam de forma positiva a inoculação via sementes com as estirpes ABv5 e ABv6, inoculadas de forma individual e associadas em relação a testemunha. Observou-se tendência linear positiva, onde para cada Kg de N aplicado, proporcionou incremento 0,0122 e 0,127 % para proteína no grão, número de queda respectivamente. Já para força de glúten (W), ficou evidenciado tendência quadrática, sendo que a dose de maior eficiência técnica de 79,9 kg.ha⁻¹ de nitrogênio. Para a estabilidade, extensibilidade e tenacidade, os melhores resultados se deram quando a inoculação foi realizada com as estirpes de forma associada (ABv5 + ABv6), apresentado um incremento de 3,78; 12,98 e 13,52 pontos percentuais em relação a testemunha. Observou-se ainda, resultados positivos em relação as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura. A adição das estirpes ABv5 e ABv6 via inoculação de semente, assim com doses de nitrogênio, proporciona melhora nos caracteres agrônomo, qualidade fisiológica de semente de trigo produzida e melhor expressão da qualidade tecnológica da farinha de trigo.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*, Estripes, *Triticum aestivum*.

ABSTRACT

Gewehr, Ewerton. **Use of nitrogen-associated inoculation: physiological and industrial quality of wheat seed** 2018. 82f. Thesis (Doctorate in Science and seed technology)-post-graduate program in science and Technology of seeds, Faculty of agronomy Elisha Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

The objective of this work was to evaluate the effect of different strains of the bacterium of the genus *Azospirillum* sp., Associated with the application of nitrogen doses in the wheat crop, and its reflection on the agronomic, physiological and industrial quality of seeds produced. The experiment consisted of a randomized block design in a double factorial scheme, 4x5 with four replications, totaling 80 experimental units. The treatments were composed of four combinations of two strains of the bacterium *Azospirillum brasilense* and five doses of nitrogen: control (zero); 30; 60; 90 and 120 kg of nitrogen per hectare. The evaluation of the agronomic characteristics, physiological and industrial quality of the seeds produced will be carried out, during the development of the crop, the leaves will be collected for biochemical analysis. It was found that inoculation with the ABb5 and ABv5 strains in isolation and associated, provided an increase in spike weight and length, as well as in a greater number of fertile tines when compared to the control. The inoculation with the strains ABv5 and ABv6, both in isolation and in association, were highlighted in relation to the control for the variables weight, weight of one thousand seeds and grain yield. For the first germination count, interaction between doses and inoculation forms was observed. The isolates ABv5 and AVb6 both in isolated and associated ways provided better results for germination, accelerated aging and electrical conductivity when compared with the control. However, when the inoculation was performed with the association of the strains (ABv5 + ABv6), the results were higher than the other treatments, showing a mean difference of 11 pp for G, 15 pp for AE and 6.68 $\mu\text{S.cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ for CE. For these same variables, it was verified that the different doses of nitrogen influenced positively. The aerial part length, root and total seedlings and dry mass of shoot, root and total seedlings did not statistically differ in relation to the inoculation the applied nitrogen doses. It was verified that the strains of the bacterium *Azospirillum brasilense* positively influenced the index of total leaf chlorophyll, nitrogen content in the leaf and protein content when applied in isolation, however, if the best result was obtained when they were applied in a way (ICFT) and 0.0286 g.Kg⁻¹ of nitrogen in the leaf and 0.024 mg.g⁻¹MF of protein in the leaf. For amino acid variables, there was interaction between treatments, in relation to total soluble sugar, inoculation with the two strains (ABv5 + ABv6) accumulated more sugars in the leaf, in relation to the other treatments. Nitrate reductase activity was higher in the inoculated plants with the association of the strains (ABv5 + ABv6), and for each applied Kg⁻¹ of N increased 0.0181 nmol NO₂⁻.g⁻¹MF.h⁻¹. The variables protein in the grain, number of fall and gluten strength, positively responded to the inoculation via seeds with strains ABv5 and ABv6, individually inoculated and associated with the control. It was observed a positive linear trend, where for each Kg of N applied, it provided increment 0.0122 and 0.127% for protein in the grain, number of fall respectively. As for gluten (W), a quadratic trend was evidenced, with the highest

technical efficiency dose of 79.9 kg.ha⁻¹ of nitrogen. For stability, extensibility and toughness, the best results were obtained when the inoculation was performed with the strains in an associated manner (ABv5 + ABv6), presented an increase of 3.78; 12.98 and 13.52 percentage points in relation to the control. Positive results were also observed in relation to the applied nitrogen rates in coverage. The addition of strains ABv5 and ABv6 via seed inoculation, as well as nitrogen doses, improves the agronomic traits, the physiological quality of wheat seed produced and the better expression of the technological quality of wheat flour.

Key words: *Azospirillum Brasilense*, Strains *Triticum Aestivum*.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Peso de espiga (PE); comprimento de espiga (CE) e número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	36
TABELA 2.	Peso de espiga (PE); comprimento de espiga (CE) e número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	37
TABELA 3.	Peso hectolitro (PH); peso de mil sementes (PMS) e rendimento de grão (RG) oriundos de sementes de submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	39
TABELA 4.	Peso hectolitro (PH); peso de mil sementes (PMS) e rendimento de grãos (RG) oriundos de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	40
TABELA 5.	Primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	44
TABELA 6.	Primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); envelhecimento acelerado (EA); condutividade elétrica (CE); de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	45
TABELA 7.	Comprimento de parte aérea de plântulas (CPA); comprimento de raiz de plântulas (CR) e comprimento total de plântulas (CPT) oriundas de sementes de trigo, submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	50

TABELA 8.	Comprimento de parte aérea de plântula (CPA); comprimento de raiz de plântula (CR); comprimento total de plântula (CPT); oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	51
TABELA 9.	Massa seca de parte aérea de plântulas (MSPA); massa seca de raiz de plântulas (MSR) e massa seca total de plântulas (MST) oriundas de sementes de trigo, submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	52
TABELA 10.	Massa seca de parte aérea de plântula (MSPA); massa seca de raiz de plântula (MSR); massa seca total de plântula (MST); oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	53
TABELA 11.	Índice de clorofila foliar total (ICFT); teor de nitrogênio na planta (N Total) e proteína na folha (P) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	54
TABELA 12.	Aminoácidos (AA); açúcar solúvel total (AST) e atividade da nitrato redutase (NR) em plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	57
TABELA 13.	Proteína no grão (Prot); número de queda (NQ) e força de glúten (W); submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.	60
TABELA 14.	Estabilidade (E); extensibilidade (L); tenacidade (P); submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	62

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Dados climáticos, precipitação e temperatura média observadas na área experimental do IRDeR no período entre a semeadura e a colheita (A= safra 2016) e (B= safra 2017).....	28
FIGURA 2.	Número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidos a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	38
FIGURA 3.	Rendimento de grãos (RG) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	41
FIGURA 4.	(A) = peso hectolitro (PH); (B) = peso de mil sementes (PMS) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	42
FIGURA 5.	(A) = Primeira contagem de germinação (PCG); (B) = germinação (G); (C) = envelhecimento acelerado (EA) e (D) = condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	47
FIGURA 6.	(A) = germinação (G) e (B) = condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.....	48
FIGURA 7.	(A) = Clorofila total (CL); (B) = teor de nitrogênio na planta (N Total) e (C) = proteína na folha (P) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	56
FIGURA 8.	(A) = Aminoácidos (AA) e (B) = atividade da nitrato redutase (NR) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de <i>Azospirillum brasilense</i> via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.....	59

- FIGURA 9.** (A) = proteína na semente (Prot); (B) = número de queda (NQ) e (C) = força de glúten (W); oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018..... 61
- FIGURA 10.** (A) = Estabilidade (E); (B) = extensibilidade (L) e (C) = tenacidade (P); oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018..... 63

Sumário

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
1 Introdução	14
2 Revisão Bibliográfica	16
2.1 Cultura do Trigo	16
2.2 Nitrogênio na cultura do trigo	18
2.3 Caracteres agronômicos	20
2.4 Qualidade fisiológica de sementes	21
2.5 Qualidade tecnológica	22
2.6 Fixação Biológica de Nitrogênio (<i>Azospirillum brasilense</i>)	24
3 Material e Métodos	27
3.1 Local e implantação do experimento	27
3.2 Análises realizadas	29
3.2.1 Caracteres agronômicos	29
3.2.2 - Qualidade fisiológica de sementes	29
3.2.3 Análises bioquímicas	31
3.2.4 Qualidade industrial de trigo	34
3.3 Análises Estatísticas	35
4 Resultados e Discussão	36
4.1 Caracteres agronômicos	36
4.2 Qualidade fisiológica de sementes	43
4.3 Análises bioquímicas	53
5 Conclusões	65
6 Bibliografia	66

1 Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é considerado um cereal básico para humanidade, assumindo um papel de grande importância para alimentação da população mundial. Segundo a USDA (2017), sua produção é a segunda no mundo, superado pela cultura do milho. Além disso, é o segundo cereal mais consumido no mundo. Esse cereal é a matéria prima utilizada na produção de farinhas que são empregadas para a produção de pão, bolo, biscoitos e massas em geral, além de também poder ser empregado na produção de ração animal (SCHEUER et al., 2011).

Nesse contexto, é de suma importância o aumento da produção por área desse cereal, pois com o contínuo crescimento da população mundial, cada vez se torna mais necessário melhorar as tecnologias aplicadas aos diversos ramos de produção de alimentos. Dessa forma, a utilização de sementes de elevada qualidade fisiológica aliada às práticas culturais adequadas, favorecem a obtenção de estandes mais uniformes e incremento no rendimento de grãos (LIMA et al., 2006). Deste modo, as informações sobre a germinação e vigor, obtidos em laboratório e canteiros, permiti a comparação entre lotes de sementes, possibilitando a avaliação de sua qualidade fisiológica, tornando possível visualizar a probabilidade de sucesso com sua utilização.

Para a produção de sementes de alta qualidade, é importante observar fatores que possam interferir na produção: como a disponibilidade de água, luz e nutrientes entre outros. De modo que, para se obter sementes de qualidade, a produção deve ser realizada com controle rigoroso sobre todos os fatores que possam reduzir a qualidade e quantidade de sementes produzidas. Além disso, esse controle deve ser estendido até a comercialização, de forma a garantir a qualidade genética, fisiológica, sanitária e física dos lotes produzidos (PANOFF, 2013).

O potencial fisiológico das sementes comercializadas tem sido um referencial da credibilidade das empresas produtoras, pois a preocupação com a qualidade de sua semente deve ser constante no sentido de alcançar, manter e determinar essa qualidade, sendo que a produção de sementes de alto vigor representa um dos principais itens para o êxito na lavoura.

Um fator de grande impacto para produção de sementes trigo é o uso de nitrogênio (N), sendo responsável por provocar maiores efeitos nas características da planta, relacionadas ao crescimento e desenvolvimento, as quais direta ou indiretamente afetam a produtividade da cultura (OKUMURA et al., 2011). Assim, tendo estreita relação com os caracteres agronômicos, principalmente na definição do número de afilhos férteis.

Além do aumento da produtividade, o nitrogênio pode estar associado à qualidade fisiológica das sementes, devido a sua função na constituição de proteínas e no incremento do teor de proteínas presentes nas sementes. Ainda, o nitrogênio tem grande função frente à qualidade industrial do grão de trigo, pois influencia o teor de proteína presente nos grãos e a força de glúten. De acordo com Peltonen (1992), a concentração de proteínas nos grãos do trigo é um dos principais fatores determinantes da qualidade industrial do cereal.

Devido à importância do suprimento de nitrogênio para os cereais, a fonte de (N) mais utilizada no Brasil é a uréia. Do ponto de vista agrícola, este fertilizante, tem como vantagens, o elevado teor de nitrogênio (45%) em relação aos demais fertilizantes. Alta solubilidade, compatibilidade com inúmeros fertilizantes e defensivos, pronta disponibilidade para as plantas e facilidade de manipulação, além de causar menor acidificação no solo, em relação a outros fertilizantes (YANO et al. 2005, MALAVOLTA 2006).

No entanto, o nitrogênio possui como característica desfavorável, elevadas perdas por volatilização, lixiviação, nitrificação e desnitrificação, principalmente quando aplicado ao solo a lanço (CANTARELLA et al. 2008). Pode também elevar de forma significativa o custo de produção dos cereais (SALA et al., 2005), além de apresentar, importância ambiental significativa, por ser um nutriente facilmente perdido no ambiente (WENDLING et al., 2007).

Desta forma, o aporte de nitrogênio, via fixação biológica, é de fundamental importância, visando a sustentabilidade do sistema, pois somente as culturas do trigo, milho e arroz consomem aproximadamente 60% do total de fertilizantes nitrogenados utilizados no mundo (LADHA et al., 2005). Portanto, em razão da extensa área ocupada pelos cereais, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) associada a essas culturas torna-

se de extrema importância, mesmo que apenas parte de suas necessidades de nitrogênio possa ser suprida pela FBN. Sendo assim, mesmo que apenas uma parte do N₂ possa ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados será igual ou superior àquela verificada com as leguminosas (DÖBEREINER, 1992).

Sendo assim, as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) podem auxiliar no seu crescimento por diversas maneiras, sendo a mais relevante a capacidade de FBN (HUERGO et al., 2008). Além da FBN, as bactérias do gênero *Azospirillum*, também são consideradas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas comumente associadas com raízes de cereais (ALVAREZ et al. 1996).

Face ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito diferentes estirpes da bactéria do gênero *Azospirillum* sp., associado com aplicação de doses de nitrogênio na cultura do trigo, e seu reflexo nos caracteres agrônômicos, qualidade fisiológica e industrial de sementes produzidas.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Cultura do Trigo

O trigo é uma planta autógama, com flores perfeitas, pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Liliopsita, ordem Poales, família Poaceae, gênero *Triticum*. L., sendo elas *Triticum aestivum*, também chamado de trigo comum ou trigo para pão e *Triticum durum*, o qual é conhecido como trigo duro ou trigo para macarrão. Sendo que o mesmo possui ciclo anual, cultivada durante o inverno e a primavera (NCBI *taxonomy*, 2016). A semente de trigo é denominada de cariopse, possuindo uma forma ovalada e arredondada nas extremidades (GWIRTZ et al., 2014).

Além disso, a semente de trigo é constituída de quatro partes com funções diferentes quanto ao aspecto da qualidade de sementes, sendo estas: o conjunto pericarpo e tegumento, localizado mais externamente, tem a função principal de proteção das estruturas internas, a camada de aleurona, que concentra proteínas e minerais importantes na síntese de enzimas responsáveis por iniciar o processo

germinativo e são fonte de aminoácidos para a síntese de novas proteínas. O endosperma que constitui a maior parte da semente, responsável pelo armazenamento de reservas, principalmente o amido, que são convertidas em carboidratos e mobilizadas para o embrião e para a formação da plântula e o eixo embrionário, ou embrião que contém as estruturas essenciais da planta que é constituído pela coleorriza, radícula, hipocótilo, plúmula, folhas primárias, coleótilo e escutelo (POPINIGIS, 1985; EICHELBERGER, 2011).

A cultura do trigo está diretamente relacionada com o desenvolvimento da humanidade, estando presente na agricultura há mais de dez mil anos, e seu cultivo iniciou-se na Mesopotâmia, em uma região conhecida como Crescente Fértil, área que hoje se estende do Egito até o Iraque (ABITRIGO, 2017).

Da Mesopotâmia, o trigo se espalhou pelo mundo, chegando no Brasil por volta de 1534, onde a propagação do seu cultivo encontrou dificuldades devido ao clima quente, chegando no Rio Grande do Sul por volta da segunda metade do século XVIII, sendo que só a partir da década de 40 o trigo se expandiu nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, os quais se tornaram os principais produtores deste cereal (ABITRIGO, 2017).

Desde então, o cultivo de trigo por ser um dos três cereais mais cultivados no mundo, vem se destacando como uma commodity de importância para a economia global (TAKEITI, 2015), com produção mundial projetada em 747,8 milhões de toneladas (USDA, 2018)

Desta forma, a produção de trigo é de fundamental importância para a sustentabilidade de propriedades rurais, não só como rotação de cultura, mas também como aspecto econômico. Neste contexto, a produção nacional de trigo na safra 2017 foi de aproximadamente 4,3 milhões de toneladas, apresentando redução de 36,1 % em relação da safra de 2016 que foi de 6,72 milhões de toneladas, sendo esta redução devida as condições climáticas (CONAB, 2017a).

De acordo com o terceiro levantamen'to da safra 2017/2018 a área semeada com trigo teve redução de 9,5% em relação à safra 2016, o que corresponde 201,3 mil hectares. Nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul, principais produtores de trigo do Brasil, a redução da área na safra 2017 foi de 11,4 e 10% respectivamente. A

diminuição de área é justificada pelas condições comerciais desfavoráveis e elevação dos custos de produção (CONAB, 2017a).

Dessa forma, torna-se necessário a produção de sementes em grande quantidade e que estas sejam de alta qualidade, para atender a demanda de semeadura. Para isso, tecnologias geradas pela pesquisa, principalmente para o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas às diversas condições de cultivo, têm proporcionado a obtenção de ganhos na produtividade e na qualidade industrial desse cereal (CONAB, 2017b).

2.2 Nitrogênio na cultura do trigo

O nitrogênio é um macronutriente essencial para o desenvolvimento da planta, sendo o nutriente mais absorvido e exportado pela cultura do trigo (KUTMAN et al., 2011). Correspondendo a uma exportação média de N na colheita de 29 kg.t^{-1} da planta inteira e de 23 kg.t^{-1} corresponde aos grãos (FORNASIERI FILHO, 2008).

Além disso, esse nutriente participa de uma série de rotas metabólicas importantes na bioquímica das plantas (SANGOI et al., 2008), fazendo parte de estruturas das proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, fitocromos e clorofila (CAPPELLARI et al., 2009). Além de estar associado a processos fisiológicos como a fotossíntese, que depende diretamente de proteínas como a rubisco que são significativamente afetadas pela deficiência de nitrogênio (HARPER, 1994). Ainda, o nitrogênio atua na diferenciação celular, absorção iônica de outros nutrientes, desenvolvimento, respiração e atividade das raízes.

O nitrogênio pode ser encontrado no solo na forma orgânica (restos culturais e matéria-orgânica), mineral (solução do solo, na forma de NO_3^- e NH_4^+) e em formas gasosas combinadas (NH_3 , N_2O e NO), e de toda a fração de N presente no solo, somente 2% está disponível para a planta (TAVARES; DALTO, 2004). Sendo que as plantas podem apresentar preferências por NO_3^- , NH_4^+ ou mesmo N-orgânico, e a opção de absorção pelo NH_4^+ ou NO_3^- , decorre de fatores ambientais e da idade da planta entre outros.

Dessa forma, quando o nitrogênio é absorvido pelo sistema radicular da planta na forma de nitrato (NO_3^-), o mesmo é assimilado em compostos orgânicos nitrogenados, sendo que a taxa de absorção de NO_3^- é geralmente alta, aumentando assim o pH da rizosfera, e quando há uma elevada absorção de nitrato, há um aumento na liberação de ânions (HCO_3^- , OH^- e ânions orgânicos), e se eleva a absorção das cátions (Ca^{+2} , Mg^{+2} e K^+) (HAVLIN et al., 2005). Além disso, no momento que o nitrato é transportado para dentro da epiderme e célula do córtex, o mesmo pode ser armazenado nos vacúolos, ser translocado para parte aérea e reduzido nas folhas ou sofrer efluxo para o apoplasto ou para o ambiente, ou também pode ser reduzido pela enzima nitrato redutase e nitrito redutase a forma de amônio.

A redução do nitrato ocorre em duas etapas, a primeira ocorre no citosol e envolve a enzima nitrato redutase, que catalisa a reação de redução do nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-), na segunda etapa o nitrito é transportado até os cloroplastos nas folhas e plastídeos nas raízes, onde o NO_2^- é convertido em amônio pela enzima nitrito redutase com gasto de $6e^-$ fornecidos pela ferredoxina (TAIZ; ZEIGER, 2013.). A amônia é então assimilada nos aminoácidos glutamina e glutamato, os quais servem para translocar nitrogênio orgânico de fontes para drenos (PURCINO et al., 1994). As principais enzimas envolvidas são a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintase (GOGAT) (LAM et al., 1996).

Quando o nitrogênio é absorvido na forma de amônio NH_4^+ , o pH da rizosfera diminui, pois há uma redução na absorção de Ca^{+2} , Mg^{+2} e K^+ e aumenta a dos ânions H_2PO_4^- , SO_4^{+2} e Cl^- , isso ocorre devido à exsudação de H^+ pelas raízes para manter o balanço de cargas dentro da planta (HAVLIN et al., 2005). Assim, a acidificação é um dos fatores que podem afetar a disponibilidade de ambas as formas de nitrogênio no solo e a atividade biológica na zona radicular. O amônio que é absorvido pelas raízes das plantas não pode ser acumulado pois apresenta toxicidade ao organismo dos indivíduos. Desta forma, é rapidamente incorporado gerando aminoácidos glutamina e glutamato, onde no momento em que se faz a síntese de uma molécula de glutamina ocorre o gasto de 1ATP e para o glutamato irá requer redutores que podem ser o NADH ou ferredoxina, dependendo da isoenzima envolvida (TAIZ; ZEIGER, 2013.).

2.3 Caracteres agronômicos

A utilização de nitrogênio resulta em um melhor desenvolvimento das plantas (ESPINDULA et al., 2010). Sendo que a produtividade obtida nas lavouras de trigo está intimamente ligada ao fornecimento deste nutriente, o qual é de suma importância para a formação dos caracteres agronômicos, especialmente para o número de afilhos férteis e número de grãos por espiga (BENIN et al., 2012). O afilhamento é um processo de desenvolvimento em que gemas formadas nos nós basais do colmo de gramíneas se desenvolvem e produzem afilhos (MUNDSTOCK; BREDEMEIER, 2001). Segundo Wanser; Mundstok (2007) a disponibilidade de nitrogênio influencia o acúmulo de matéria seca e a emissão de afilhos, impactando na produção de espigas por planta.

Segundo Braz et al. (2006), o fornecimento de nitrogênio nos períodos em que o rendimento está sendo estabelecido é de fundamental importância, de maneira que os caracteres agronômicos, como o número de espigas por área e o número de espiguetas por espigas, sofrem forte influência pela variação do fornecimento de N. Portanto, a adubação com nitrogênio pode ser utilizada para manipular a população (incremento no número de afilhos) e para suprir as necessidades nutricionais da espécie para produção de proteína (CONLEY; SCHARF, 2003).

Devido a fundamental importância da formação dos afilhos para a composição do rendimento da cultura do trigo, o fornecimento de nitrogênio nos primeiros estádios de desenvolvimento da cultura, tem papel relevante para emissão, desenvolvimento e sobrevivência dos afilhos (ALMEIDA; MUNDSTOCK, 1998). Além disso, Zagonel et al. (2002) verificou que o aumento da produtividade correu em função do aumento do número de espigas por unidade de área.

Dessa forma, quando o nitrogênio é disponibilizado às plantas de trigo no momento adequado favorece o número de grãos por espiga e o número de espigas por área (SANGOI et al. 2007). Ainda, para que os caracteres agronômicos tenham sua expressão favorecida, torna-se necessário que o nitrogênio seja disponibilizado às plantas na emergência, pois nesse período, há exigência de N para estabelecer o número de espiguetas diferenciadas e, em consequência, o número de grãos por espigas e a emissão da sétima folha do colmo principal, fase crítica para determinar o

número de colmos que sobrevivem e produzem espigas produtivas (BREDEMEIER; MUNDSTOCK 2001).

2.4 Qualidade fisiológica de sementes

Sementes com alta qualidade fisiológica é considerado um dos principais insumos para o sucesso de uma lavoura, permitindo uma germinação rápida e uniforme de plântulas saudáveis e vigorosas, proporcionando a obtenção de estandes mais uniformes de lavoura e com isso maiores produtividades. Neste contexto, é de importância que se tenha uma produção de sementes cada vez maior e com elevada qualidade fisiológica para suprir a necessidade do mercado consumidor.

Para que se tenha sementes de qualidade a mesma deve possuir características intrínsecas como os atributos da qualidade, que são: genético (pureza varietal, potencial fisiológico, resistência a pragas e moléstias, precocidade, qualidade de grão além da resistência a diversas condições de solo e clima), físicos (pureza física, umidade, danos mecânicos, peso de 1000 sementes, aparência e peso volumétrico), fisiológicos (germinação, dormência e vigor) e sanitários (sementes livres de patógenos e pragas) (PESKE et al., 2012).

Contudo, para que se tenha campos de produção que atinjam produtividades satisfatórias de sementes de alta qualidade fisiológica, além da utilização de sementes com elevado potencial fisiológico, torna-se necessário que se tenha atenção em fatores extrínsecos que podem interferir na produção de sementes: como a disponibilidade de água, luz, macro e micronutrientes, entre outros.

Assim sendo, para a obtenção de lavouras de trigo produtivas e que produzam sementes de alta qualidade fisiológica, um dos principais manejos é o fornecimento de nitrogênio, que participa da composição de moléculas e compostos orgânicos, os quais contribuem para a formação da semente (DA ROSA et al., 2003; OKUMURA et al., 2011). Além disso, o nitrogênio é utilizado pela planta para formação de proteínas essenciais para seu desenvolvimento, sendo que sua assimilação, remobilização e translocação afeta diretamente o conteúdo de proteínas (SHI et al., 2007).

Nas sementes estão presentes diferentes formas de proteínas ativas (enzimas) e proteínas de reserva, entre outras. Segundo Peske et al., (2012), as proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*), são tipicamente acumuladas durante as fases finais da embriogênese, tendo a conformação de cadeia aberta, formando um filme proteico sobre moléculas de sacarose, rafinose e sobre as estruturas celulares, conferindo assim estabilidade às mesmas. Assim, diminuindo o estresse da retirada de água da semente pelo processo de secagem após a maturidade fisiológica, evitando danos por embebição durante a retomada de absorção de água no processo de germinação, conferindo à semente uma melhor retomada do crescimento e produzindo plântulas mais vigorosas.

Além disso, durante o processo de germinação da semente de trigo, a alfa amilase e beta amilase estão diretamente relacionadas à qualidade das sementes (WANG et al. 2012). Sendo que, o embrião sintetiza ou ativa as giberelinas e secreta para o endosperma amiláceo por meio do escutelo que migram para camada de aleurona induzindo a síntese de enzimas hidrolíticas como (enzimas alfa amilase e beta amilase), que são responsáveis pela degradação das reservas encontradas no endosperma amiláceo que irão suprir o embrião em desenvolvimento (PESKE et al., 2012). Ainda, as proteínas de reservas são hidrolisadas durante a germinação das sementes para suprir o eixo embrionário (SARMENTO; SILVA, 2010).

Dessa forma, quando os processos de formação de proteína nas sementes ocorrem de forma adequada, desempenham papel primordial no desenvolvimento inicial das plântulas, demonstrando assim a importância do nitrogênio para a qualidade fisiológica de sementes de trigo.

2.5 Qualidade tecnológica

A exigência por trigo de qualidade tecnológica para panificação tem sido cada vez mais forte pelos mercados consumidores na compra desse cereal. Desse modo, a preocupação com a qualidade do trigo deve ser iniciada no campo uma vez que o teor e qualidade das proteínas presentes no grão é afetada por diversos fatores como: condições climáticas, manejo da cultura, momento da colheita, fertilidade do solo,

mobilidade do nutriente no solo e na planta. Dentre esses fatores, destaca-se principalmente o manejo do nitrogênio (GARRIDO-LESTACHE et al., 2004; TAKAYAMA et al., 2006), fator este que afeta diretamente as características do grão colhido e, conseqüentemente, o uso do grão pela indústria para produção de farinha.

Desse modo, as práticas relacionadas ao manejo da adubação nitrogenada são amplamente pesquisadas, tendo como principal objetivo aumentar o teor de proteína nos grãos e na farinha, sendo que as proteínas do trigo, dividem-se em duas: as que formam glúten e as que não formam glúten. O glúten é um conjunto de proteínas insolúveis que misturadas à água formam redes proteicas ligadas aos grânulos de amido, que durante o processo de panificação retém o gás carbônico produzido no processo fermentativo (NICOLAS et al., 2003).

Assim sendo, as proteínas formadoras de glúten são conhecidas como as gliadinas e as gluteninas, e constituem cerca de 80% do total de proteínas (HOSENEY, 1994; SGARBIERI, 1996). As gliadinas são responsáveis pela extensibilidade da massa e gluteninas conferem viscosidade e elasticidade (DONG et al., 2009), e a relação da proporção entre as gliadinas e as gluteninas determina as diferentes características do glúten dos diversos tipos de trigo.

Dessa forma, há uma grande importância na contribuição do nitrogênio para a formação das proteínas, sendo que estudos realizados por Cazetta et al. (2008), verificaram que a aplicação de nitrogênio favorece as características físico-químicas e reológicas como teor de proteína e força de glúten. Além disso, Pinnow et al. (2013), verificaram que a aplicação de nitrogênio na cultura do trigo, favoreceu os parâmetros da qualidade industrial da farinha. Também Cazetta et al. (2008), observaram que a adubação nitrogenada incrementou a força geral do glúten (W), bem como o teor de proteína da farinha, influenciando positivamente na qualidade da farinha para panificação. Estudos estes que mostram a importância do manejo deste nutriente para qualidade tecnológica do trigo.

2.6 Fixação Biológica de Nitrogênio (*Azospirillum brasilense*)

O nitrogênio é considerado um dos nutrientes que causam maior impacto no desenvolvimento e na produtividade e, conseqüentemente, no aumento dos índices de qualidade do trigo, sendo um elemento essencial para as plantas. Dessa forma, o fornecimento adequado do nitrogênio pela adição de adubos, como regra, melhora a qualidade dos produtos agrícolas. No entanto, é responsável pelo elevado custo de produção da cultura, devido ao alto valor dos fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA, 2011), correspondente a necessidade de fixar industrialmente o N₂ atmosférico, o que necessita de alta pressão e temperatura para sua obtenção, elevando assim seu custo (MENDES et al., 2011).

Além disso, os elevados custos da utilização de nitrogênio também se dão pelo fato do Brasil importar, atualmente, 73% do N utilizado (HUNGRIA, 2011). Ainda cabe ressaltar, que, a fonte mais utilizada no Brasil, para fornecimento de nitrogênio às culturas, é a ureia, tendo como vantagens, o elevado teor de nitrogênio (45%), alta solubilidade, compatibilidade com inúmeros fertilizantes e defensivos, pronta disponibilidade para as plantas e facilidade de manipulação, além de causar menor acidificação no solo, em relação a outros fertilizantes (YANO et al., 2005, MALAVOLTA, 2006).

No entanto, a uréia possui característica desfavorável, tais com: elevadas perdas de nitrogênio por volatilização, lixiviação, nitrificação e desnitrificação, principalmente quando aplicado a lanço, na superfície, sendo que a perda será mais elevada quanto maior for a quantidade de palha e a falta de chuva para a sua incorporação (CANTARELLA et al., 2008). Ainda, pesquisas realizadas por Dobbelaere; Croonenborghs (2002), mostraram que as plantas conseguem utilizar apenas 50% do fertilizante nitrogenado aplicado, e o restante é perdido, elevando assim o custo de produção. Podendo ainda, se mal manejado causar sérios danos ambientais por ser facilmente perdido para o ambiente, ocasionando poluição do lençol freático, lagos e rios.

Neste contexto, devido aos custos econômicos oriundos da quantidade aplicada, do valor do insumo, da perda e ainda, de possíveis problemas ambientais oriundos do

uso em demasia de fertilizante nitrogenado, vem se buscando alternativas que possam reduzir a utilização destes fertilizantes, em paralelo à manutenção dos níveis de produção (HUNGRIA, 2011).

Uma prática atualmente utilizada para redução dos custos de produção e manutenção ou da produtividade, é a inoculação de sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento (BPCPs), a qual vem se tornando fundamental para melhor nutrição das plantas e aumento da produção (GLICK, 2014). Podendo destacar seis espécies do o gênero *Azospirillum* como BPCPs: *A. brasiliense*; *A. amazonense*; *A. lipoferum*; *A. halopraeferens*; *A. irekense*; *A.largomorbilis*, sendo duas as mais estudadas: *A. brasiliense* e *A. lipoferum*. Cabe ressaltar que cada espécie do gênero *Azospirillum* interage com a raiz da planta hospedeira de forma diferente, algumas predominantemente colonizam a superfície da raiz, enquanto outras podem infectar o interior da raiz e, assim, atuam como endófitos, vivendo no interior de uma planta pelo menos durante parte da sua vida sem aparentemente causar doença a esta (MISHRA, 2012).

Desta forma, pesquisas relacionadas aos processos de fixação biológica de nitrogênio em gramíneas são de fundamental importância, pois estudos estimam que a inoculação de sementes com bactérias fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento, poderá gerar uma economia de 1,2 bilhões de dólares por ano, considerando apenas a substituição parcial (50%) no N-fertilizante para a cultura do milho e trigo no Brasil (HUNGRIA et al., 2010).

Assim sendo, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo realizado por alguns grupos de microrganismos como as bactérias do gênero *Azospirillum*, que possuem maquinário enzimático que atua rompendo a ligação altamente estável que há entre as moléculas de nitrogênio atmosférico (LOPES, 2007). Possibilitando assim, a redução do nitrogênio atmosférico N_2 , para a forma inorgânica combinada amônia (NH_3), a qual será posteriormente utilizada como fonte de nitrogênio (N) para a nutrição das plantas (NOVAKOWISKI et al., 2011). Dessa forma, a FBN trona-se uma das principais vias de incorporação do nitrogênio para o desenvolvimento da cultura.

Além disso, estas bactérias atuam como promotoras de crescimento, atuando na síntese de hormônios que favorecem o desenvolvimento da planta como a auxinas,

citocininas, giberelinas, etileno entre outras moléculas (PERRIG et al., 2007) as quais proporcionam melhor crescimento radicular (OKON; VANDERLEYDEN, 1997) e por consequência maior absorção de água e nutrientes (CORREA et al., 2008) resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004; HUNGRIA, 2011)

Desse modo, as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) se tornam uma alternativa segura e renovável para auxiliar no desenvolvimento da cultura, sendo que o método mais comum para a inoculação destas bactérias é via tratamento de sementes, devido à facilidade desta operação, podendo ser feita industrialmente. Outra forma de inoculação que vem sendo pesquisada é via sulco de semeadura, pois pode evitar toxidez dos produtos utilizados no tratamento de sementes sobre a bactéria (HUNGRIA, 2011).

Ainda há outros fatores relacionados à FBN, onde devem ser levados em consideração, para que a bactéria estabeleça uma interação positiva com a planta, um deles é utilização de estirpes de *Azospirillum* selecionadas, que sejam capazes de competir com os demais microorganismos presentes no solo (HUNGRIA, 2011). Outro fator a ser levado em consideração é a escolha do genótipo a ser inoculado, pois a simbiose entre o hospedeiro e a bactéria é determinada pela qualidade dos exsudatos liberados pelas raízes da planta (NEHL; ALLEM; BROWN, 1996). Sendo que esse fenômeno é conhecido por quimiotaxia, onde o hospedeiro libera exsudatos em diferentes quantidades e composição química, que pode ou não ser atrativo e servir de fonte de energia para as bactérias inoculadas (QUADROS, 2009).

Assim, avaliar as estirpes para a inoculação em culturas específicas é, imprescindível para o desenvolvimento de tecnologias para produção de inoculantes com estirpes eficientes de *Azospirillum* para cereais. Além disso, o correto manejo com estas bactérias resultará na diminuição da utilização de adubos nitrogenados e consequentemente, nos custos de produção da propriedade, além de proporcionar resultados positivos no desenvolvimento das plantas e incremento na produção.

3 Material e Métodos

3.1 Local e implantação do experimento

O experimento a campo foi implantado na área experimental do IRDeR (Instituto Regional de Desenvolvimento Rural) pertencente ao DEAg (Departamento de Estudos Agrários) da UNIJUÍ (Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul), localizado geograficamente a 28°26'30" de latitude S e 54°00'58" de longitude W. Apresenta ainda uma altitude próxima a 280 metros. O solo da unidade experimental se caracteriza por um Latossolo Vermelho distroférico típico (U.M. Santo Ângelo). Apresenta um perfil profundo, bem drenado, coloração vermelho escuro, com altos teores de argila e predominância de argilominerais 1:1 e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio. As características químicas do solo na camada de 0 a 20 cm de profundidade são as seguintes: pH (água) = 5,6; M.O. = 2,5 %; Al = 0,0 cmolc/dm³; P = 10,5 mg/dm³ e K = 148 mg/dm³; Ca = 12,0 cmolc/dm³; Mg = 5,4 cmolc/dm³.

O experimento foi constituído por delineamento de blocos casualizados, em um esquema fatorial duplo, 4x5 com quatro repetições, totalizando 80 unidades experimentais. Os tratamentos foram constituídos por quatro combinações de duas estirpes (ABv5 e ABv6) da bactéria *Azospirillum brasilense*, e cinco doses de nitrogênio.

O inoculante utilizado foi preparado a partir de uma ampola liofilizada de cada estripe fornecidas pela Embrapa Soja de Londrina PR, o crescimento da bactéria foi realizado em meio de cultura sólido YMA, após crescimento foi passado para meio de cultura líquido com concentração de 2×10^8 ufc.ml.

Na ocasião da implantação do experimento a campo foi realizado a inoculação das sementes com as estirpes (ABv5 e ABv6) da bactéria *Azospirillum brasilense* na dose de 300ml.ha⁻¹, sendo que a semeadura foi realizada em parcelas constituídas por cinco linhas espaçadas a 0,20 m entre si e cinco metros de comprimento, resultando em cinco metros quadrados por parcela. As doses de nitrogênio foram constituídas de: testemunha (zero); 30; 60; 90 e 120 Kg de nitrogênio por hectare. A aplicação de nitrogênio foi realizada em cobertura no estágio vegetativo (V3). Durante o crescimento

e desenvolvimento das plantas foram realizadas aplicações de fungicidas e inseticidas, de maneira preventiva.

O experimento foi realizado em dois anos consecutivos, correspondente a safra 2016 e 2017. Os dados meteorológicos da precipitação e temperatura média durante a condução do experimento estão apresentados na figura 1.

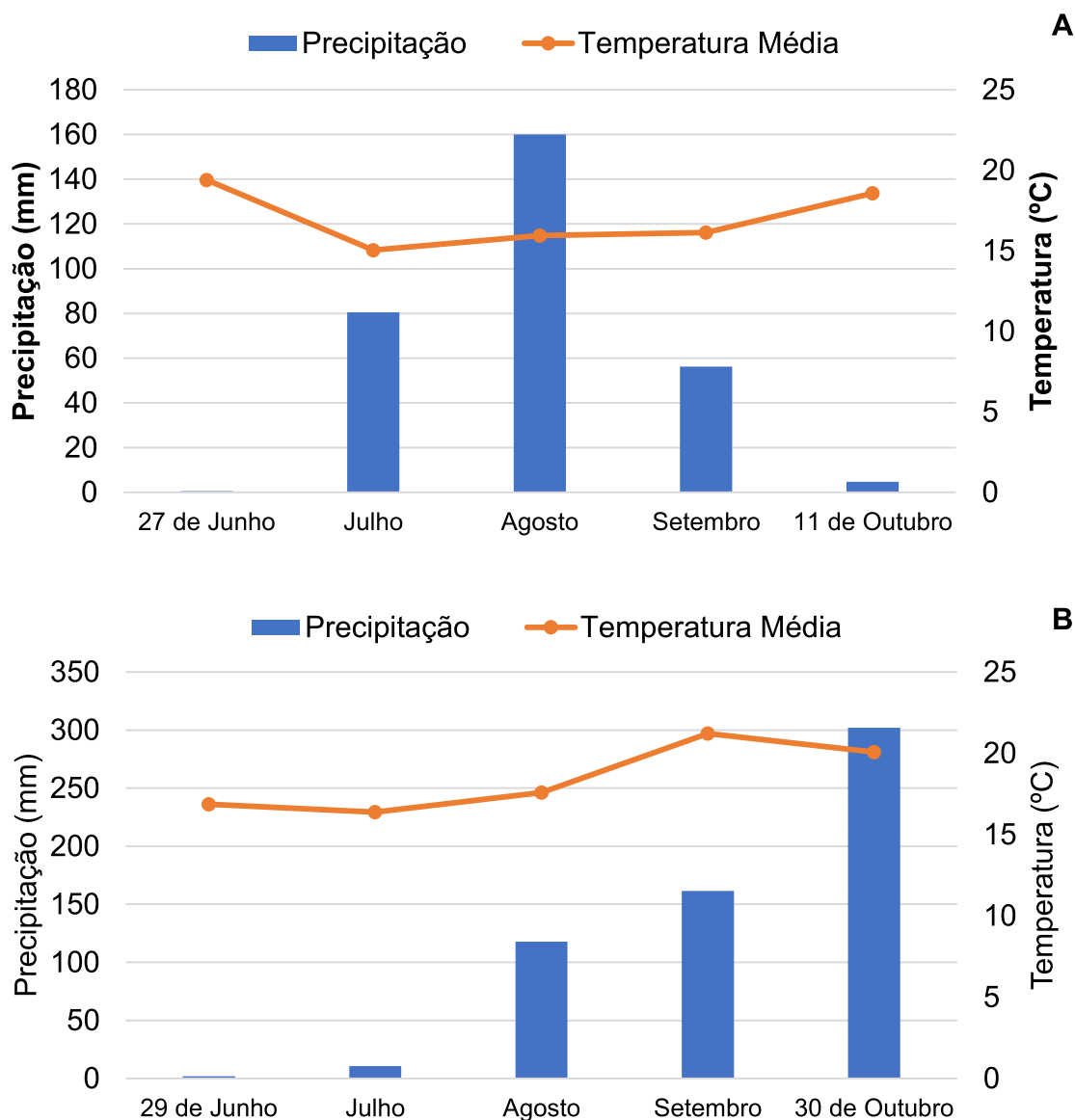


Figura 1 - Dados climáticos, precipitação e temperatura média observadas na área experimental do IRDeR no período entre a semeadura e a colheita (A= safra 2016) e (B= safra 2017).

3.2 Análises realizadas

O experimento foi conduzido até a fase de maturação de campo, sendo posteriormente realizado a avaliação dos caracteres agronômicos e da qualidade fisiológica e industrial das sementes produzidas e durante o desenvolvimento da cultura foi realizada a coleta de folhas para realização de análises bioquímicas.

3.2.1 Caracteres agronômicos

A determinação dos caracteres agronômicos foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes, na Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS – Brasil, nos dois anos de experimento (safras 2016 e 2017) avaliando-se as seguintes variáveis: **PE – peso da espiga**: pesadas em balança de precisão; **CE – comprimento da espiga**: foram mensuradas com régua graduada; **NAF – número de afilhos férteis**: foi realizado na área experimental do IRDeR (Instituto Regional de Desenvolvimento Rural) pertencente a UNIJUÍ através da contagem de 1m² dos afilhos que possuíam espigas férteis; **PH - Peso hectolitro** determinado pela massa referente ao volume de 100 litros de grãos, determinado em balança específica; **PMS - Peso de mil sementes**: determinado pela contagem ao acaso, de oito subamostras de 100 sementes, as quais foram pesadas, sendo os valores do peso de mil sementes expressos em gramas, com uma casa decimal, conforme Brasil (2009) e **RG – Rendimento de grãos**: para a estimativa do rendimento de grãos foi utilizada a massa de grãos proveniente da colheita de cada parcela.

3.2.2 - Qualidade fisiológica de sementes

A determinação da qualidade fisiológica das sementes produzidas foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes, na Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS – Brasil, no ano de experimento (safras 2016 e 2017) avaliando-se os seguintes testes:

Primeira contagem da germinação (PCG): foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias de plântulas normais, após quatro dias da instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Teste de germinação (G): foi realizado utilizando-se quatro repetições de cada tratamento, contendo quatro subamostras de 50 sementes, semeadas em rolos de papel do tipo *germitest* umedecido, previamente, com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Os rolos foram colocados em germinador à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e a avaliação realizada aos oito dias após a semeadura (BRASIL, 2009).

Envelhecimento acelerado (EA): o teste, foi realizado de acordo com a metodologia de Marcos Filho (2005), utilizando caixas plásticas do tipo “gerbox” com tela metálica. Adicionaram-se 40 mL de água destilada ao fundo de cada caixa, sendo fixada uma tela na parte superior da caixa e sobre esta foram distribuídas uniformemente em uma camada, as sementes de cada tratamento, em quatro repetições. Em seguida, as caixas, contendo as sementes, foram tampadas e acondicionadas em incubadora do tipo BOD, a 41°C , onde permaneceram por 72 horas. Após este período as sementes foram colocadas para germinar segundo a metodologia do teste de primeira contagem da germinação (BRASIL, 2009).

Teste de condutividade elétrica (CE): O teste foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g e colocadas para embeber em copos de plástico (capacidade de 200 mL) contendo 75 mL de água deionizada, durante 24 horas, a 25°C (AOSA, 1983; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). A quantidade de lixiviados foi determinada com auxílio de condutivímetro marca DIGIMED, modelo DM-31 e os resultados expressos em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de sementes.

Comprimento da parte aérea (CPA), da raiz (CR) e total (CT): realizado aos quatro dias após a montagem do teste de germinação, sendo as plântulas escolhidas aleatoriamente (dez plântulas), obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 20 sementes, no terço superior da folha de papel do tipo *germitest* umedecidas com 2,5 vezes o seu peso seco. Os rolos foram postos em germinador a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, conforme descrições de Nakagawa (1999). Determinaram-se o comprimento total e da parte

aérea das plântulas, com auxílio de régua graduada em milímetros, sendo o comprimento da raiz determinado pela subtração do comprimento total pelo comprimento da parte aérea. Os comprimentos médios total de plântulas, parte aérea e raiz foram obtidos somando-se as medidas de cada repetição e se dividindo pelo número de plântulas avaliadas, com os resultados expressos em centímetros.

Massa seca da parte aérea (MSPA) da raiz (MSR) e total (MST): foram utilizadas as partes aérea e radicular oriundas do teste de comprimento de plântulas, após foram acondicionadas em estufa a 70°C com circulação de ar forçado, durante um período de 48h, sendo posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g, a determinação da massa seca total foi obtido através da soma dos valores da parte aérea e raiz. Os resultados foram expressos em mg.plântula⁻¹, considerando-se o peso médio de dez das partes.

3.2.3 Análises bioquímicas

As análises bioquímicas: **Índice de clorofila foliar total; Teor de nitrogênio total;** Atividade da enzima nitrato redutase e através da extração por MCW quantificado aminoácidos, açúcar solúvel total e proteína, foi realizado no primeiro ano de experimento (safra 2016).

Índice de clorofila foliar total (ICFT): Os índices totais de clorofila foram aferidos no estágio fenológico reprodutivo (R1 - florescimento), sendo realizado na parte superior, mediana e basal da folha bandeira de 10 plantas por unidade experimental, utilizado o aparelho eletrônico de clorofila óptico portátil, modelo ClorofiLOG® CFL 1030 (marca Falker). Os dados obtidos no aparelho foram transferidos para o programa Clorofilog® que forneceu os valores das leituras expressas em índice de clorofila foliar (ICF).

Teor de nitrogênio total: Para determinação do teor de nitrogênio total, foi coletado folhas aleatoriamente em cada parcela no estágio fenológico reprodutivo (R1 - florescimento), após o material foi seco em estufa com circulação de ar forçado a 65°C até massa constante em segui foram moídas. Posteriormente foram submetidas à análise de Nitrogênio total segundo metodologia proposta por Tedesco et al. (1995). As

análises foram realizadas no Laboratório de Química do Solo, pertencentes a Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS – Brasil,

Extração MCW: Para realização das análises, foi realizado a coleta da folha bandeira no estágio fenológico (R1) floração plena e feita a extração por MCW. Os extratos, de plântulas, foram obtidos conforme metodologia de Bieleski & Turner (1966) com modificações. As amostras de folhas de trigo, cerca de 0,250g de material vegetal, foram maceradas com N₂ líquido e homogeneizadas com 10 mL de solução extratora MCW (metanol: clorofórmio: água; proporção de 12:5:3). Após 24 h, os extratos foram centrifugados a 600g por 30 min. Para cada 4 mL de sobrenadante foi acrescentado 1,0 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água e centrifugado novamente para a separação de fases. O sobrenadante contendo os metabólitos foi coletado e transferido para banho-maria a 38°C, permanecendo por cerca de 30 h para eliminação do resíduo de clorofórmio e concentração das amostras para as análises de proteína, aminoácidos e açúcar solúvel total, realizadas no Laboratório de Bioquímica, pertencentes a Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS - Brasil.

Extração e dosagem de proteína: O precipitado resultante da primeira centrifugação do MCW, foi resuspenso em 10mL de NaOH 0,1 N e homogeneizado em vórtex. Após 24h em repouso, estes extratos foram novamente centrifugados a 2.000rpm por 30min e coletado o sobrenadante contendo a porção protéica (BUENO, 1989), sendo armazenado a -20 °C para posterior dosagem de proteínas. A determinação de proteínas totais foi realizada conforme metodologia descrita por BRADFORD, (1976). Após a adição do reagente de cor sobre 2µL de amostra foi feita a posterior leitura das densidades ópticas (D.O.) a 595nm em leitor de microplaca spectraMax.

Quantificação de aminoácidos: Os extratos das plântulas foram devidamente diluídos em água pura, em um volume final de 1 mL, em tubos de ensaio, foram acrescentados de 0,5 mL de tampão citrato 0,2 M com pH 5,0, 0,2 mL de reativo de ninhidrina 5% em metilcelusolve (éter monometílico de etilenoglicol) e 1 mL de KCN 2% (v/v) em metilcelusolve (preparada a partir da solução 0,01 M de KCN em água pura). Os tubos de ensaio foram agitados, tampados com bolas de vidro e transferidos para o banho-maria a 100°C por 20 minutos. Em seguida, os tubos foram colocados no escuro

até atingir a temperatura ambiente e após foi acrescentado 1,3 mL de etanol 60%, completando o volume para 4 mL e feita a agitação dos tubos. A densidade ótica dos padrões de leucina (0-200 nmol) e das amostras foi medida a 570 nm, sendo feitas três repetições para cada amostra e o teor de aminoácidos solúveis totais foi expresso em $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

Dosagem de açúcar solúvel total (AST): A dosagem de AST foi realizada com base em Graham; Smydzuk (1965). Coletou-se 1 mL de cada amostra, de um branco (água) e dos padrões (10-150 μg de glicose mL^{-1}), em tubos de ensaio, mantidos em gelo. Adicionou-se 3 mL de solução de antrona (0,15% p/v em ácido sulfúrico concentrado) resfriada a cada tubo e cobriu-se imediatamente com bolinhas de vidro. Após 15 min, agitaram-se os tubos e incubou-se em banho-maria a 90°C por 20 min. Em seguida, mantiveram-se os tubos no escuro até a atingir temperatura ambiente. Os tubos foram novamente agitados e a densidade óptica (D.O) dos padrões, foi medidas em espectrofotômetro a 620 nm (marca Biospectro, modelo SP-22).

Extração e dosagem da atividade da enzima nitrato redutase (EC 1.6.6.1): A extração e dosagem da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida empregando-se o ensaio in vivo, de acordo com UFPR (2001). A extração e determinação da atividade da enzima nitrato redutase foi realizada em plantas de trigo, em material recém colhido. Após testes preliminares, na qual foi avaliada a atividade da enzima ao longo do dia, escolheu-se o horário das 9 horas da manhã para a coleta. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica, pertencentes a Universidade Federal de Pelotas – Pelotas – RS - Brasil.

As amostras de 0,5 g de tecido fresco de folhas incubadas em tubos de ensaio com 4 mL de solução tampão fosfato de potássio ($\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7,5, 0,2 mol/L contendo KNO_3 100 mmol/L e propanol 1%) e foram infiltradas sob vácuo a 300 mmHg, durante 1 minuto, repetido por três vezes, com a finalidade de facilitar a penetração do substrato nos tecidos vegetais.

Após a infiltração, os tubos foram incubados em banho-maria a 30°C por 15 minutos no escuro. Retirou-se um volume de 1 mL do meio de reação para tubos com 4 mL de reagente de nitrito (sulfanilamida 1% e N-1naftil etilenodiamina hidrocloreto 0,02%), os quais foram incubados novamente em banho-maria a 30°C por 15 minutos.

A concentração de nitrito foi determinada em espectrofotômetro (marca Biospectro, modelo SP-22) a 540 nm, comparando os valores obtidos com a curva padrão de nitrito em quantidades variando de 0 a 500 nmol de NO₂ - e a atividade da enzima foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MF h}^{-1}$.

3.2.4 Qualidade industrial de trigo

Para avaliação da qualidade industrial, foram coletadas amostras das sementes produzidas na safra de 2016 em quantidade suficiente para determinação das seguintes análises: proteína da semente, número de queda, força de glúten, estabilidade, extensibilidade, tenacidade, glúten seco, úmido e index, realizadas no Laboratório de Cereais do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA), da Universidade de Passo Fundo.

Para as análises laboratoriais de qualidade industrial de farinha de trigo as amostras foram limpas em separador de impurezas Intecnial, modelo Sintel, Brasil, condicionadas a 15% de umidade e deixadas em repouso por 12 h. Após foi moídas em moinho piloto marca Chopin, de acordo com o método número 26-10 da AACC (2000), através de uma passagem pelo sistema de quebra e duas passagens pelo sistema de redução.

O teor de proteína bruta do grão, número de queda, força de glúten, estabilidade, extensibilidade, tenacidade. Foram determinados em triplicata analisados em aparelho de infravermelho proximal NIRS (DS 2500, FOSS, Dinamarca). Sendo que as curvas calibração foram construídas pelo laboratório de Físico-Química do Centro de Pesquisa em Alimentação (Cepa), utilizando as seguintes metodologias: teor de proteína bruta de acordo com o método nº 984-13 da AACC (2012); número de queda de acordo com o método nº 56-81.03. AACC (2000); força de glúten, estabilidade, extensibilidade e tenacidade de acordo com o método nº 54-30.02. AACC (2000). Sendo que os resultados foram expressos em porcentagem.

3.3 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pelo conjunto de informações obtidas pela síntese dos dados de campo e em laboratório. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos avaliados pelo teste F, e quando significativo às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e quando necessário foi realizada regressão polinomial para os fatores quantitativos. As análises foram realizadas com o uso do programa estatístico RStudio Team (2016).

4 Resultados e Discussão

4.1 Caracteres agronômicos

Os resultados da safra 2016 apresentados na Tabela 1, permitiram constatar que as variáveis peso de espiga e comprimento de espiga, não apresentaram diferença estatística em relação as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense*. Entretanto, o número de afilhos férteis foi influenciado positivamente pela inoculação das estirpes ABv5 e ABv6 da bactéria *Azospirillum*, tanto de forma isolada como associada.

Tabela 1- Peso de espiga (PE); comprimento de espiga (CE) e número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
PE (g)	Sem	2,03	1,91	1,84	2,04	1,92	1,95 ^{ns}
	ABv5	1,98	1,99	1,99	1,89	1,98	1,96
	ABv6	2,08	1,98	1,96	2,12	2,04	2,04
	ABv5 + ABv6	1,96	1,92	1,93	1,95	2,12	1,98
	Média	2,01 ^{ns}	1,95	1,93	2,00	2,02	
	CV (%)	8,88					
CE (cm)	Sem	9,23	9,00	9,48	8,86	9,22	9,16 ^{ns}
	ABv5	8,93	9,09	9,35	9,24	9,30	9,18
	ABv6	9,00	8,99	9,06	9,43	9,34	9,16
	ABv5 + ABv6	9,15	8,99	9,14	9,21	9,30	9,16
	Média	9,08 ^{ns}	9,02	9,26	9,18	9,29	
	CV (%)	3,52					
NAF (n.m ²)	Sem	255	345	360	371	395	345b
	ABv5	358	402	406	410	415	398a
	ABv6	362	404	409	427	431	406a
	ABv5 + ABv6	372	418	424	431	439	417a
	Média	337*	392	400	410	420	
	CV (%)	5,88					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0,01 ≤ p < 0,05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0,05 pelo teste F).

Já na safra 2017 (Tabela 2), a inoculação com as estirpes ABv5 e ABv6 de forma isolada e associada (ABv5 + ABv6), proporcionou incremento no peso e

comprimento de espiga, assim como em um maior número de afilhos férteis quando comparado com a testemunha sem inoculação. Além disso, observou-se que as variáveis peso e comprimento de espiga não apresentaram diferenças estatísticas em relação à dose de nitrogênio aplicada, tanto para a safra 2016 como 2017.

Estudos realizados por Cavallet et al. (2000), apresentou incremento no comprimento médio da espiga quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense*. Já Rodrigues et al. (2014), avaliando características agrônômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, verificaram que a disponibilidade de nitrogênio promove o incremento no comprimento médio de espiga.

Tabela 2- Peso de espiga (PE); comprimento de espiga (CE) e número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
PE (g)	Sem	0,63	0,64	0,62	0,63	0,65	0,63b
	ABv5	0,71	0,69	0,69	0,65	0,67	0,68ab
	ABv6	0,73	0,71	0,72	0,67	0,68	0,70a
	ABv5 + ABv6	0,66	0,74	0,73	0,74	0,75	0,72a
	Média	0,68 ^{ns}	0,69	0,69	0,67	0,69	
	CV (%)	10,79					
CE (cm)	Sem	7,57	7,59	7,87	8,21	7,96	7,84b
	ABv5	7,48	7,98	8,25	8,35	8,00	8,01ab
	ABv6	7,84	8,13	8,30	8,49	8,25	8,20ab
	ABv5 + ABv6	8,08	8,22	8,39	8,71	8,57	8,39a
	Média	7,74 ^{ns}	7,98	8,20	8,44	8,20	
	CV (%)	3,18					
NAF (n.m ²)	Sem	327	270	312	312	292	303b
	ABv5	336	340	385	307	294	333ab
	ABv6	331	363	300	329	347	334ab
	ABv5 + ABv6	328	343	378	359	375	357a
	Média	331 ^{ns}	329	344	327	327	
	CV (%)	17,14					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Já o número de afilhos férteis na safra 2016, foi influenciado pelas doses de nitrogênio aplicadas (Tabela 2), onde os dados encontrados, enquadram-se em um

modelo polinomial quadrático positivo, sendo que a dose que proporcionou um maior número de afilhos férteis por metro quadrado foi de 103,75 Kg de nitrogênio por hectare (Figura 2). Em contrapartida, na safra 2017 esta mesma variável não foi influenciada estatisticamente pelas doses de nitrogênio. Sendo esta, uma das variáveis mais influenciadas pela disponibilidade de nitrogênio, estando estes resultados diretamente relacionados com o rendimento de grãos.

Além disso, as respostas do número de afilhos férteis, em relação à aplicação de nitrogênio em cobertura (Tabelas 1 e 2; Figura 2) pode ser explicada pelo fato das condições climáticas, que na safra 2016 foi favorável tendo maior precipitação pluviométrica no início da cultura, possibilitando que a planta absorvesse o nitrogênio aplicado. Sendo, que esta variável está diretamente ligada a disponibilidade de nitrogênio nos estádios iniciais do desenvolvimento da cultura (MALAVOLTA, 2006).

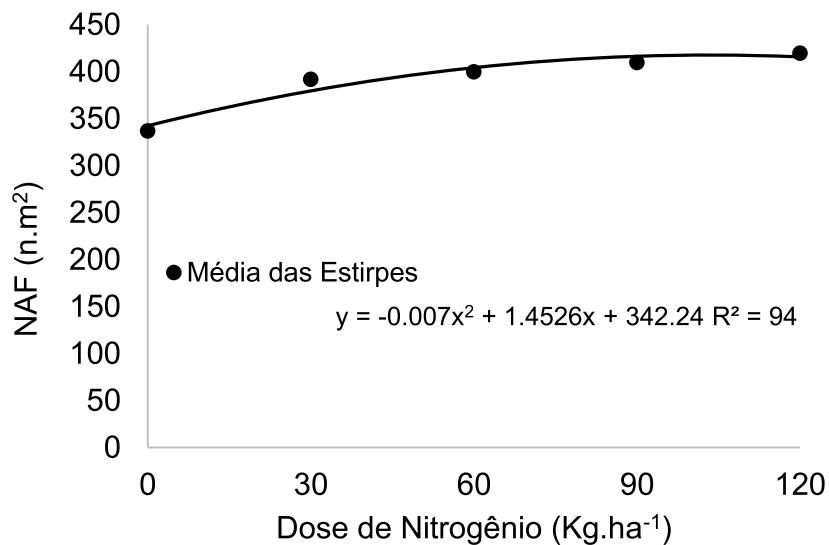


Figura 2 - Número de afilhos férteis (NAF) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidos a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Da mesma forma, Mundstock e Bredemeier (2001), em estudos realizados com aveia, verificaram que a aplicação de nitrogênio no início do desenvolvimento da cultura é importante para aumentar o número de afilhos férteis (MALAVOLTA, 2006;

MUNDSTOCK; BREDEMEIER, 2001). Pietro-Souza et al. (2013), também verificaram que a adubação nitrogenada promoveu aumento na produção de afilhos.

Em relação aos dados obtidos na safra 2016 de peso hectolitro (PH) e peso de mil sementes (PMS), não houve diferença estatística em relação a utilização das estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense*, assim como para as doses de nitrogênio aplicadas (Tabela 3). Em relação ao rendimento de grão (RG), a inoculação com as estirpes de forma associada (ABv5 + ABv6), proporcionou maior produção de trigo em todas as doses de nitrogênio, atingido uma média de 3853 kg de trigo por hectare, contra apenas 3291 kg.ha⁻¹ na testemunha (sem inoculante), evidenciado uma diferença de 562kg.ha⁻¹.

Tabela 3 - Peso hectolitro (PH); peso de mil sementes (PMS) e rendimento de grão (RG) oriundos de sementes de submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
PH (Kg.hL ⁻¹)	Sem	77,57	76,94	76,95	76,78	77,10	77,07 ^{ns}
	ABv5	77,43	76,99	76,24	76,10	76,65	76,68
	ABv6	76,44	77,43	77,29	77,05	76,37	76,92
	ABv5 + ABv6	76,95	77,44	77,70	76,62	76,76	77,09
	Média	77,10 ^{ns}	77,20	77,05	76,64	76,72	
	CV (%)	0,98					
PMS (g)	Sem	30,59	29,92	29,71	29,93	30,50	30,13 ^{ns}
	ABv5	30,85	30,01	30,37	30,80	29,96	30,40
	ABv6	30,14	30,51	30,23	30,40	30,26	30,31
	ABv5 + ABv6	29,80	31,08	30,63	30,09	30,97	30,51
	Média	30,34 ^{ns}	30,38	30,24	30,30	30,42	
	CV (%)	3,7					
RG (Kg.ha ⁻¹)	Sem	2639	3373	3372	3567	3506	3291b
	ABv5	2778	3454	3622	3606	3675	3427b
	ABv6	3434	3395	3771	3514	3734	3569ab
	ABv5 + ABv6	3371	4006	3863	3900	4124	3853a
	Média	3056*	3557	3657	3647	3760	
	CV (%)	10,03					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Dessa forma, os resultados obtidos para produtividade corroboram com os de Sala et al. (2007), que observaram aumento da produção de trigo com a inoculação de *Azospirillum*. Ainda, Santa et al. (2008), constataram efeitos significativos sobre a produtividade de grãos de trigo (em média de 23,9% em relação à testemunha) no tratamento inoculado com *Azospirillum brasilense*, com e sem a adição de fertilização nitrogenada

Já os valores observados na safra 2017 (Tabela 4), evidenciaram que a inoculação com as estirpes ABv5 e ABv6, tanto de forma isolada como associada, se destacaram em relação à testemunha para as variáveis peso hectolitro (PH), peso de mil sementes (PMS) e rendimento de grão (RG).

Tabela 4 - Peso hectolitro (PH); peso de mil sementes (PMS) e rendimento de grãos (RG) oriundos de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (Kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
PH (Kg.hL ⁻¹)	Sem	45,63	46,00	46,35	47,63	51,48	47,42c
	ABv5	46,87	46,95	48,88	50,37	52,46	49,11b
	ABv6	47,57	47,21	49,39	50,88	52,47	49,51ab
	ABv5 + ABv6	48,82	49,21	50,88	51,88	52,73	50,70a
	Média	47,22*	47,34	48,88	50,19	52,29	
	CV (%)	3,41					
PMS (g)	Sem	18,42	18,96	18,71	19,23	20,79	19,22c
	ABv5	18,92	19,06	19,74	20,33	20,91	19,79bc
	ABv6	19,21	19,43	19,94	20,54	21,18	20,06ab
	ABv5 + ABv6	19,71	19,87	20,54	20,95	21,19	20,45a
	Média	19,07*	19,33	19,73	20,26	21,01	
	CV (%)	3,43					
RG (Kg.ha ⁻¹)	Sem	1766	1559	1726	1752	1769	1714b
	ABv5	1861	1932	1768	1803	1939	1861ab
	ABv6	1853	2032	1813	1906	2087	1938ab
	ABv5 + ABv6	1890	2045	2112	2162	2226	2087a
	Média	1843 ^{ns}	1892	1855	1906	2005	
	CV (%)	14,35					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Contudo, quando realizado a inoculação com as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense*, de forma associada (ABv5 + ABv6), se obteve os melhores resultados para

PH = 50,70 kg.hL⁻¹, PMS = 20,45 g e RG = 2087 Kg.ha⁻¹. Cabe ressaltar que, apenas a inoculação com as estirpes de forma associada sem adição de nitrogênio em cobertura, foram obtidos valores correspondentes aos mesmos de uma aplicação de 90 kg de nitrogênio por hectare (Tabela 4).

Resultados que evidenciam a possibilidade da redução da adubação nitrogenada, quando aliada ao uso da bactéria *Azospirillum brasilense*, estando de acordo com os dados obtidos por Didonet et al. (2000), que verificaram uma translocação mais eficiente do N para os grãos, o que possibilitou grãos mais pesados e mais cheios e consequentemente um melhor realocamento do N presente na biomassa para os grãos.

Em relação à resposta das doses de nitrogênio (N) na safra 2016 (Figura 3), foi verificado um acréscimo no rendimento de grãos até a dose máxima de eficiência técnica, 95 kg de nitrogênio por ha⁻¹, acarretando um rendimento de 3750 kg.ha⁻¹. De forma similar Teixeira Filho et al. (2007) verificaram efeito positivo do N na produtividade da cultura do trigo, ainda segundo os mesmos autores, o melhor aproveitamento de N foi observado entre 70 a 77 kg ha⁻¹ do elemento químico. Sendo assim, estes resultados corroboram com os mesmos relatados por Braz et al. (2006), que as doses de N proporcionam melhor produtividade em trigo.

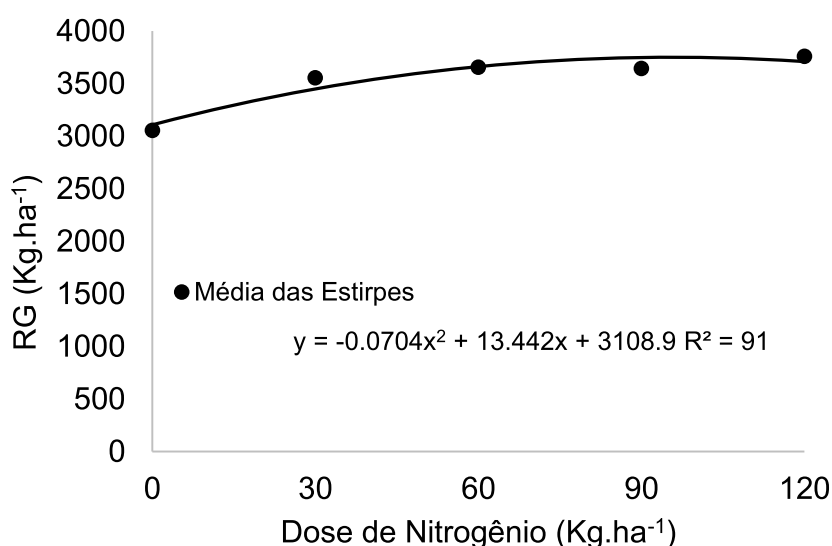


Figura 3 - Rendimento de grãos (RG) de plantas oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Na figura 4A e 4B, onde estão apresentados os dados de peso hectolitro (PH) e peso de mil sementes (PMS), foi verificada tendência linear positiva com o aumento da dose de nitrogênio para ambas as variáveis. Além disso, verificou-se que para cada quilograma de nitrogênio aplicado em cobertura, proporcionou incremento de 0,0433 Kg.hL⁻¹ no (PH) e 0,0161 g no (PMS).

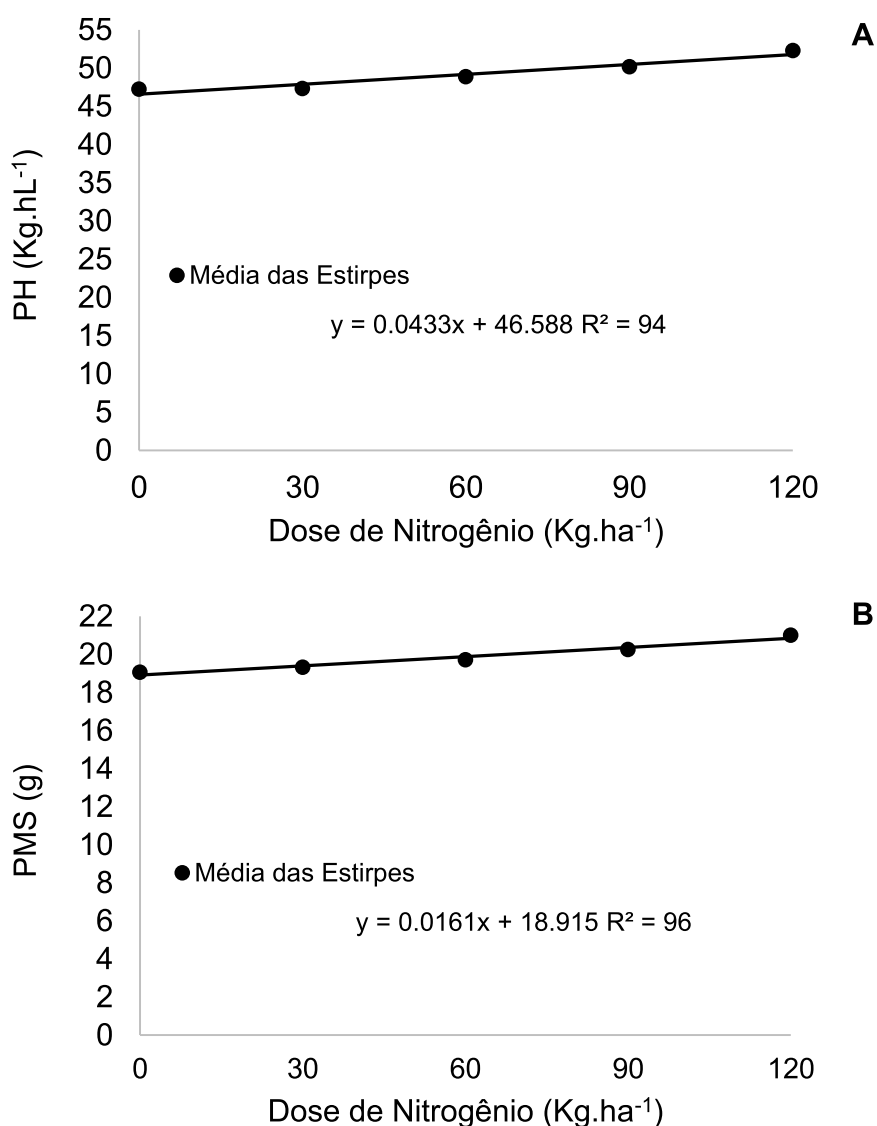


Figura 4 - (A) = peso hectolitro (PH); (B) = peso de mil sementes (PMS) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Resultados semelhantes foram encontrados por Gutkoski et al. (2011), que testando doses de nitrogênio em cultivares de trigo, observaram diferenças significativas no peso hectolitro, em relação ao aumento da dose de N, atribuído à maior disponibilidade de assimilados durante o período de enchimento dos grãos. Ainda os mesmos autores, encontraram resultados positivos com o aumento da dose de N para o peso de mil sementes. Entretanto resultados diferentes foram obtidos por Teixeira Filho et al. (2008) e Theago et al. (2014), os quais não verificaram influência das doses de N nos parâmetros de PH e PMS.

4.2 Qualidade fisiológica de sementes

Na Tabela 5, estão representados os dados da qualidade fisiológica das sementes oriundas da safra 2016, onde foi possível verificar interação entre os tratamentos para a variável primeira contagem de germinação (PCG), sendo que nas doses zero, 30 e 120 kg de nitrogênio por hectare, os melhores resultados foram observados quando houve inoculação com a associação das estirpes (ABV5 + ABV6), tendo como resultados intermediários os tratamentos com as estirpes aplicadas de forma isolada e o pior resultado foi observado na testemunha (sem inoculação).

Já para a dose de nitrogênio 60 kg.ha⁻¹, a inoculação com as estirpes, tanto de forma isolada como associada foram estatisticamente iguais, diferindo apenas da testemunha. E na dose de 90 kg de N.ha⁻¹ a inoculação com associação das estirpes (ABV5 + ABV6) e a estirpe ABV6 de forma isolada foram estatisticamente iguais diferindo da estirpe ABV5 e da testemunha (sem inoculação). Destaca-se ainda, que a inoculação com as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* de forma associada (ABV5 +ABV6), contribuiu em média com 22 p.p a mais que a testemunha para a variável (PCG) (Tabela 5).

Ainda na Tabela 5, foi verificado o comportamento similar para a germinação (G), envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE), sendo que a inoculação com as estirpes ABV5 e AVb6 tanto de forma isolada como associada, proporcionaram melhores resultados em todas as doses de nitrogênio, quando comparadas com a testemunha. Porém, quando a inoculação foi realizada com a associação das estirpes

(ABv5 + ABv6), os resultados foram superiores aos demais tratamentos, evidenciando uma diferença média de 11 p.p para G, 15 p.p para EA e redução de $6,68 \mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ para CE.

Tabela 5 - Primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha^{-1})					Média
		0	30	60	90	120	
PCG (%)	Sem	39c	44c	48b	60b	58c	50
	ABv5	56b	59b	63a	61b	65b	61
	ABv6	57b	64b	65a	68a	65b	64
	ABv5 + ABv6	69a	75a	73a	69a	76a	72
	Média	55	60	62	64	66	
	CV (%)	9,27					
G (%)	Sem	64	72	70	81	86	75c
	ABv5	75	76	80	81	87	80b
	ABv6	76	77	79	84	91	81ab
	ABv5 + ABv6	76	79	92	93	92	86a
	Média	73*	76	81	85	89	
	CV (%)	8,49					
EA (%)	Sem	56	60	60	62	79	63d
	ABv5	65	64	63	70	78	68c
	ABv6	65	66	70	80	81	72b
	ABv5 + ABv6	73	74	74	82	85	78a
	Média	64*	66	67	73	81	
	CV (%)	6,27					
CE ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)	Sem	31,51	30,05	30,63	30,16	28,89	30.25a
	ABv5	29,73	27,47	28,01	25,47	25,13	27.16b
	ABv6	28,15	25,38	25,65	24,15	23,25	25.32bc
	ABv5 + ABv6	26,65	22,90	23,16	21,83	23,32	23.57c
	Média	29,01*	26,45	26,86	25,40	25,15	
	CV (%)	8,78					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, $0.01 \leq p < 0.05$ pelo teste F; ns = não significativo, $p \geq 0.05$ pelo teste F).

Já na safra 2017 (Tabela 6), observou-se valores de germinação e de vigor menores em relação aos obtidos na safra 2016 (Tabela 5), fato este devido as condições climáticas desfavoráveis para a cultura do trigo no ano de 2017, com grande incidência de chuva no final do ciclo da cultura e no momento da colheita, e elevadas temperatura, ocasionado preda na qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 6: Primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); envelhecimento acelerado (EA); condutividade elétrica (CE); de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
PCG (%)	Sem	34	35	35	36	36	35c
	ABv5	45	47	45	45	45	45b
	ABv6	47	45	48	47	48	47b
	ABv5 + ABv6	51	50	50	52	52	51a
	Média	44 ^{ns}	44	44	45	45	
	CV (%)	8,14					
G (%)	Sem	59c	59b	60c	65c	64b	61
	ABv5	65bc	67a	70b	74b	75a	70
	ABv6	69ab	69a	70b	82a	75a	73
	ABv5 + ABv6	71a	73a	81a	83a	78a	77
	Média	66	67	70	76	73	
	CV (%)	4,43					
EA (%)	Sem	37	35	36	36	36	36d
	ABv5	44	44	47	47	48	46c
	ABv6	54	54	55	58	57	56b
	ABv5 + ABv6	65	63	63	63	64	63a
	Média	50 ^{ns}	49	50	51	51	
	CV (%)	5,04					
CE ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)	Sem	55,35	53,72	52,26	44,35	45,62	50,26a
	ABv5	41,62	44,24	42,26	42,12	42,29	42,51b
	ABv6	42,61	38,60	37,81	38,37	35,49	38,57c
	ABv5 + ABv6	34,57	35,03	34,42	31,98	29,69	33,14d
	Média	43,54*	42,90	41,69	39,21	38,27	
	CV (%)	10,09					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, $0.01 \leq p < 0.05$ pelo teste F; ns = não significativo, $p \geq 0.05$ pelo teste F).

Porém, observou resposta positiva da inoculação com estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense*, onde para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE) a inoculação com as estirpes ABv5 e AVb6 tanto de forma isolada como associada, proporcionaram melhores resultados em todas as doses de nitrogênio, quando comparadas com a testemunha. Porém, quando a inoculação foi realizada com a associação das estirpes (ABv5 + ABv6), os resultados foram superiores aos demais tratamentos, evidenciando

uma diferença média de 16 p.p para PCG, 27 p.p para EA e redução de 17,12 $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ para CE (Tabela 6).

Ainda na Tabela 6, germinação (G) verificou-se interação entre os tratamentos, sendo que nas doses zero, e 60 kg de nitrogênio por hectare, os melhores resultados foram observados quando houve inoculação com a associação das estirpes (ABV5 + ABV6), Já para a dose de nitrogênio 30 e 120 kg.ha^{-1} , a inoculação com as estirpes, tanto de forma isolada como associada foram estatisticamente iguais, diferindo apenas da testemunha. E na dose de 90 kg de N.ha^{-1} a inoculação com associação das estirpes (ABV5 + ABV6) e a estirpe ABV6 foi superior, sendo que a estirpe ABV5 proporcionou resultados intermediários, e onde não houve inoculação foi observado o pior resultado.

Em relação a aplicação das doses de nitrogênio na safra 2016, evidenciou-se que para a variável PCG, a inoculação com as estirpes ABV5 e ABV6 aplicadas de forma isoladas e associadas, não se enquadraram em nenhum modelo polinomial. Entretanto, não foram significativas em função da dose de nitrogênio. Em se tratando da testemunha (sem inoculação), foi verificada uma tendência linear positiva, com incremento de 0,1833 p.p para cada Kg^{-1} de N aplicado e cobertura (Figura 5A).

Resultados referentes às variáveis G e EA, foi verificado que as diferentes doses de nitrogênio influenciaram positivamente, para melhoria da germinação e vigor das sementes produzidas. Cabe ressaltar, que para cada quilograma de nitrogênio adicionado em cobertura, ocorreu um incremento de 0,1355 e 0,1348 pontos percentuais respectivamente (Figuras 5B e 5C).

Na condutividade elétrica (Figura 5D), foi verificado que as doses de nitrogênio, proporcionaram efeito positivo em relação ao vigor das sementes, fato evidenciado pela diminuição linear dos solutos extravasados na solução. É importante salientar que, para cada Kg^{-1} de N adicionado em cobertura, diminuiu 0,0292 $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de solutos extravasados pela sementes.

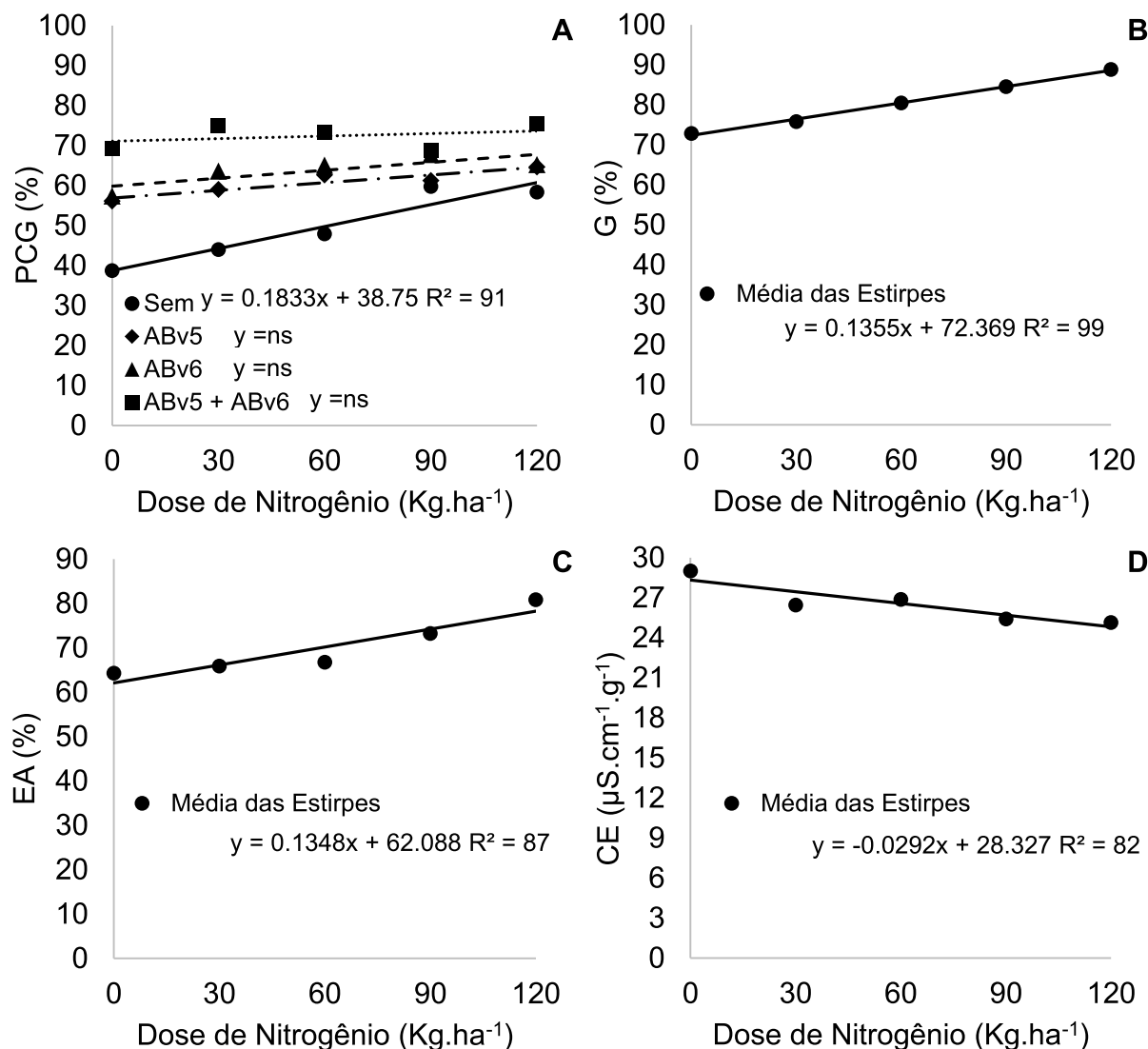


Figura 5 - (A) = Primeira contagem de germinação (PCG); (B) = germinação (G); (C) = envelhecimento acelerado (EA) e (D) = condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Já na safra 2017, as doses de nitrogênio aplicadas influenciou positivamente as variáveis de germinação (G) e condutividade elétrica (CE), ficando evidente que para a G, a inoculação com as estirpes ABv5 e ABv6 aplicadas de forma associada, enquadrou-se em nenhum modelo polinomial quadrático onde a máxima eficiência técnica foi observada na dose de , em relação a inoculação com as estirpes ABv6 e ABv5 de forma isolada e a testemunha, observou-se uma tendência linear positiva, com

incremento de 0,0819, 0,0906 e 0,0478 p.p para cada Kg^{-1} de N aplicado respectivamente (Figura 6A).

Em relação a condutividade elétrica (Figura 6B), foi verificado que as doses de nitrogênio, proporcionaram efeito positivo em relação ao vigor das sementes, fato evidenciado pela diminuição linear dos solutos extravasados na solução, reduzindo $0,0474 \mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ para cada Kg^{-1} de N adicionado em cobertura.

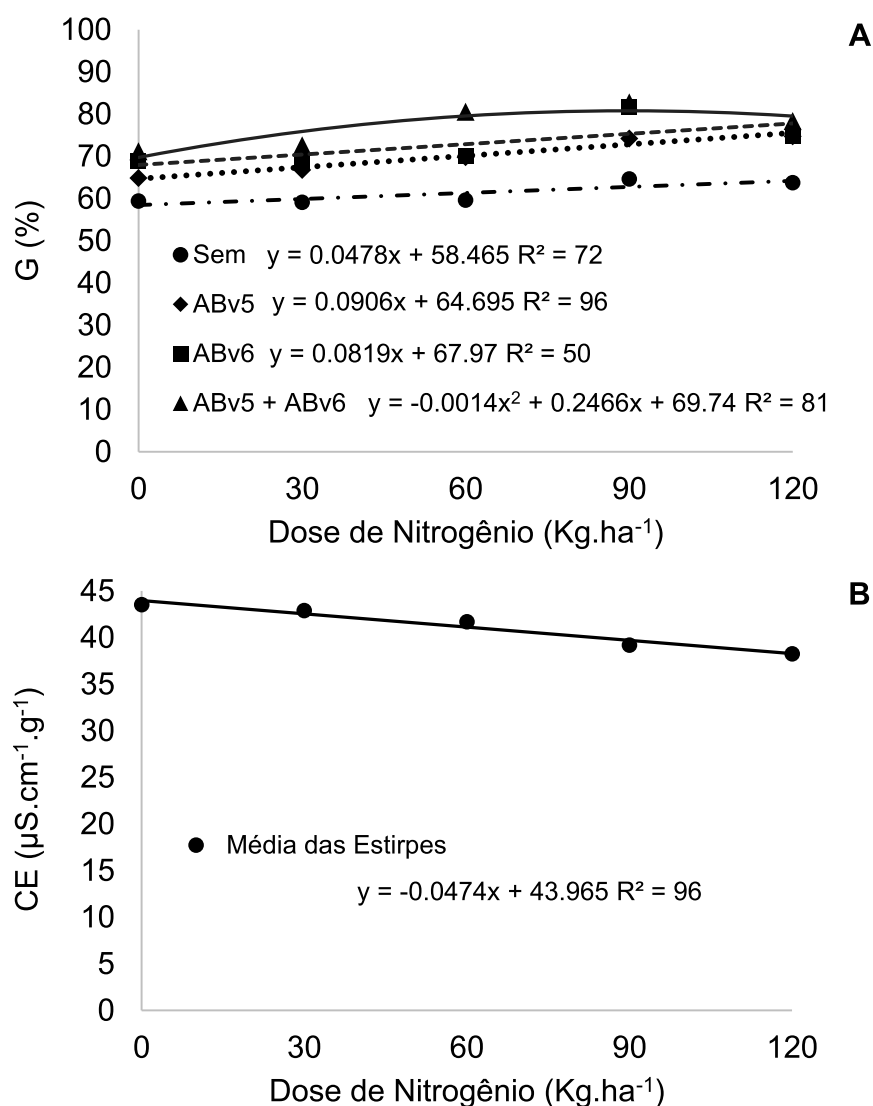


Figura 6: - (A) = germinação (G) e (B) = condutividade elétrica (CE) de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Nesse contexto, foi verificado que a inoculação com as estirpes ABv5 + ABv6 associadas com as doses de nitrogênio, contribuíram de forma expressiva na qualidade fisiológica das sementes de trigo produzidas em relação a viabilidade e vigor. Fato que pode ser explicado pelo aumento de proteínas nas sementes, o que pode ser verificado na Tabela 10. Zimmer (2012), relata que os processos fisiológicos de germinação e vigor, são influenciados pelos teores de proteína, lipídios, amido e açúcares. Além disso, Carvalho; Nakagawa (2012), relatam que o aumento na porcentagem de germinação em função de doses de nitrogênio se deve provavelmente ao fato deste nutriente estar relacionado à formação do embrião e dos órgãos de reserva.

Concordando com os resultados encontrados neste estudo, Brzezinski et al. (2014) concluíram que a inoculação com o gênero *Azospirillum brasilense* favorece o vigor em sementes de trigo. Corroborando com Cassán et al. (2009), nos quais o tratamento de sementes com cepas de *Azospirillum brasilense* promoveram aumentos significativos na germinação e vigor de sementes de milho e soja.

Ainda, em relação à adubação nitrogenada, Imolesi et al. (2001), verificaram efeito significativo da adubação nitrogenada em sementes de milho na emergência de plântulas em canteiros. Em outro estudo, Favarato et al. (2012) constataram efeito direto do aumento das doses de nitrogênio nos resultados da germinação de sementes de trigo submetidas ao teste de envelhecimento acelerado.

Pesquisas realizadas com doses de nitrogênio, conjugadas à inoculação com *Azospirillum brasilense*, observaram acréscimos no vigor e ganhos satisfatórios na qualidade fisiológica das sementes de trigo, com isso, concluíram que a inoculação com bactérias pode ser uma tecnologia alternativa de cultivo para quem almeja obter sementes com maior qualidade (PICCININ et al., 2015).

Os dados de comprimento de parte aérea de plântulas (CPA), comprimento de raiz de plântulas (CR) e comprimento total de plântulas (CPT), obtidos de plântulas oriundas de sementes produzidas na safra 2016 e 2017 (Tabela 7 e 8), não diferiram estatisticamente em relação à inoculação com as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilens* e as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura.

Tabela 7 - Comprimento de parte aérea de plântulas (CPA); comprimento de raiz de plântulas (CR) e comprimento total de plântulas (CTP) oriundas de sementes de trigo, submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
CPA (cm)	Sem	3,76	3,69	3,38	3,62	3,71	3,63 ^{ns}
	ABv5	3,63	3,64	3,61	3,34	3,40	3,52
	ABv6	3,58	3,56	3,54	3,65	3,64	3,59
	ABv5 + ABv6	3,75	3,67	3,79	3,45	3,67	3,67
	Média	3,68 ^{ns}	3,64	3,58	3,51	3,61	
	CV (%)	6,92					
CR (cm)	Sem	7,16	7,01	6,44	6,91	6,79	6,86 ^{ns}
	ABv5	6,49	6,74	6,53	6,63	6,40	6,55
	ABv6	7,03	6,59	6,64	6,25	6,95	6,69
	ABv5 + ABv6	6,83	6,70	6,78	6,67	7,15	6,82
	Média	6,88 ^{ns}	6,76	6,60	6,62	6,82	
	CV (%)	6,02					
CTP (cm)	Sem	10,92	10,70	9,82	10,53	10,51	10,49 ^{ns}
	ABv5	10,11	10,38	10,14	9,97	9,80	10,08
	ABv6	10,61	10,14	10,17	9,90	10,59	10,28
	ABv5 + ABv6	10,58	10,37	10,57	10,11	10,82	10,49
	Média	10,56 ^{ns}	10,40	10,17	10,13	10,43	
	CV (%)	5,38					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Verificou-se ainda que os valores obtidos na safra 2017 foram menores que os da safra 2016 para as variáveis de comprimento e massa seca de plântulas (Tabela 7, 8, 9 e 10), fato este que pode ser explicado pelas condições climáticas desfavoráveis para a cultura do trigo no ano de 2017, ocasionado preda na qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 8: Comprimento de parte aérea de plântula (CPA); comprimento de raiz de plântula (CR); comprimento total de plântula (CPT); oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
CPA (cm)	Sem	2,50	2,63	2,40	2,69	2,59	2,56 ^{ns}
	ABv5	2,50	2,60	2,39	2,49	2,50	2,50
	ABv6	2,25	2,31	2,25	2,42	2,53	2,35
	ABv5 + ABv6	2,62	2,63	2,34	2,58	2,36	2,51
	Média	2,47 ^{ns}	2,54	2,34	2,55	2,50	
	CV (%)	9,87					
CR (cm)	Sem	4,03	3,90	4,04	4,00	3,79	3,95 ^{ns}
	ABv5	4,09	4,25	3,89	4,12	3,97	4,06
	ABv6	3,74	3,98	3,63	3,98	4,37	3,94
	ABv5 + ABv6	3,76	3,64	4,22	3,96	4,06	3,93
	Média	3,90 ^{ns}	3,94	3,95	4,01	4,05	
	CV (%)	11,3					
CTP (cm)	Sem	6,52	6,53	6,44	6,69	6,38	6,51 ^{ns}
	ABv5	6,58	6,86	6,28	6,61	6,47	6,56
	ABv6	5,99	6,29	5,89	6,40	6,90	6,29
	ABv5 + ABv6	6,38 ^{ns}	6,26	6,56	6,54	6,42	6,43
	Média	6,37	6,48	6,29	6,56	6,54	
	CV (%)	7,83					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Em relação as variáveis de massa seca de parte aérea de plântulas (MSPA), massa seca de raiz de plântulas (MSR) e massa seca total de plântulas (MST), obtidas de plântulas oriundas de sementes produzidas na safra 2016 e 2017 (Tabela 9 e 10) observou-se comportamento similar, onde não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 9 - Massa seca de parte aérea de plântulas (MSPA); massa seca de raiz de plântulas (MSR) e massa seca total de plântulas (MST) oriundas de sementes de trigo, submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
MSPA (mg)	Sem	2,79	2,70	2,41	2,62	2,76	2,66 ^{ns}
	ABv5	2,67	2,91	2,72	2,60	2,69	2,72
	ABv6	2,86	2,52	2,52	2,74	2,82	2,69
	ABv5 + ABv6	2,91	2,71	2,82	2,62	2,74	2,76
	Média	2,81 ^{ns}	2,71	2,62	2,65	2,75	
	CV (%)	8,26					
MSR (mg)	Sem	3,42	3,30	2,86	3,06	3,27	3,18 ^{ns}
	ABv5	3,04	3,15	3,11	3,16	2,97	3,09
	ABv6	3,20	2,96	3,14	3,04	3,31	3,13
	ABv5 + ABv6	3,23	3,07	3,13	3,09	3,07	3,12
	Média	3,22 ^{ns}	3,12	3,06	3,09	3,15	
	CV (%)	10,24					
MST (mg)	Sem	6,22	6,00	5,27	5,67	6,03	5,84 ^{ns}
	ABv5	5,70	6,06	5,83	5,76	5,66	5,80
	ABv6	6,06	5,48	5,67	5,78	6,13	5,82
	ABv5 + ABv6	6,14	5,78	5,95	5,71	5,81	5,88
	Média	6,03 ^{ns}	5,83	5,68	5,73	5,91	
	CV (%)	8,05					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Resultados foram similares foi encontrado por Cotrim et al. (2016) onde os quais verificaram que a aplicação isolada de *Azospirillum brasilense* não influenciou os parâmetros de comprimento de raiz, comprimento de parte aérea, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea em relação à testemunha. Por outro lado, Rampim et al. (2012) detectaram incremento de comprimento de parte aérea e de raiz com tratamento de sementes de trigo com inoculação *Azospirillum brasilense*, demonstrando a interferência positiva das bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plântulas.

Tabela 10: Massa seca de parte aérea de plântula (MSPA); massa seca de raiz de plântula (MSR); massa seca total de plântula (MST); oriundas de sementes de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2017. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
MSPA (mg)	Sem	1,73	1,89	2,05	1,82	1,89	1,88 ^{ns}
	ABv5	1,65	1,90	1,80	1,79	1,82	1,79
	ABv6	1,67	1,47	1,71	1,75	1,82	1,69
	ABv5 + ABv6	1,89	1,74	1,70	1,87	1,69	1,78
	Média	1,73 ^{ns}	1,75	1,81	1,81	1,80	
	CV (%)	14,95					
MSR (mg)	Sem	1,87	1,89	1,97	2,01	1,95	1,94 ^{ns}
	ABv5	1,72	2,14	1,68	2,00	1,97	1,90
	ABv6	1,54	1,78	1,73	1,79	1,85	1,74
	ABv5 + ABv6	1,98	2,06	1,94	1,80	1,82	1,92
	Média	1,78 ^{ns}	1,97	1,83	1,90	1,90	
	CV (%)	16,98					
MST (mg)	Sem	3,60	3,78	4,02	3,83	3,84	3,81 ^{ns}
	ABv5	3,36	4,04	3,47	3,79	3,79	3,69
	ABv6	3,22	3,25	3,44	3,54	3,67	3,42
	ABv5 + ABv6	3,87 ^{ns}	3,80	3,64	3,67	3,51	3,70
	Média	3,51	3,72	3,64	3,71	3,70	
	CV (%)	14,28					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

4.3 Análises bioquímicas

Na Tabela 11, foi verificado que as estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* ABv5 e ABv6, influenciaram positivamente o índice de clorofila foliar total (ICFT), teor de nitrogênio na folha (N Total) e teor de proteína (P) quando aplicadas de forma isolada, no entanto, se obteve o melhor resultado quando as mesmas foram aplicadas de forma associada, independente das doses de nitrogênio.

Além disso, pode-se observar que quando as plantas foram cultivadas com as estirpes da bactéria de forma associada, apresentaram valores elevados, mesmo quando não houve aplicação suplementar de nitrogênio, sendo que estes valores

ficaram próximos aos encontrados onde houve somente a aplicação de 120 Kg de nitrogênio por hectare.

Fato este que pode ser explicado pela disponibilização de nitrogênio fornecido pelas bactérias do gênero *Azospirillum* para as plantas, pois com mais nitrogênio disponível, aumentaram os teores de clorofila nas folhas, possibilitando que a planta produza mais fotoassimilados, permitindo que a planta tenha melhor desenvolvimento, da parte aérea e raiz, melhorando a produção e diminuindo custos.

Tabela 11 - Índice de clorofila foliar total (ICFT); teor de nitrogênio na planta (N Total) e proteína na folha (P) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
ICFT	Sem	44,56	45,62	46,68	46,77	47,77	46,28c
	ABv5	46,01	46,03	47,00	47,53	48,82	47,08bc
	ABv6	46,98	46,27	48,10	48,52	49,26	47,83ab
	ABv5 + ABv6	47,23	47,26	49,78	48,88	49,05	48,44a
	Média	46,19*	46,29	47,89	47,92	48,73	
	CV (%)	2,77					
N Total (g.Kg ⁻¹)	Sem	9,59	10,85	11,71	12,07	13,10	11,46c
	ABv5	10,02	11,08	12,21	12,35	13,91	11,91bc
	ABv6	10,80	11,39	12,44	12,71	14,38	12,34ab
	ABv5 + ABv6	11,28	11,91	12,60	13,63	14,70	12,82a
	Média	10,42*	11,31	12,24	12,69	14,02	
	CV (%)	6,48					
P (mg.g ⁻¹ MF)	Sem	11,30	12,26	13,75	12,72	13,91	12,79c
	ABv5	12,83	13,72	14,64	13,94	14,52	13,93bc
	ABv6	13,26	14,22	15,92	14,55	16,14	14,82b
	ABv5 + ABv6	14,27	14,87	17,75	16,63	20,11	16,72a
	Média	12,91*	13,77	15,51	14,46	16,17	
	CV (%)	11,57					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Neste contexto, Quadros et al. (2014), constataram efeito positivo no índice de clorofila foliar onde houve inoculação com *Azospirillum brasilense*, em relação aos tratamentos onde não houve inoculação. Assim como Kappes et al. (2013), que

encontraram efeitos positivos no índice de clorofila em plantas inoculadas com a bactéria.

Portugal et al. (2012), relataram que o teor de N na cultura de milho aumentou devido à inoculação, que foi atribuído como resultado da fixação biológica de N_2 e do aumento do volume do sistema radicular promovido pela bactéria, permitindo com que a planta absorvesse maior quantidade de N do solo.

Além disso, o aumento no teor de proteínas ocorreu devido a maior concentração de clorofila e nitrogênio nas folhas, permitindo que as plantas sintetizassem mais proteínas. Concordando com o exposto, Martuscello et al. (2016), observaram que a disponibilidade de nitrogênio promoveu efeito positivo nos teores de proteína bruta de lâminas foliares e colmos de capim-elefante.

Além dos resultados positivos favorecidos pela bactéria, também, pode-se observar aumento significativo e linear conforme o acréscimo das doses de nitrogênio para o índice de clorofila foliar total, teor de nitrogênio na planta e teor de proteína na folha (Figura 7). Cabe ressaltar, que para cada quilo grama de nitrogênio aplicado em cobertura, proporcionou incremento de 0,0223 no (ICFT); 0,0286 g.Kg⁻¹ de nitrogênio na folha e 0,024 mg.g⁻¹MF de proteína na folha, observados na figura 6 A, B e C, respectivamente.

Os resultados obtidos corroboram com os encontrados por Theago et al (2014), que relataram que o aumento das doses de N resultaram em aumento linear das concentrações de N e de clorofila nas folhas de trigo. Ainda, Teixeira Filho et al. (2008), relataram o aumento da concentração de N na folha bandeira do trigo, em razão do aumento das doses de N. Além disso, Santos et al. (2010), observaram que a adubação com nitrogênio resultou na elevação linear dos teores de proteína bruta da folha verde de capim-braquiária em 38%.

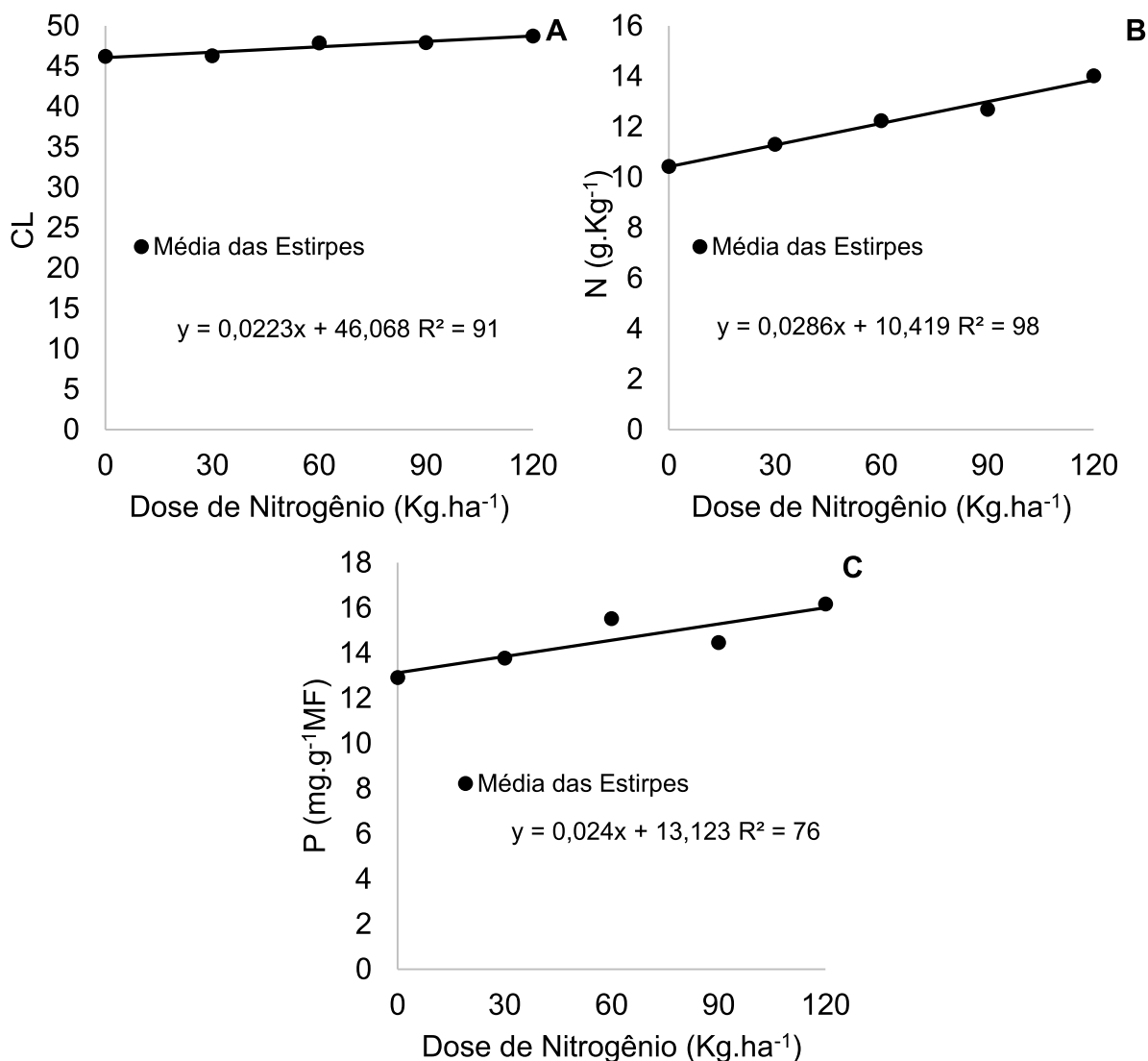


Figura 7 - (A) = Clorofila total (CL); (B) = teor de nitrogênio na planta (N Total) e (C) = proteína na folha (P) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Para variável aminoácidos (AA), houve interação entre os tratamentos (Tabela 12), onde na dose zero de nitrogênio a inoculação das sementes com a associação das estirpes ABv5 + ABv6 da bactéria *Azospirillum brasilense* foi superior quando comparado com a inoculação das estirpes de forma isolada, e da testemunha (sem inoculação). Ainda na dose zero, as estirpes ABv5 e ABv6 quando aplicadas de forma isolada foram superiores em relação à testemunha.

Na dose 30 e 60 Kg de nitrogênio por hectare (Kg de N.ha⁻¹), foi verificado que a inoculação de sementes com as estirpes de forma isolada (ABv5 e ABv6) e quanto combinadas (ABv5 + ABv6), foram igualmente superiores quando comparadas com a testemunha sem inoculação. Além disso, observou-se que na dose de 90 Kg de N.ha⁻¹, apenas a inoculação com as estirpes ABv5 e ABv6 de forma associada se destacou, proporcionando maior concentração de AA (17,37 µmol.g⁻¹MF) em relação aos demais tratamentos. Já na dose de 120 Kg de N.ha⁻¹, constatou-se que a inoculação com a estirpe ABv6 de forma isolada e a inoculação com as estirpes (ABv5 + ABv6) de forma associada, foram superiores em relação a inoculação com a estirpe ABv5 de forma isolada e que a testemunha (sem inoculação) (Tabela 12).

Tabela 12 - Aminoácidos (AA); açúcar solúvel total (AST) e atividade da nitrato redutase (NR) em plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
AA (µmol.g ⁻¹ MF)	Sem	7,53c*	10,90b	11,52b	12,99b	12,84b	11,16
	ABv5	11,69b	13,59a	15,06a	13,34b	13,16b	13,37
	ABv6	12,46b	13,96a	15,32a	14,83b	15,88a	14,49
	ABv5 + ABv6	14,44a	15,31a	16,79a	17,37a	16,81a	16,14
	Média	11,53	13,44	15,55	14,63	14,67	
	CV (%)	8,03					
AST (mg.g ⁻¹ MF)	Sem	28,76	31,32	35,85	38,28	36,31	34,10c
	ABv5	36,12	37,26	38,71	39,24	44,02	39,07bc
	ABv6	40,26	40,59	39,03	44,61	45,60	42,02ab
	ABv5 + ABv6	46,11	50,40	49,97	46,62	44,63	47,55a
	Média	37,81 ^{ns}	39,89	40,89	42,19	42,64	
	CV (%)	17,95					
NR (nmol NO ₂ ⁻ .g ⁻¹ MF.h ⁻¹)	Sem	2,29	3,94	3,65	3,68	4,93	3,70c
	ABv5	2,98	4,19	3,81	4,55	6,03	4,31b
	ABv6	3,62	4,19	4,39	5,69	6,22	4,82b
	ABv5 + ABv6	5,30	5,10	4,53	6,07	6,60	5,52a
	Média	3,55*	4,36	4,10	5,00	5,95	
	CV (%)	15,32					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Em relação aos açúcares solúveis totais (AST) (Tabela 12), as plantas oriundas das sementes inoculadas com a associação das duas estirpes (ABv5 + ABv6) acumularam mais açúcares na folha, em relação aos demais tratamentos. Em contrapartida as plantas oriundas das sementes que não receberam inoculante na ocasião da semeadura acumularam menos açúcares na folha para todas as doses aplicadas. Além disso, averiguou-se que as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura não diferiram estatisticamente.

Ainda na tabela 12, ficou constatado que a enzima nitrato redutase obteve maior atividade nas plantas oriundas das sementes inoculadas com a associação das estirpes (ABv5 + ABv6). No entanto, onde não houve inoculação das sementes, as plantas provindas destas, apresentaram menor atividade da enzima nitrato redutase. Além disso, as plantas provindas das sementes que receberam inoculação somente com as estirpes ABv5 ou ABv6, evidenciaram atividade da nitrato redutase intermediária.

Na figura 8A, foi verificado que a testemunha (sem inoculação) e a inoculação com a estirpe ABv5, enquadraram-se em um modelo polinomial quadrático positivo sendo que as doses que proporcionaram maior acúmulo de aminoácidos foi de 101 e 65,6 Kg⁻¹ de N.ha⁻¹. Em relação à inoculação com a estirpe ABv6 e com a associação das estirpes (ABv5 + ABv6), apresentou uma tendência linear positiva, com incremento de 0,0257 e 0,0226 µmol.g⁻¹MF de aminoácidos.

De acordo com a figura 8B, observou-se que a variável atividade da nitrato redutase (NR), foi influenciado positivamente pelo aumento das doses de nitrogênio, mostrando um aumento linear na atividade enzimática. É importante salientar que para cada Kg⁻¹ de N aplicado proporcionou incremento de 0,0181 nmol NO₂⁻.g⁻¹MF.h⁻¹.

Contudo, o metabolismo do nitrogênio é fundamental para formação de aminoácidos e proteínas. Nesse sentido, a bactéria *Azospirillum brasilense*, pode gerar diversos estímulos para o crescimento das plantas, destacando-se a fixação biológica de N (FUKAMI et al., 2016), produção de hormônios de crescimento (CAVALLET et al. 2000) aumento nos teores de clorofila (HUNGRIA 2011), além de alterações na atividade fotossintética das plantas (GORDILLODELGADO et al., 2016). Ainda, quando crescem dentro da planta, podem aumentar a atividade da enzima nitrato redutase (HUNGRIA, 2011).

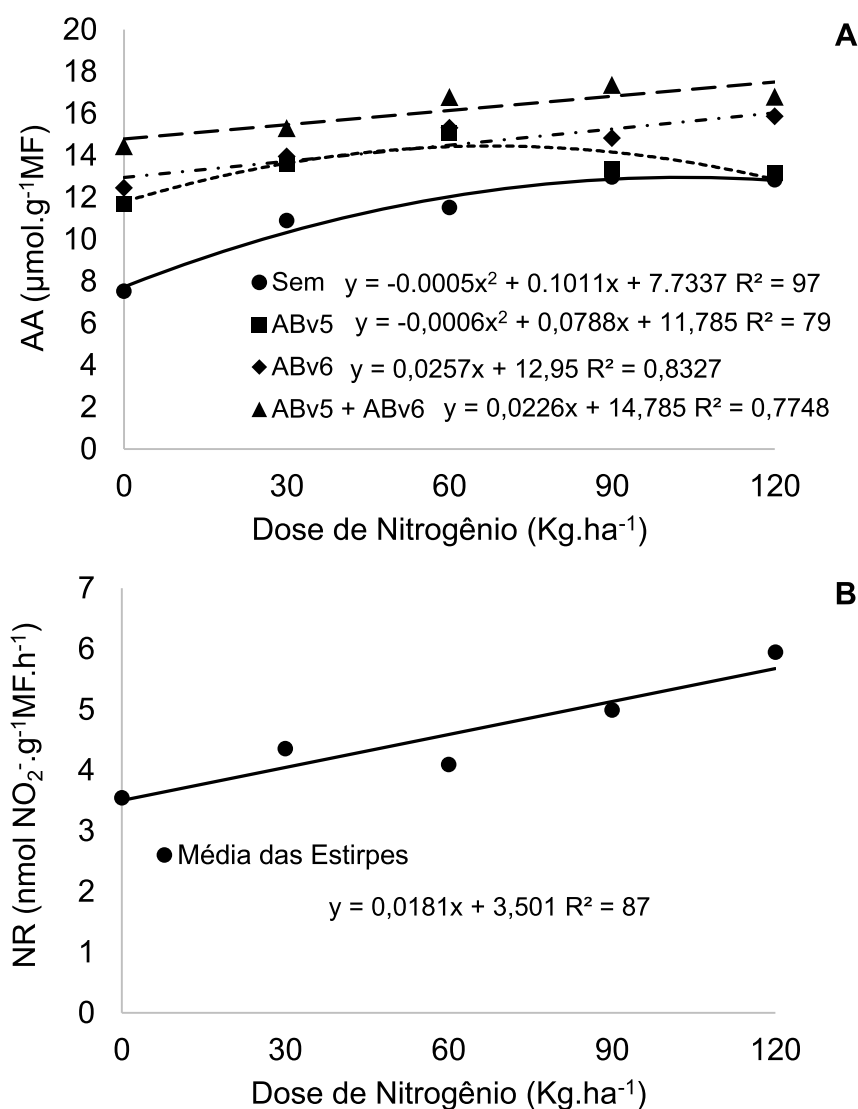


Figura 8 - (A) = Aminoácidos (AA) e (B) = atividade da nitrato redutase (NR) oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Nesse sentido, os pesquisadores Venkatesan; Ganapathy (2004), avaliando a atividade da enzima redutase do nitrato em plantas de chá, observaram que a atividade da enzima foi incrementada devido ao suprimento das doses de nitrogênio e de potássio. Além disso, Lavres Junior; Monteiro (2006), verificaram que a atividade da redutase do nitrato foi incrementada com o suprimento de nitrogênio.

4.4 Qualidade industrial

Observou-se na Tabela 13, que as variáveis proteína no grão (Prot), número de queda (NQ) e força de glúten (W), responderam de forma positiva à inoculação via sementes com as estirpes ABv5 e ABv6 de *Azospirillum brasilense*, inoculadas de forma individual e associadas, em relação a testemunha.

Porém, quando aplicadas de maneira associada (ABv5 + ABv6), favorece a produção de grãos com mais proteínas, em torno de 1 ponto percentual (p.p) a mais que na testemunha, por consequência melhorando o número de queda e a força de glúten, que apresentaram 26 e 43 p.p respectivamente a mais que a testemunha (sem inoculação) (Tabela 13).

Tabela 13 - Proteína no grão (Prot); número de queda (NQ) e força de glúten (W); submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
Prot (%)	Sem	11,45	11,85	11,69	12,63	12,85	12,09c
	ABv5	11,90	11,88	12,24	12,65	13,38	12,41b
	ABv6	12,07	12,00	12,54	12,74	13,39	12,55b
	ABv5 + ABv6	12,33	12,20	12,56	13,10	13,85	12,81a
	Média	11,94*	11,98	12,26	12,78	13,37	
	CV (%)	1,95					
NQ (%)	Sem	336.08	339.11	346.95	350.29	352.02	344.89c
	ABv5	349.70	352.04	354.44	356.78	367.58	356.11b
	ABv6	356.04	360.43	362.23	367.87	370.49	363.41b
	ABv5 + ABv6	364.33	364.75	373.87	374.22	376.12	370.66a
	Média	351.54*	354.08	359.37	362.29	366.55	
	CV (%)	3,17					
W (%)	Sem	307,54	338,17	338,79	310,52	342,53	327,51c
	ABv5	319,15	358,60	354,75	357,40	360,36	350,05b
	ABv6	323,85	362,95	372,49	377,10	362,51	359,78b
	ABv5 + ABv6	347,84	372,61	381,70	379,98	371,89	370,80a
	Média	324,59*	358,08	361,93	356,25	359,32	
	CV (%)	5,91					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Além do efeito positivo conferido pelas estirpes da bactéria, observou-se ainda resultados positivos em relação as doses de nitrogênio aplicadas em cobertura. Sendo que para proteína no grão e número de queda (Figuras 9 A e B), observou-se tendência linear positiva, onde para cada Kg de nitrogênio aplicado, proporcionou incremento 0,0122 e 0,127 % respectivamente. Já para força de glúten (W), ficou evidenciado tendência quadrática, sendo que a dose que proporcionou maior eficiência técnica para expressão de W foi de 79,9 kg de nitrogênio por hectare.

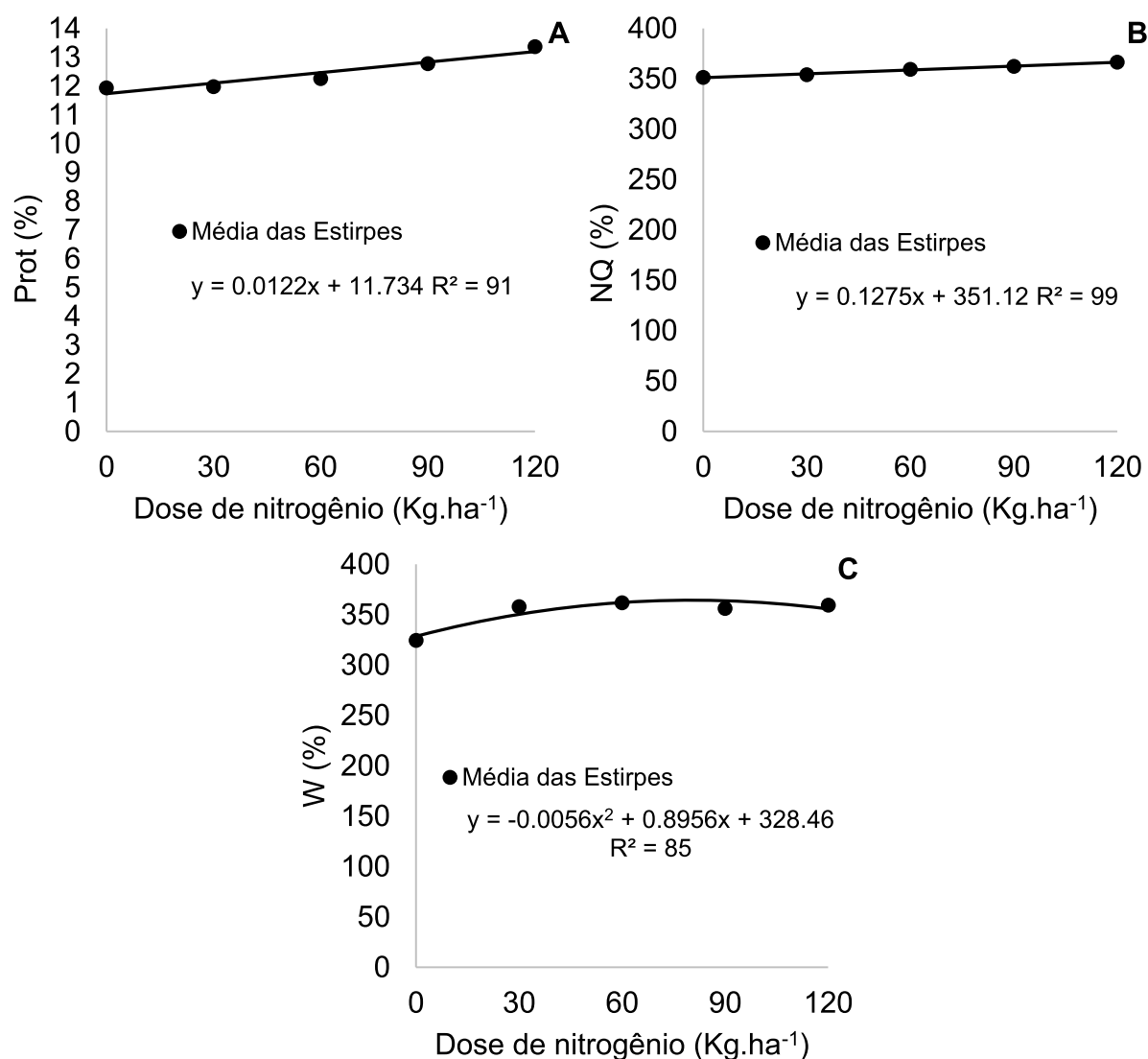


Figura 9 - (A) = proteína na semente (Prot); (B) = número de queda (NQ) e (C) = força de glúten (W); oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

As estirpes ABv5 e ABv6 da bactéria *Azospirillum brasilense* aplicada nas sementes tanto de forma isolada como associada, melhoraram significativamente a qualidade da farinha de trigo em relação a estabilidade (E), extensibilidade (L) e tenacidade (P). Porém, os melhores resultados se deram quando a inoculação foi realizada com as estirpes de forma associada (ABv5 + ABv6), apresentado um incremento de 3,78; 12,98 e 13,52 pontos percentuais em relação à testemunha (Tabela 14).

Tabela 14 - Estabilidade (E); extensibilidade (L); tenacidade (P); Estabilidade (E); extensibilidade (L); tenacidade (P); submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018. safra 2016. UFPel, 2018.

Variável	Estirpe	Dose de Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)					Média
		0	30	60	90	120	
E (%)	Sem	14,48	14,71	16,67	17,83	16,09	15,96d
	ABv5	15,18	16,64	17,02	18,58	16,86	16,86c
	ABv6	15,29	17,44	19,44	19,07	18,75	18,00b
	ABv5 + ABv6	17,54	19,27	20,78	20,70	20,42	19,74a
	Média	15,62*	17,01	18,48	19,05	18,03	
	CV (%)	5,85					
L (%)	Sem	85,36	86,20	81,56	88,03	91,04	86,44c
	ABv5	89,79	87,30	90,44	98,67	96,84	92,61b
	ABv6	95,08	87,84	97,09	99,14	104,10	96,65a
	ABv5 + ABv6	99,37	91,61	98,45	104,56	103,10	99,42a
	Média	92,40*	88,24	91,88	97,60	98,77	
	CV (%)	4,44					
P (%)	Sem	109,87	123,59	119,70	123,28	121,81	119,65c
	ABv5	115,82	125,04	131,71	127,61	129,72	125,98b
	ABv6	118,54	126,17	133,95	136,77	139,17	130,92ab
	ABv5 + ABv6	120,14	136,62	125,95	141,87	141,25	133,17a
	Média	116,09*	127,85	127,83	132,38	132,99	
	CV (%)	6,49					

Letras iguais minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade de erro pelo modelo de agrupamento de Tukey (*significativo ao nível de 5% de probabilidade, 0.01 ≤ p < 0.05 pelo teste F; ns = não significativo, p ≥ 0.05 pelo teste F).

Observou-se ainda, resultados positivos em relação às doses de nitrogênio aplicadas em cobertura para as variáveis estabilidade (E), extensibilidade (L) e tenacidade (P). Onde, foi evidenciada uma tendência linear para o parâmetro L,

apresentando para cada Kg de nitrogênio aplicado um incremento de 0,0737 % (Figura 10 B). Já para E e P, foi observado uma tendência quadrática, sendo que a dose que proporcionou maior eficiência técnica foi de 77,2 e 105 kg de nitrogênio por hectare, respectivamente (Figura 10A e 9C).

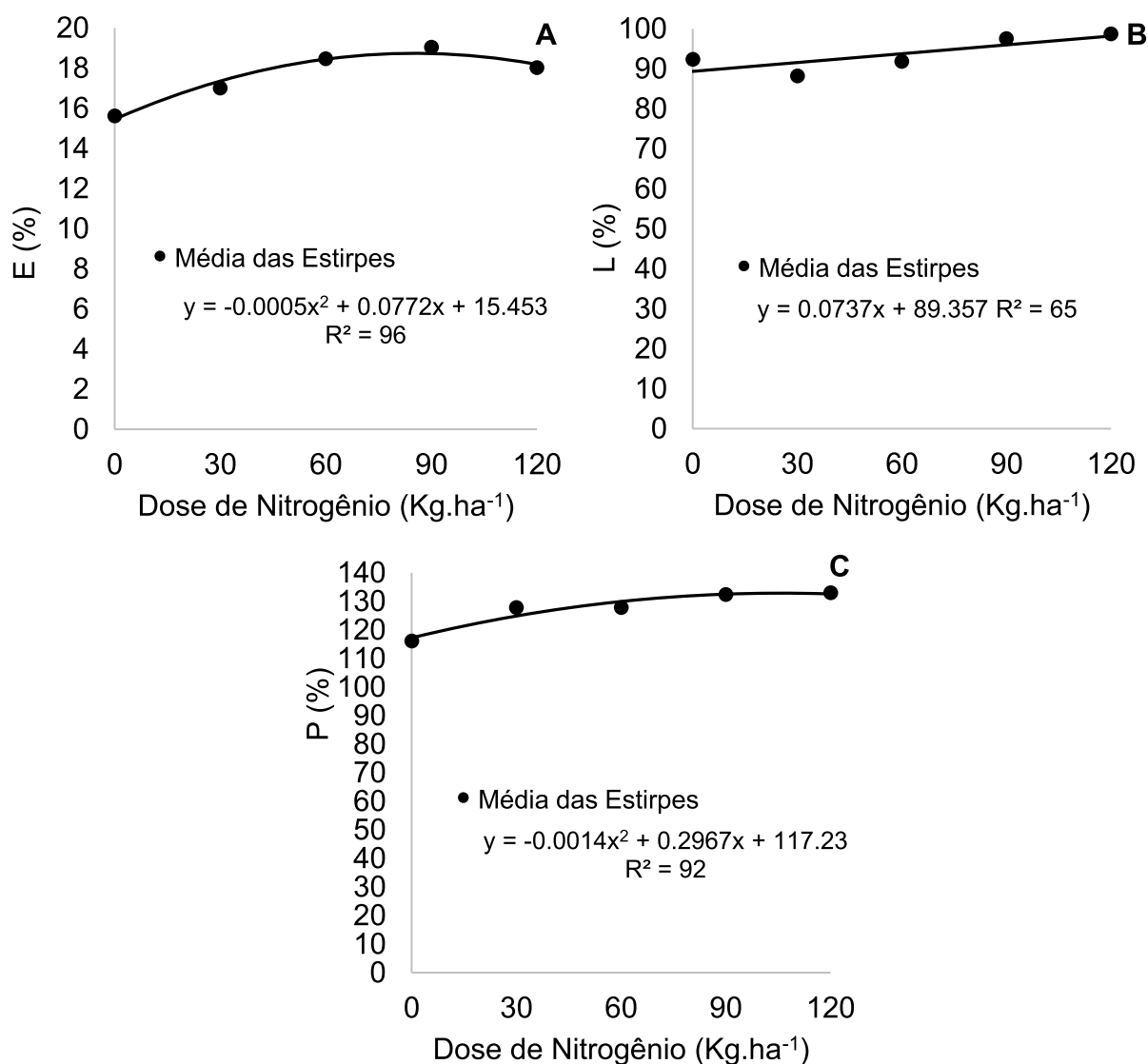


Figura 10 - (A) = Estabilidade (E); (B) = extensibilidade (L) e (C) = tenacidade (P); oriundas de plantas de trigo submetidas a inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* via tratamento de sementes e doses de nitrogênio em cobertura, safra 2016. UFPel, 2018.

Os resultados encontrados nessa pesquisa demonstram a importância da bactéria *Azospirillum brasilense* para a planta, pois além de ser uma bactéria promotora

de crescimento, proporciona vantagens em termos de absorção de água e nutrientes do solo, além de possibilitar constante disponibilidade de N, acarretando em sementes e farinha de melhor qualidade. De acordo com Cazetta et al. (2008), o aumento de N nos grãos é interessante, dada sua associação com o aumento no teor de proteínas e, consequentemente na qualidade tecnológica da farinha de trigo. Vindo de encontro Gutkoski et al. (2011), observaram que o teor de proteína bruta do grão apresentou uma relação direta com a adubação nitrogenada. Resultados similares foram observados por ROSA FILHO (1999), demonstrando que doses crescentes de N no início do espigamento proporcionam elevação da porcentagem de proteína bruta no grão de trigo.

Em relação ao número de queda, estudos apontam que a maior disponibilidade de N pode atrasar a maturação dos grãos e incrementar sua dormência, reduzindo o risco de germinação pré-colheita dos grãos ainda na espiga (KINDRED et al., 2005). Além disso o aumento na disponibilidade de N pode reduzir a atividade da enzima alfa-amilase no grão, na ausência de germinação pré-colheita (KETTLEWELL, 1999). Dessa forma, o efeito da maior disponibilidade de N sobre o aumento no número de queda pode também estar relacionado ao efeito morfológico proporcionado pelo enchimento mais completo do grão, reduzindo o tamanho da cavidade ventral e a probabilidade de ruptura entre o endosperma e a testa no grão (KINDRED et al., 2005).

Além disso, resultados observados por Gutkoski et al. (2011), relataram que a aplicação de nitrogênio melhora a força de glúten (W), tenacidade (P). além disso, Fuertes-Mendizabál et al. (2010), verificaram que, a disponibilização de nitrogênio, aumentou significativamente a extensibilidade da massa (L).

De acordo com os resultados desse trabalho, a inoculação de sementes de trigo com as estirpes ABv5 e ABv6 associada com doses de nitrogênio, favoreceram melhor desenvolvimento das plantas e consequentemente uma melhor qualidade fisiológica e industrial das sementes e da farinha produzida. Além disso, através dos resultados evidenciou-se a possibilidade de redução das doses de nitrogênio aplicadas na cultura.

5 Conclusões

A adição das estirpes ABv5 e ABv6 via inoculação de semente, proporciona melhora nos caracteres agronômicos: peso de espiga; comprimento de espiga; número de afilhos férteis.

A aplicação de nitrogênio, promove benefícios em relação ao peso hectolitro; peso de mil sementes; número de afilhos férteis e rendimento de grão.

A adição das estirpes ABv5 e ABv6 via inoculação de semente e aplicação de nitrogênio, proporciona melhor expressão da qualidade fisiológica de semente de trigo produzida: primeira contagem de germinação; germinação; envelhecimento acelerado e condutividade elétrica.

A adição das estirpes ABv5 e ABv6 via inoculação de semente, aumenta o índice de clorofila foliar total; teor de nitrogênio na planta; proteína na folha; aminoácidos; açúcar solúvel total e a atividade da nitrato redutase.

A aplicação de nitrogênio, aumenta o índice de clorofila foliar total; teor de nitrogênio na planta; proteína na folha; aminoácidos e a atividade da nitrato redutase.

A adição das estirpes ABv5 e ABv6 via inoculação de semente e aplicação de nitrogênio, proporciona melhor expressão da qualidade tecnológica: proteína no grão; número de queda; força de glúten; estabilidade; extensibilidade e tenacidade.

6 Bibliografia

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 11^a. ed., Saint Paul, método nº 54-30.02. 2000.

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 19^a. ed., Saint Paul, método nº 984.13. 2012.

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 11^a. ed., Saint Paul, método nº 56-81.03. 2000.

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 11^a. ed., Saint Paul, método nº 26-10. 2000.

ABITRIGO, **Associação Brasileira da Indústria de Trigo**; 2017 <http://www.abitrigo.com.br>; Acesso em 10/11/2017.

ALMEIDA, M.L.; MUNDSTOCK, C.M. O afilhamento em comunidades de cereais de estação fria é afetado pela qualidade da luz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, p.511-519, 1998.

ALVAREZ, M. I.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Effect of *Azospirillum* on coleoptile growth in wheat seedlings underwater stress. **Cereal Research Communications**, Szeged, v.24, n.1, p.101-107, 1996.

AOSA - **Association of Official Seed Analysts**. Seed vigor testing handbook. East Lansing, AOSA. 88p. (Contribution, 32). 1983.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; BECHE, E.; PAGLIOSA, E.S.; SILVA, C.L.; PINNOW C. Agronomic performance of wheat cultivars in response to nitrogen fertilization levels. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.34, p.275-283, 2012.

BIELESKI, R. L.; TURNER, N. Separation and estimation of aminoacids in crude plant extracts by thin-layer eletrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, v. 17, p. 278-293, 1966.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. **Plant Physiology Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, p.395, 2009.

BRAZ, A. J. B. P.; SILVEIRA, P. M. da; KLIEMANN, H. J.; ZIMMERMANN, F. J. P. Adubação nitrogenada em cobertura na cultura do trigo em sistema de plantio direto após diferentes culturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 193-198, 2006.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Estádios fenológicos do trigo para a adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 2, p. 317-323, 2001.

BRZEZINSKI, C. R.; ZUCARELI, C.; HENNING, F. A.; ABATI, J.; PRANDO, A. M.; HENNING, .A. A. Nitrogênio e inoculação com *Azospirillum* na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de trigo. **Revista. Ciencias. Agrarias**. v. 57, n. 3, p. 257-265, jul./set. 2014.

BUENO, C.R. Controle ambiental e ação de reguladores de crescimento no desenvolvimento de plantas de ária - *Calathea allouia* (Aubl.). **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, tese de Doutorado, 56p. 1989.

Cantarella, H.; Trivelin, P. C. O.; Contin T. L. M.; Dias, F. L. F; Rossetto, R.; Marcelino, R.; Coimbra, R. B.; Quaggio, J. A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 4, p. 397- 401, 2008.

CAPPELLARI, G.J.; SILVA, J.A.G. da; KRÜGER, C.A.M.B.; WAGNER, J.F.; MARTINS, J.A.K.; GAVIRAGHI, F.; MATTER, E.; MATTIONI, T.; SILVA, A.J. da; ANTONOW, D. Alterações nos componentes de produção pelo efeito da dose de adubação (N) em cultivares de trigo. **XVIII CIC, XI ENPOS, I Mostra Científica**, Anais. 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 590 p. 2012.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 3, p. 28-35, 2009.

CAVALLET, L.; PESSOA, A.; HELMICH, J.; HELMICH, P.; Ost, C. 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, p. 129-132, 2000.

CAZETTA, D.A.; FORNASIERI FILHO, D.; ARF, O.; GERMANI, R. Qualidade industrial de cultivares de trigo e triticale submetidos à adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Bragantia**, v.67, p.741-750, 2008.

CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Acomp. safra bras. grãos, v. 5 – Safra 2017/18, n. 3 – Terceiro Levantamento, dez. 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 20/08/2018

CONAB - **COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. A cultura do trigo / organizadores Aroldo Antonio de Oliveira Neto e Candice Mello Romero Santos. – Brasília: Conab, 218 p 2017.. Disponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 20/08/2018

CONLEY, S. P.; SCHARF, P. Wheat tiller number and spring nitrogen recommendations. **Integrated Pest & Crop Management Newsletter**, Missouri, v. 13, n. 2, 2003.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* ssp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 87-95. 2008.

COTRIM, M. F.; ALVAREZ, R. C. F.; SERON, A. C. C. Qualidade fisiológica de sementes de trigo em resposta a aplicação de *Azospirillum brasilense* e ácido húmico. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 10(4): 349-357, 2016.

DA ROSA, C.O.; SALET, L.S.; PORN, R.L.; MACHADO, J.N.C. Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.5, p.799-804, 2003.

DIDONET A. D.; LIMA O. S.; CANDATEN M. H.; RODRIGUES O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesq Agropec Bras**.35:401-11. 2000;

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

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In.: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, p.173-180, 1992.

DONG, K.; HAO, C. Y.; WANG, A. L.; CAI, M. H.; YAN, Y. M. Characterization of HMW glutenin subunits in bread and tetraploid wheats by reserved-phase high-performance liquid chromatography. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 37, p. 65-72, 2009.

EICHELBERGER, L. Produção de sementes de trigo. In: **Trigo no Brasil**. Brasília: Embrapa, p. 349-369. 2011.

ESPINDULA, M.C.; ROCHA, V.S.; SOUZA, M.A.; GROSSI, J.A.S.; SOUZA L.T. Doses e formas de aplicação de nitrogênio no desenvolvimento e Produção da 60 cultura do trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1404-1411, 2010.

FAVARATO, L. F.; ROCHA, V. S.; ESPINDULA, M. C.; SOUZA, M. A.; PAULA, G. S. Adubação nitrogenada e qualidade fiológica de sementes de trigo. **Bragantia**, v. 71, n. 1, 2012.

FORNASIERI FILHO D. **Manual da cultura do trigo**. Jaboticabal: Fundação de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão; 2008.

Fuertes-Mendizábal, T.; Aizpurua, A.; González-Moro, M. B.; Estavillo, J. M. Improving wheat breadmaking quality by splitting the N fertilizer rate. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 33, p. 52–61, 2010.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express** v. 6, p. 1-13, 2016.

GARRIDO-LESTACHE, E.; LÓPEZ-BELLIDO, R. J.; LÓPEZ-BELLIDO, L. Effect of N rate, timing and splitting and N type on bread-making quality in hard red spring wheat under rainfed Mediterranean conditions. **Field Crops Research**, v.85, p.213-236, 2004.

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.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. **International Journal of Thermophysics**, v. 37, p. 1-11, 2016.

GRAHAM, D.; SMYDZUC, J. Use of anthrone in the quantitative determination of hexose phosphates. **Analytical Biochemistry**, v.11, p.246-255, 1965.

GUTKOSKI, L. C.; KLEIN, B.; COLUSSI, R.; SANTETI, T. A. S. Efeito da adubação nitrogenada nas características tecnológicas de trigo. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v.17, n.1-4, p.116-122, jan-mar, 2011.

GWIRTZ, J. A.; WILLYARD, M. R.; MCFALL, K. L. W. Wheat: more than just a plant. In: MÜHLENCHMIE. **Future of flur**: a compendium of flur improvement. 2014. Disponível em: <<http://muehlenchemie.de/english/know-how/future-of-flur.html>>. Acesso em: 10 junho. 2018.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J., BENNETT, J.M., SINCLAIR, T.R., **Physiology and determination of crop yield**. Madison : ASA/CSSA/SSSA, Chapt.11A. p.285-302. 1994.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil fertility and fertilizers. An introduction to nutrient management**. 7th ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 515 p. 2005.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. 2. ed. St. Paul: AACC, 378p. 1994.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Asociación Argentina de Microbiología**, Argentina, p.17-35. 2008.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **EMBRAPA-SOJA**, 38p. (Documentos EMBRAPA-SOJA, ISSN 2176-2937, n.325). 2011.

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

IMOLESI, A. S.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; VIEIRA, M. G. G. C.; CORRÊA, R. S. B. Influência da adubação nitrogenada na qualidade fisiológica das sementes de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 5, p. 1119-1126, 2001.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013.

KETTLEWELL, P. S. The response of alpha-amylase activity during wheat grain development to nitrogen fertiliser. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 134, n. 2, p. 241–249, 1999.

KINDRED, D. R.; GOODING, M. J.; ELLIS, R. H. Nitrogen fertilizer and seed rate effects on Hagberg falling number of wheat hybrids and their parents are associated with alpha-amylase activity, grain cavity size and dormancy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 85, n. 5, p. 727–742, 2005.

KUTMAN, U. B.; YILDIZ, B.; CAKMAK, I. Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. **Plant and Soil**, v. 342, n. 1-2, p. 149-164, 2011.

LADHA, J.K.; PATHAK, H.; KRUPNIK, T.J.; SIX, J.; KESSEL, C.V. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. **Advances in Agronomy**, v.87, p.85-156, 2005.

LAM, H.M.; COSCHIGANO, K.T.; OLIVEIRA, I.C.; OLIVEIRA, R.M.; CORUZZI, G.M. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.47, p.569-593, 1996.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Diagnose nutricional de nitrogênio no capim-Aruana em condições controladas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 829-837, 2006.

LIMA, T. C.; MEDINA, P. F.; FANAN, S. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.106-113, 2006.

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, p.43-67. 2007.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 495p. 2005.

MARTUSCELLO, J. A.; MAJEROWICZ, N.; CUNHA, D.N.F.V.; AMORIM, P.L.; BRAZ, T.G.S. Características produtivas e fisiológicas de capim-elefante submetido à adubação nitrogenada. **Arch. Zootec.** 65 (252): 565-570. 2016.

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

MISHRA, P.S. **Genetic Basis of Flocculation in *Azospirillum brasilense***. Master's Thesis. University of Tennessee, 2012.

MUNDSTOCK, C. M.; BREDEMEIER, C. Disponibilidade de nitrogênio e sua relação com o afilamento e o rendimento de grãos de aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 205-211, 2001.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, Cap. 2, p. 9-13. 1999.

NCBI Taxonomy. **Base de dados de taxonomia**. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>. Acesso em 05 Jan. 2016.

NEHL, D. B.; ALLEM, S. J.; BROWN, J. F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 1 -20, 1996.

NICOLAS, Y.; SMIT, R. J. M.; AALST H.; ESSELINK, F. J.; WEEGELS, P. L.; AGTEROF, W. G. M. Effect of storage time and temperature on rheological and microstructural properties of gluten. **Cereal Chemistry**, v.80, p.371-377, 2003.

NOVAKOWISKI, J. H., SANDINI, I. E., FALBO, M. K., DE MORAES, A., NOVAKOWISKI, J. H. & CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, 32, 1687-1698. 2011.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v. 6, n. 7, p. 366-370, 1997.

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

PANOFF, B. **Deteccção do gene de peroxidase em sementes de soja pela reação da polimerase em cadeia (pcr)**. 2013. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

PELTONEN, J. Ear developmental stage used for timing supplemental nitrogen application to spring wheat. **Crop Science**, Madison, v.32, n.4, p.1029-1033, 1992.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 75, n. 5, p. 1143-1150, 2007.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. Produção de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E (Orgs.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel, p.13-104. 2012.

PICCININ, G.G.; BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. de M.; SCAPIM, C. A.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de biorregulador. **Informativo Abrates**, Maringá, PR, vol.25, nº1. 2015.

PIETRO-SOUZA, W.; BONFIM-SILVA, E. M.; SCHLICHTING, A. F.; SILVA, M. C. Desenvolvimento inicial de trigo sob doses de nitrogênio em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 6, p. 575–580, 2013.

PINNOW, C.; BENIN, G.; VIOLA, R.; SILVA, C.L.da; GUTKOSKI, L.C.; CASSOL, L.C. Qualidade industrial do trigo em resposta à adubação verde e doses de nitrogênio. **Bragantia**, v.72, p.20-28, 2013.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: Agiplan, 289 p,1985.

PORTUGAL, J.R.; ARF, O.; LONGUI, W.V.; GITTI, D.C.; BARBIERI, M.K.F.; GONZAGA, A.R.; TEIXEIRA, D. S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. In: Congresso

Nacional de Milho e Sorgo, 29, Águas de Lindóia-SP. **Anais...** Campinas: IAC/ABMS, p.1413-1419 (CD ROM) 2012.

PURCINO, A.A.C.; MAGNAVACA, R.; MACHADO, A. T.; MARRIEL, I. E. Atividade da redutase do nitrato em genótipos antigos e modernos de milho, cultivados sob dois níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.6, n.1, p.41-46, 1994.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo)– Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

QUADROS, P.; ROESCH, L.; SILVA, P.; VIEIRA, V.; ROEHRS, D.; CAMARGO, F. Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, p. 209-218, 2014.

RAMPIM, L.; PERES RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidos à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 678 - 685, 2012.

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B.; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; COSTA, A. C. P. R. Características agrônomicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 31-37, 2014.

ROSA FILHO, O. **Uso de adubação nitrogenada no espigamento para melhorar a qualidade industrial do trigo**. Passo Fundo: Aldeia, (Comunicado Técnico no 1 da OR Melhoramentos de Sementes Ltda.). 1999.

RStudio Team. RStudio: **Integrated Development for R**. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>. 2016.

SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 833-842, 2007.

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

SANGOI, L.; ALMEIDA, M. L. de.; PUCCI, A. L. R.; STRIEDER, M.; ZANIN, C. G.; SILVA, L. C. da.; VIEIRA, R. J. A aplicação precoce de nitrogênio em cobertura não aumenta o rendimento de grãos do trigo cultivado na presença do alumínio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p.912-920, jul, 2008.

SANGOI, L.; BERNES, A. C.; ALMEIDA, M. L. de; ZANIN, C. G.; SCHWEITZER, C. Características agronômicas de cultivares de trigo em resposta à época da adubação nitrogenada de cobertura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1564- 1570, 2007.

SANTA, O. R. D.; SANTA, H. S. D.; FERNÁNDEZ, R.; MICHELA, G.; RONZELLI, P.; SOCCOL, C. R. Influência da inoculação de *Azospirillum sp.* em trigo, cevada e aveia. **Ambiência - Revista do. Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 197-207, 2008.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M. da.; BALBINO, E. M. SILVA, S. P. da.; MONNERAT, J. P. I. S. Valor nutritivo de perfilhos e componentes morfológicos em pastos de capim-braquiária diferidos e adubados com nitrogênio. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.9, p.1919-1927, 2010.

SARMENTO, M. B.; SILVA, C. S. Nutrientes minerais e qualidade fisiológica de sementes. In: SARMENTO, M. B.; SILVA, C. S.; VILLELA, F. A. (Orgs.). **Temas especiais em ciência e tecnologia de sementes**. 1.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel,. p.62-86. 2010.

SCHEUER, P. M.; FRANCISCO, A.; MIRANDA, M. Z.; LIMBERGER, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande. v.13, n. 2, p. 211 -222, 2011.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**. São Paulo: Varela, pp.184-193, 1996.

SHI, Y.; YU, Z.; WANG, D.; LI, Y.; WANG, X. Effects of nitrogen rate and ratio of base fertilizer and topdressing on uptake, translocation of nitrogen and yield in wheat. **Front. Agric. China**. v. 1. n. 2. p. 142 – 148. 2007.

TAIZ, L., ZEIGER, E., **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 5, 918. 2013.

TAKAYAMA, T.; ISHIKAWA, N.; TAYA, S. The effect to the protein concentration and flour quality of nitrogen fertilization at 10 days after heading in wheat. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.40, p.291-297, 2006.

TAKEITI, C. Y. **Trigo**. Brasília: Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2015.

TAVARES, J. E; DALTO, G.; **Manejo eficiente da adubação nitrogenada**. **MANAH**. Ano XXII - JAN/FEV/MAR - Nº 165. 2004.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre: UFRGS. 174p. 1995.

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

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. C. F.; FREITAS, J. G.; ARF, O.; SÁ, M. E. Resposta de cultivares de trigo irrigado por aspersão ao nitrogênio em cobertura na região do Cerrado. **Acta Scientiarum-Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 421- 425, 2007.

THEAGO, E. Q.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; ANDREOTTI, M.; MEGDA, M. M.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio influenciando teores de clorofila e produtividade do trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, n. 6, p. 1826-1835, 2014.

USDA – United States Department of Agriculture. **Foreign Agricultural Service**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 08 jun. 2017.

USDA- United States Department of Agriculture. <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf> . Acesso em 15/06/2018

UFPR, Universidade Federal do Paraná, **Departamento de Bioquímica**. Bioquímica: aulas práticas. 6 ed. Curitiba: Ed da UFPR, 178 p. 2001.

VENKATESAN, S.; GANAPATHY, M.N.K. Nitrate reductase activity in tea as influenced by various levels of nitrogen and potassium fertilizers. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 35, p. 1283-1291, 2004.

VIEIRA, R. D.; KRZYŻANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, cap. 4, p. 1-26. 1999.

WANSER, A. F.; MUNDSTOCK, C. M. Adubação nitrogenada em estádios fenológicos em cevada, cultivar “MN 698”. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 942-948, 2007.

WENDLING, A.; ELTZ, F.L.F.; CUBILLA, M.M.; AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; LOVATO, T. Recomendação de adubação nitrogenada para trigo em sucessão ao milho e soja sob sistema plantio direto no Paraguai. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, 31:985-994, 2007.

Wang, J.; Mao, H.; Zhao, H.; Huang, D.; Wang, Z. Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau, China. **Field Crops Res.** 135:89-96,2012.

YANO, G. T.; TAKAHASHI, H. T.; WATANABE, T. S. Avaliação de fontes de nitrogênio e épocas de aplicação em cobertura para o cultivo do trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 141-148, 2005.

ZAGONEL, J.; VENÂNCIO, W. S.; KUNZ, R. P.; TANAMATI, H. Doses de nitrogênio e densidade de plantas com e sem um regulador de crescimento afetando o trigo, cultivar OR-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 25-29, 2002.

ZIMMER, P. D. Fundamentos da qualidade de sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E (Orgs.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3.ed. Pelotas: Editora. Universitária/UFPel, p.106-160. 2012.