

GLEBERSON GUILLEN PICCININ

**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum
brasilense* NO RENDIMENTO E NO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS
SEMENTES DE TRIGO**

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2012**

GLEBERSON GUILLEN PICCININ

**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum
brasilense* NO RENDIMENTO E NO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS
SEMENTES DE TRIGO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2012**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central – UEM, Maringá – PR., Brasil)

P588e

Piccinin, Gleberon Guillen

Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento e no potencial fisiológico das sementes de trigo / Gleberon Guillen Piccinin. -- Maringá, 2012.

Xi, 65 f. : il. Figs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Alessandro de Lucca e Braccini.

Co-orientador : Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2012.

1. Trigo (*Triticum aestivum* L.)- Semente. 2. Trigo (*Triticum aestivum* L.)-Inoculação. 3. Trigo (*Triticum aestivum* L.)- Biorregulador. 4. Trigo (*Triticum aestivum* L.)- Rendimento. 5. Trigo (*Triticum aestivum* L.) - Germinação. 6. *Azospirillum brasilense* - Trigo - Rendimento. 7. *Azospirillum brasilense* - Trigo - Nitrogênio - Fixação biológica parcial. I. Braccini, A de Lucca e, orient. II. Scapim, Carlos Alberto, co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 21.ed.633.11

GLEBERSON GUILLEN PICCININ

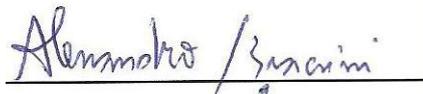
**EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DAS SEMENTES COM *Azospirillum
brasilense* NO RENDIMENTO E NO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS
SEMENTES DE TRIGO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 3 de Fevereiro de 2012.

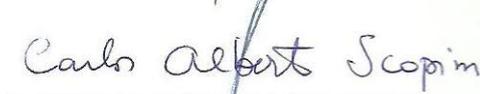
Prof. Dr. Alessandro de Lucca e Braccini

Presidente



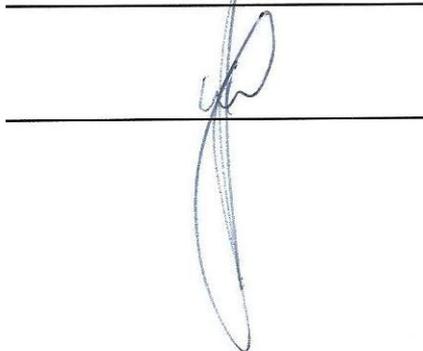
Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim

Membro



Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães

Membro



Dedico

Ao Divino

A minha família

A minha eterna companheira

Ao meu avô, Pedro Giroto "*in memoriam*"

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter concebido mais uma obra em minha vida.

Ao Prof. Dr. Alessandro de Lucca e Braccini pela orientação, compreensão e confiança depositada na orientação deste trabalho, a quem considero um grande amigo.

Aos meus pais, Natanael Guillen Piccinin e Maria Giroto Piccinin pelo apoio.

Aos meus queridos irmãos Cleison e Thaís Mara pelo amparo durante as dificuldades obtidas.

À minha amada, Ana Carla Borghi pelo incentivo participando efetivamente de todos os momentos apreciáveis.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), pela oportunidade de realização do curso.

Em especial a todos os professores, funcionários e acadêmicos que contribuíram diretamente ou indiretamente pela elaboração e execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo valoroso patrocínio da bolsa de estudos.

BIOGRAFIA

GLEBERSON GUILLEN PICCININ nasceu no dia 06 março de 1985, em Alto Piquiri, Estado do Paraná. Na infância seguia os passos de seu pai na pequena propriedade rural, participando de todas as atividades desenvolvidas na lavoura de algodão e trigo. Realizou o ensino fundamental e básico na escola Duque de Caxias no distrito de Paulistânia, onde residiu e reside sua família. O ensino médio teve início no Colégio Estadual João Papa XXIII, Alto Piquiri e concluiu na Escola Técnica Agrícola Engenheiro Herval Bellusci, em 2003, na cidade de Adamantina, Estado de São Paulo. Em 2003 concluiu o curso de Técnico em Agricultura e Técnico em Administração Rural, participou de vários projetos e eventos bem como estagiou na Cooperativa Mista Vale do Piquiri em parceria com a empresa IHARA no projeto “Olho Vivo”. Gradou-se em Agronomia no dia 14 de janeiro de 2010, pela Universidade Estadual de Maringá com o interesse na pesquisa científica. Em março de 2010 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia, na área de Produção Vegetal, pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá. Por fim, atualmente está com muitas expectativas para prosseguir com a carreira de pesquisa no futuro Doutorado.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Ecofisiologia da cultura do trigo	3
2.2 Bactérias diazotróficas: <i>Azospirillum brasilense</i>	6
2.3 Importância do nitrogênio	9
2.4 Biorreguladores na cultura do trigo	11
2.5 Qualidade de sementes	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Instalação e condução do experimento	18
3.2 Avaliação das características agronômicas e rendimento	22
3.3 Avaliação do potencial fisiológico das sementes	23
3.5 Delineamento experimental e análise estatística	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Resultados da análise estatística dos dados	27
4.2 Desempenho agronômico do trigo	27
4.3 Qualidade fisiológica das sementes	34
4.4 Teores de proteínas e nitrogênio nas sementes	40
5 CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICES	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultado da análise química e física do solo da área experimental, antes da implantação da cultura. (Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá – 2010)	18
Tabela 2	Esquema dos tratamentos com a inoculação das sementes do cultivar CD 150, associado a doses de nitrogênio em manejo da aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	20
Tabela 3	Resultados médios do número de sementes por espiga, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	29
Tabela 4	Resultados médios da massa de mil sementes em gramas, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	30
Tabela 5	Resultados médios do peso hectolítrico em kg hL ⁻¹ , em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	31
Tabela 6	Resultados médios do rendimento em kg ha ⁻¹ , em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	32
Tabela 7	Resultados médios da porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T) com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	35

Tabela 8	Resultados médios da porcentagem de germinação das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	36
Tabela 9	Resultados médios da porcentagem das plântulas normais no teste de frio, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	37
Tabela 10	Resultados médios do teste de envelhecimento acelerado, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	38
Tabela 11	Resultados médios da condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	39
Tabela 12	Resultados médios dos teores de proteínas das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	40
Tabela 13	Resultados médios dos teores de proteínas das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes com diferentes doses de nitrogênio, sem biorregulador (S.B) e com biorregulador (C.B), (Maringá – PR, 2010/2011)	42
Tabela 14	Resultados médios dos teores de nitrogênio nas sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011)	43
Tabela 1A	Características do inoculante à base de <i>Azospirillum brasilense</i> , para a cultivar CD 150 (Maringá – PR, 2010/2011)	63

Tabela 2A	Resumo da análise de variância conjunta referente às variáveis respostas: número de sementes por espiga (NSE), massa de mil sementes em gramas (MMS), peso hectolítrico (PH) e rendimento em kg ha ⁻¹ (REND), (Maringá – PR, 2010/2011)	63
Tabela 3A	Resumo da análise de variância conjunta referente às variáveis respostas: primeira contagem da germinação (PCG), contagem final (CF), teste de frio (TF), teste de envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE), (Maringá – PR, 2010/2011)	64
Tabela 4A	Resumo da análise de variância conjunta referente aos teores de proteínas e nitrogênio determinado nas sementes de trigo (Maringá – PR, 2010/2011)	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Dados climáticos diários da precipitação pluvial, temperaturas máxima e mínima, de março a setembro na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) em 2010 e 2011 ...	19
----------	--	----

RESUMO

PICCININ, Gleberson Guillen, M.S., Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2012. **Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento e no potencial fisiológico das sementes de trigo.** Orientador: Prof. Dr. Alessandro de Lucca e Braccini. Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim.

A inoculação das sementes com bactérias do gênero *Azospirillum* tem sido realizada em várias gramíneas com resultados pouco difundidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* no desempenho agrônomo e na qualidade das sementes de trigo. Para tanto, conduziu-se experimento com delineamento em blocos ao acaso com seis repetições em esquema fatorial (3 x 3 x 2). Os fatores foram três doses de nitrogênio (zero, meia e dose cheia); inoculação das sementes com *A. brasilense* (sem inoculante, inoculante líquido e inoculante turfoso); duas doses de biorregulador (0 e 250 mL ha⁻¹) aplicado no perfilhamento em duas safras (2010 e 2011). Os dados foram submetidos à análise de variância conjunta e foram realizados os desdobramentos necessários das interações. No ponto de colheita, avaliou-se: número de sementes por espiga, massa de mil sementes, peso hectolítrico e rendimento. As sementes foram avaliadas pelos testes: germinação (primeira contagem e contagem final), frio modificado, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, teores de proteínas e nitrogênio nas sementes. Infere-se que o *Azospirillum brasilense* é eficiente em realizar a fixação biológica parcial do nitrogênio suplementado por adubação nitrogenada; o rendimento é influenciado positivamente pela adubação nitrogenada associada à inoculação, independente do tipo do inoculante; o biorregulador não incrementa a qualidade das sementes de trigo quando aplicado no início do perfilhamento, porém aumenta o teor de proteínas nas sementes.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L., sementes, inoculação, biorregulador, rendimento, germinação.

ABSTRACT

PICCININ, Gleberson Guillen, M.Sc., State University of Maringá, February 2012. **Efficiency seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on yield and physiological potential of seeds wheat.** Adviser: Prof. Dr. Alessandro de Lucca e Braccini. Co-adviser: Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim.

The seed inoculation with bacteria of the genus *Azospirillum* have been held on various grasses with little results broadcast. The objective this work was to evaluate the efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on the agronomic performance and seed quality of wheat. It was conducted experiment design in randomized blocks with six replications arranged in a factorial (3 x 3 x 2). The factors were three nitrogen doses (zero, half and full dose); seeds inoculation with *A. brasilense* (no inoculant, liquid inoculant and peat-based inoculant); bioregulator 2 doses (0 and 250 mL ha⁻¹) applied at tillering in two crop seasons (2010 and 2011). The data were subjected to analysis of variance over and were performed the necessary developments of the interactions. At the point were harvest, we evaluated the agronomic performance: number of grains by ear, weight of a thousand seeds, hectolitre weight and yield, also, the seeds was performed using the following tests: germination (first count and final count), cold, accelerated aging, electrical conductivity, protein and nitrogen content. It is inferred that *Azospirillum brasilense* is effective in accomplishing partial nitrogen fixation supplemented with nitrogen, the yield is positively influenced by nitrogen associated with inoculation of the type of inoculums, the bioregulator do not increase the quality of wheat seeds when applied at the beginning of tillering, but increases protein content in seeds.

Key words: *Triticum aestivum* L., seeds, inoculation, bioregulator, yield, germination.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo tem importância no sistema de produção agrícola do centro-sul do Brasil, por ser opção economicamente viável durante o período de inverno, o qual proporciona uma das melhores coberturas de solo para o sistema de semeadura direta. O seu cultivo melhora a sustentabilidade do sistema agrícola pela redução da proliferação de invasoras e pela redução do custo fixo de máquinas, promovendo a diluição dos custos das lavouras de verão. Além do mais, em função do seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, o trigo é um dos principais alimentos consumidos pela humanidade.

A produção nacional de trigo em 2011 foi aproximadamente, 5.788,6 mil toneladas, 1,6% menor do que na safra anterior, quando a produção alcançou 5.881,6 mil toneladas. Conseqüentemente houve redução da produtividade de 2.672 kg ha^{-1} , menor que na safra passada que foi de 2.736 kg ha^{-1} (CONAB, 2012). Torna-se necessário incentivar a triticultura no Brasil, por meio de medidas de apoio à produção, fomento e comercialização, para que o país consolide o desenvolvimento e a estabilidade da cultura, diminuindo a dependência externa do produto e tornando-o mais competitivo mundialmente.

O alto potencial de produção da cultura do trigo vem sendo obtido pelo uso de cultivares modernos, aliado ao uso racional e integrado dos recursos de solo, clima e técnicas de manejo. Entre as técnicas de manejo, Scalco et al. (2002) e Megda et al. (2009) destacam a adubação nitrogenada na qual o nitrogênio (N) é um dos nutrientes absorvidos em maior quantidade pela cultura com respostas positivas no rendimento.

Ao se considerar a necessidade de N para o desenvolvimento da cultura, além dos fertilizantes químicos e orgânicos, outra alternativa para o fornecimento de N seria as associações com bactérias diazotróficas. Neste sentido, é importante realizar pesquisas com bactérias fixadoras de nitrogênio associado a essa cultura, mesmo que apenas parte de suas necessidades de N possa ser suprida pela inoculação das sementes.

Entre as bactérias diazotróficas destacam-se as do gênero *Azospirillum* ssp. que podem colonizar as raízes e colmos das plantas sem causar sintomas de doenças (TERVER; HOLLIS, 2002). O mecanismo de promoção de crescimento vegetal inclui ações diretas como a fixação biológica de N (BALDANI et al., 1998), produção de reguladores de crescimento e ações indiretas como o controle biológico (KLOEPPER et al., 1999). A colonização de plantas de trigo por bactérias diazotróficas podem ser afetada por fatores abióticos e bióticos como pH, temperatura, exsudatos radiculares, outras bactérias. A simples presença de bactérias na planta, não é um indicativo de promoção de crescimento e incremento de produtividade, visto que bactérias diazotróficas nativas geralmente não são eficientes na fixação biológica do N (FBN).

Por isso, estudos promissores com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) em associações com gramíneas, em especial a cultura do trigo em veículo líquido e turfoso, submetido a diferentes doses de N conjugado com aplicação de biorreguladores são insuficientes, sendo considerável a necessidade de buscar informações que possam contribuir como tecnologia alternativa de maneira racional e econômica.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* no desempenho agrônômico e na qualidade das sementes de trigo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ecofisiologia da cultura do trigo

O crescimento e desenvolvimento da cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) estão sujeitos a fenômenos complexos, os quais envolvem efeito de fatores externos e internos nos processos fisiológicos da planta (FORNASIERI FILHO, 2008).

Os processos de fotossíntese, respiração, transpiração e evaporação, são funções diretas da energia disponível no ambiente, comumente designada por calor; tendo em vista que o crescimento, o desenvolvimento e a translocação de fotoassimilados encontram-se ligados aos fatores abióticos a que as plantas estão expostas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A temperatura é um fator genérico que afeta a duração de todos os estágios da cultura, tanto na emergência quanto na maturação fisiológica (MIRALLES, 2004). Por esse motivo, a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa, interceptada e absorvida pelas folhas e a eficiência com que estas convertem a energia radiante em energia química pela fotossíntese, tornam-se responsáveis pela produção de biomassa pelas culturas.

A temperatura ideal para o pleno desenvolvimento da cultura oscila entre 15 e 25°C, pois no início do desenvolvimento da cultura com temperaturas amenas (sem geadas) prolonga o estágio vegetativo e desenvolve mais perfilhos, resultando em um sistema radicular mais abundante. Se por ventura após a antese ocorrer esporadicamente temperaturas inferiores a 0°C, estas podem provocar enrugamento das sementes, reduzindo o peso hectolítrico e a germinação. Por outro lado, temperaturas muito altas causam efeitos diretos sobre a planta como o aumento da respiração, diminuição da produção de fotoassimilados, redução da duração dos estágios de desenvolvimento e da altura de plantas, causando esterilidade bem como diminuindo a síntese de carboidratos e da sua deposição nas sementes, prejudicando o potencial produtivo da cultura

(HARDING et al., 1990; SCHEEREN et al, 2000; SOUZA; RAMALHO, 2001; WANG et al., 2003; MIRALLLES, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004; HEINEMANN et al., 2006).

De modo geral, a temperatura paralelamente conjugada ou não ao fotoperíodo são os elementos fundamentais que mais prejudicam as lavouras de trigo (STRECK et al., 2003a; WHITE, 2006; FRANCO, et al., 2009). A exposição de plantas de trigo a baixas temperaturas pode diminuir também o tempo (dias) para floração, sendo este processo denominado de vernalização (FLOOD; HALLORAN, 1986; MOSSAD et al., 1995).

O fotoperíodo juntamente com a disponibilidade de água influencia a taxa de aparecimento de folhas alterando o filocron (KIRBY, 1990; GONZÁLEZ et al., 2003). A taxa de emergência de folhas aumenta com o acréscimo do fotoperíodo, isto é, há diminuição do filocron com o aumento do fotoperíodo, reduzindo drasticamente a fase vegetativa das plantas de trigo (CAO; MOSS, 1989). De acordo com González et al. (2003), a partir do estágio de espiguetas terminal o fotoperíodo e a disponibilidade hídrica não alteram o número final de folhas.

A disponibilidade de água é um dos mais importantes fatores ambientais, pois atua praticamente em todos os processos fisiológicos e bioquímicos. O estágio fenológico da planta compreendido entre a diferenciação floral e a antese é o mais sensível a ocorrência de déficit hídrico, provocando redução do número de flores férteis por espiguetas e do número de sementes por espiga. Outro ponto de sensibilidade ocorre durante o florescimento e a formação das sementes, provocando perda da fertilidade do pólen e morte da espiguetas pela menor disponibilidade hídrica. A redução da atividade fotossintética pela redução na assimilação do CO₂ e a senescência das folhas também são indicadores do efeito do déficit hídrico reduzindo o ciclo da cultura (FAVER et al., 1996; SHAH; PAULSEN, 2003; PLAUT et al., 2004).

Na fase de germinação, os principais fatores que afetam o desenvolvimento são a umidade do solo, a temperatura e o oxigênio que, em determinados níveis formam as condições favoráveis para o início do processo de germinação. Neste momento é necessário que a semente tenha embebido no mínimo 35% de água da sua massa, sendo que a temperatura ótima para germinação encontra-se próxima a 20°C (POPINIGIS, 1985). No entanto, após

a emergência das plântulas, altas temperaturas do solo podem acarretar a inibição do desenvolvimento de raízes prejudicando o potencial de crescimento e, conseqüentemente, diminuir a área foliar e o número de perfilhos (FISCHER, 1985).

Após a emergência da plântula, as folhas são produzidas a cada 3 a 5 dias, na dependência das condições térmicas vigentes. Embora as cultivares tardias possa apresentar maior número de folhas, normalmente, estas são produzidas no colmo de 7 a 10 folhas, não considerando as folhas dos perfilhos. A emissão, o desenvolvimento e a sobrevivência dos perfilhos são importantes, originando-se de gemas presentes nos pontos de fixação com o coleóptilo e das folhas inferiores do colmo principal, emitidos de forma alternada. Estas estruturas fazem parte dos componentes de rendimento e são, também, supridoras de assimilados ao colmo principal (LAUER; SIMMONS, 1988; MUNDSTOCK, 1999; ALMEIDA et al., 2000; FORNASIERI FILHO, 2008). A sincronia entre a haste principal e as taxas de desenvolvimento de perfilhos é uma condição essencial para a sobrevivência de perfilhos em condições favoráveis.

O ciclo do crescimento da planta pode ser descrito com base nas principais fases vegetativas, tais como germinação, desenvolvimento de plântula, produção de folhas, perfilhamento e diferenciação floral; reprodutiva: emergência de espiga, florescimento, enchimento de grãos e maturidade fisiológica. Todavia, a identificação das fases é fundamentada em indicadores morfológicos externos de fácil identificação a campo. A fase vegetativa pode ser definida da emergência até o aparecimento da inflorescência ou antese, e a fase reprodutiva inicia-se no começo da antese e se estende até a maturidade fisiológica. Logo, a duração do ciclo total de desenvolvimento de cultivares de trigo tem relação direta com a duração da fase vegetativa (STRECK et al., 2003b; WALTER et al., 2009).

A manutenção do rendimento de grãos é atribuída à compensação entre os componentes do rendimento (HOLEN et al., 2001; OZTURK et al., 2006), uma vez que o trigo apresenta elevada capacidade de compensar a falta ou excesso de um componente pela modificação ou ajuste nos demais (FREEZE; BACON, 1990). No caso, todos os componentes do rendimento do trigo podem beneficiar-se em maior ou menor grau do nitrogênio associado a

doses de N, exceto a população de plantas (ZAGONEL et al., 2002). Por esse motivo, considerando os avanços alcançados no aumento do potencial de rendimento, é importante considerar a utilização das bactérias diazotróficas para a fixação biológica do nitrogênio nas gramíneas.

2.2 Bactérias diazotróficas: *Azospirillum brasilense*

A rizosfera é um hábitat de grande importância, pois hospeda bactérias endofíticas, associativas e de vida livre. Esses microrganismos denominados bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) influenciam de várias maneiras na capacidade de fixação biológica do N; no aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas; na produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberilinas, etileno e uma variedade de outras moléculas; na solubilização de fosfato; favorecem associações benéficas de plantas com micorrizas e podem agir indiretamente no crescimento, para proteger a planta de fungos do solo ou de bactérias fitopatogênicas (TIEN et al., 1979; STRZELCZYK et al., 1994; RODRIGUEZ et al., 2004; BASHAN et al., 2004; SPAEPEN et al., 2007; EMBRAPA, 2007; PERRIG et al., 2007; CASSÁN; GARCIA, 2008; REIS JUNIOR et al., 2008).

Especificamente no caso do gênero *Azospirillum* spp. são bactérias diazotróficas, gram negativas, aeróbicas curvas, colonizadores de raízes de ampla faixa hospedeira (YOUNG, 1992; BASHAN; HOLGUIN, 1997; BASHAN et al., 2004). Estão classificadas em dez espécies principais: *A. amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983), *A. halopraeferans* (REINHOLD et al., 1987), *A. largimobile* (DEKHIL et al., 1997), *A. oryzae* (XIE; YOKOTA, 2005), *A. irakense* (KHAMMAS et al., 1989), *A. doebereineriae* (ECKERT et al., 2001) *A. brasilense* e *A. lipoferum* (TARRAND et al., 1978), *A. Melinis* (PENG et al., 2006), *A. canadensis* (MEHNAZ et al., 2007), *A. picis* (LIN et al., 2009) e, recentemente, *A. thiophilum* (LAVRINENKO et al., 2010).

Para tanto, podem colonizar partes externas dos tecidos vegetais por meio de mecanismos específicos, sendo consideradas epifíticas, enquanto outras apenas colonizam a camada interna das raízes, denominadas endofíticas (BALDANI et al., 1998; REINHOLD-HUREK; HUREK, 1998). No primeiro aspecto, a bactéria coloniza toda a superfície radicular formando

pequenos agregados (GARCIA et al., 1980). No segundo aspecto, ocorre a colonização dos espaços intercelulares das células da epiderme e do córtex radicular na zona de alongamento e a formação de pelos radiculares; além do mais, dificilmente as bactérias diazotróficas invadem o tecido vascular e o interior das células. Ainda neste sentido, nos vasos do protoxilema e no aerênquima radicular é estabelecida uma população interna capaz de reduzir as concentrações de oxigênio que favorecem a atividade da fixação biológica do N (DOBEREINER, 1992).

Estudos desenvolvidos por Michiels et al. (1991) provaram que o processo de ligação das bactérias à radícula se realiza em fases de adsorção e ancoramento. A primeira fase é reversível, envolve apenas proteínas e apresenta duração de aproximadamente 2h. Já a segunda fase é irreversível, provavelmente envolve apenas polissacarídeos de superfície e apresenta duração de 8 à 16h. Assim, é importante salientar que ambas as etapas são medidas pela ação do flagelo polar de *Azospirillum* ssp., cuja participação na fase de adsorção é decisiva.

Os microrganismos endofíticos podem ser associativos ou simbióticos. Os associativos, em geral, não provocam alterações visíveis. Por outro lado, os simbióticos compreendem a família *Rhizobiaceae* que altera a raiz da planta formando nódulo (DIDONET, 2007). Ao contrário das bactérias simbióticas, o processo da FBN por bactérias associativas consegue suprir apenas parcialmente as necessidades das plantas, excretando somente uma parte do N fixado diretamente para a planta associada; posteriormente, a mineralização das bactérias pode contribuir com aportes adicionais de N para as plantas (HUNGRIA, 2011). Consequentemente, os microrganismos associativos juntam-se às plantas para promover aumento no rendimento e atribuir resistência aos estresses bióticos e abióticos, capazes de reduzir o N₂ em amônia de forma assimilável pelas plantas (DOBBELAERE et al., 2003).

As bactérias do gênero *Azospirillum* ssp. podem produzir hormônios, por meio da FBN favorecendo a multiplicação de raízes laterais e dos pelos absorventes, aumentando a capacidade de absorção de água e nutrientes pelas plantas, o que inclusive, possivelmente resulta na maior exploração de volume do solo (BARBIERI; GALLI, 1993; OKON; VANDERLEYDEN, 1997; BASHAN et al., 1989; ZAIED et al., 2003; PERRIG et al., 2007). De acordo com

Antonyuk e Evsseva (2006), as plantas de trigo excretam pelas raízes glicoproteínas como as lectinas que atuam como sinais moleculares, para auxiliar na associação entre o genótipo e as bactérias diazotróficas.

Especificamente para cereais, as espécies de maior importância como fixadoras de nitrogênio são *A. lipoferum* e *A. brasilense* (BALDANI et al., 1998; REIS JUNIOR et al., 2008; HUNGRIA, 2011). Além da divisão em espécies, estas são subdivididas em estirpes, selecionadas de acordo com a sua capacidade de fixar N, sintetizar hormônios (ZIMMER, 1988; FRANKENBERGER; ARSHAD, 1995) e ter compatibilidade com diferentes espécies vegetais e cultivares.

O fato de a bactéria ser pouco exigente em relação às condições de solo para fixar N, torna mais difícil a introdução de estirpes de bactérias com maior capacidade de fixação, pela competição e, por esse motivo, um dos fatores relevantes na seleção de estirpes para inoculação é a capacidade de competir com aquelas já existentes no solo (HUNGRIA, 2011).

Resultados, obtidos por Okon e Labandera-Gonzalez (1994) com *A. brasilense* e *A. lipoferum* em diversas culturas, indicaram que em 65% dos ensaios, os resultados foram positivos, com incrementos de 5 a 30% na produtividade. Em geral, o uso do inoculante proporciona redução de 40 a 50% no uso de fertilizantes nitrogenados.

Neste sentido, o *Azospirillum brasilense* quando inoculado via semente incrementa a produtividade da cultura do trigo (BARBIERI et al., 1986; SWEDRZYNSKA, 2000; ROESCH et al., 2005; SANTA et al., 2008; PICCININ, et al., 2011), do milho (CAVALLET et al., 2000; SAIKIA et al., 2007; REIS JUNIOR et al., 2008; BRACCINI et al., 2012), aveia e cevada (SANTA et al., 2008), proporcionando aumento no crescimento da parte aérea e da raiz das plântulas de arroz (EMBRAPA, 2003), milheto (BOUTON et al., 1985), cana-de-açúcar (BODDEY, 1995), entre outras.

Zorita e Canigia (2008), após avaliarem a eficiência de *Azospirillum brasilense* nas sementes de trigo de 297 experimentos na Argentina, reportam que as plantas inoculadas apresentaram crescimento mais vigoroso com maior expansão da área radicular e maior acúmulo de matéria seca (12,9 e 22%, respectivamente).

Santa et al. (2008), para cultura da cevada, obtiveram respostas positivas no rendimento de grãos, quando o tratamento inoculado associado a 32 kg ha⁻¹ de N foi semelhante ao que recebeu 40 kg ha⁻¹ de N com ou sem inoculação. Ainda, os mesmos autores relatam que, para a aveia, a inoculação com *Azospirillum brasilense* não incrementou o rendimento, densidade de plantas e nitrogênio total das sementes.

Segundo Hungria (2011), oito ensaios avaliaram as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense* em veículo líquido e turfoso e observou-se aumento médio na produtividade de milho de 26% e de 31% na do trigo. A inoculação de *Azospirillum brasilense* na presença de pequenas doses de fertilizantes nitrogenados tem apresentado maior eficiência, quando comparada com o uso isolado da bactéria (DOBBELAERE; CROONENBORGHS, 2002).

No entanto, há várias formas de utilização do inoculante, como a forma líquida, turfosa, aplicação de pós-emergência, pulverização no sulco de semeadura, entre outros. Atualmente, o produto é aplicado diretamente sobre a semente na forma líquida ou turfosa estando associado a doses de N.

2.3 Importância do nitrogênio

Os modernos cultivares de trigo apresenta alto potencial de produção; porém, é estritamente necessário executar adequadamente as práticas de manejo envolvidas no processo produtivo, pois podem influenciar no desempenho agrônomo. As técnicas de manejo que integram a adoção de determinadas práticas, como época de semeadura, espaçamento e densidade de sementes, controle de plantas daninhas, pragas e doenças, manejo da fertilidade de solo e quantidade de N, tornam-se essenciais por otimizar a produtividade e reduzir os custos de produção.

Em geral, para ser utilizado pelas plantas, precisa ser transformado em formas orgânicas ou inorgânicas. As principais formas de suplementação de N às plantas são o amônio (NH₄⁺) e o nitrato (NO₃⁻) (MARENCO; LOPES, 2005). O suprimento inadequado de nitrogênio é considerado o principal fator limitante para a cultura, pois o mesmo exerce importante função nos processos bioquímicos da planta. Dentre as principais funções que o N exerce nos vegetais, destaca-se a sua participação na síntese como componente estrutural

de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucléicos, fitocromos e clorofila, participando de várias rotas metabólicas na formação ATP, NADH e NADPH (BULL, 1993; CARVALHO et al., 2003; FAQUIM; ANDRADE, 2004). Este nutriente é extrinsecamente importante no estágio inicial de desenvolvimento das plantas, pois atua na síntese de citocininas, sendo fundamental para o desenvolvimento do sistema radicular da plântula (FORNASIERI FILHO, 2008).

Durante os estágios iniciais de desenvolvimento da cultura do trigo, o fornecimento de N está diretamente relacionado com perfilhamento, processo crucial na determinação do rendimento de sementes, que se correlaciona com a expansão da área foliar e influencia o número de espigas por planta. A deficiência do nutriente afeta principalmente as folhas mais velhas, apresentando elas coloração verde clara, reduzindo o perfilhamento, causando distúrbios na divisão e no crescimento celular, diminuindo a síntese proteica e comprometendo o rendimento. No entanto, o excesso provoca o crescimento excessivo, induz ao acamamento, uma vez que a planta cresce demasiadamente, provoca maturação tardia e apresenta maior suscetibilidade a doenças (MALAVOLTA, 1975; OSAKI, 1991; MUNDSTOCK; BREDEMEIER, 2002).

A maioria dos solos brasileiros cultiváveis apresenta baixos teores disponíveis de N; por esse motivo torna-se necessária a aplicação de adubos nitrogenados. A adubação pode ser enquadrada no conceito de manutenção, sendo considerada a contribuição da matéria orgânica e da cultura precedente, a expectativa de rendimento e as perdas do sistema, tais como: volatilização, lixiviação, imobilização microbiana, desnitrificação e erosão (PAUL; CLARK, 1989; PANG; LETEY, 2000; ERNANI, 2003; BARBOSA FILHO et al., 2004; CANTARELLA, 2007; REIS JUNIOR et al., 2010).

É notório que o N determina respostas significativas em termos de rendimento para cereais, perfazendo um dos elementos mais absorvidos pela cultura do trigo. De acordo com Sousa e Lobato (2004) e Cantarella (2007), o elemento mais exportado pelas plantas de trigo é o N; para cada tonelada de grãos produzidos são exportados 25 kg de N.

Segundo Penckoswski (2009) a quantidade de nitrogênio aplicada em cultivares de trigo com alto potencial produtivo no Estado do Paraná é baixa. As doses variam de 80 a 90 kg ha⁻¹ no máximo, impedindo que se atinja o

potencial máximo para a cultura. Já nos Campos Gerais do Paraná, as doses estão próximas dos 120 kg ha⁻¹.

Moreira e Siqueira (2002) observaram os efeitos da FBN para a cultura do trigo, obtendo baixa eficiência na assimilação. Além do mais, é necessária a aplicação de adubos nitrogenados para suprir as necessidades da cultura por esse nutriente. O grande interesse da FBN em gramíneas é devido à maior facilidade de aproveitamento de água pelas mesmas, em relação às leguminosas, pela maior efetividade fotossintética. O trigo apresenta sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo. Por isso, mesmo que apenas uma parte do nitrogênio pudesse ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia com adubos nitrogenados poderia ser próximo àquela concebida pelas leguminosas.

Okon e Vanderleyden (1997) estudando o manejo correto da associação *Azospirillum* spp. na cultura do trigo, relataram incrementos de produtividade com minimização dos custos de produção, principalmente na aquisição de fertilizantes nitrogenados.

Estudos realizados por Didonet et al. (2000), relacionados ao efeito da inoculação de sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio em diferentes estágios de desenvolvimento, não observaram efeito da inoculação com o rendimento de sementes e nem no N-total acumulado nas sementes.

Por outro lado, estudos provaram que a inoculação de *Azospirillum brasilense* resultou no aumento de N acumulado na espiga e maior crescimento das raízes em relação à parte aérea, propiciando aumento na produtividade, principalmente na presença do adubo nitrogenado (SANTA et al., 2004; ROESCH et al., 2005; SALA et al., 2007).

2.4 Biorreguladores na cultura do trigo

Com interesse em maximizar o potencial de rendimento da triticultura brasileira, pesquisas vêm sendo voltadas para esta cultura, no intuito de alcançar maiores produtividades associadas à redução nos custos de produção. Nesse sentido, com adoção de determinadas práticas como época

de semeadura, espaçamento, densidade de sementes, controle fitossanitário, conhecimento das exigências hídricas e nutricionais, ressalta-se a necessidade de se realizar novos experimentos com biorreguladores. De acordo com Santos e Domingues (2002), a utilização dessas substâncias possibilita relação mais equilibrada entre os estágios de desenvolvimento das plantas, o que gera a necessidade das plantas produzirem substâncias denominadas hormônios vegetais ou fitormônios que, em baixas concentrações, promovem, inibem ou modificam o desenvolvimento vegetal (FLOSS, 2006).

O balanço entre auxinas e citocininas tem um papel importante na regulação do crescimento e desenvolvimento meristemático (LEYSER, 2006; VEIT, 2006). O controle do desenvolvimento dos afilhos em gramíneas ocorre devido à sincronização entre a divisão e o alongamento celular, e estes processos estão relacionados às condições hormonais das plantas. A ação exercida pela auxina e citocinina está associada, respectivamente, à inibição e à promoção do desenvolvimento de gemas laterais (TAIZ; ZEIGER, 2004). Portanto, tanto reguladores de crescimento quanto hormônios são mensageiros químicos que controlam os processos fisiológicos vitais que contribuem para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

O biorregulador comercial Stimulate[®] apresenta em sua concentração 0,005% de ácido indolbutírico (auxina), 0,009% de cinetina (citocinina) e 0,005% de ácido giberélico (giberelina), sendo este genérico sintético de hormônios vegetais (citocininas, giberelinas, ácido indolacético e etileno) também conhecido como bioestimulante, em função da sua composição e proporção. Atua em diversos processos morfológicos e fisiológicos, favorece o crescimento e o desenvolvimento das plantas, estimula divisão, diferenciação e alongamento celular, podendo, também, aumentar a absorção de água e nutrientes pelas plantas e proporcionar melhor qualidade fisiológica e sanitária das sementes (VIEIRA; CASTRO, 2001; VIEIRA; CASTRO, 2002; CASTRO, 2006; CAMPOS et al., 2008; CAMPOS et al., 2009; ALBRECHT et al., 2010).

Cabe ressaltar que os biorreguladores vegetais são caracterizados como substâncias sintéticas que, quando aplicadas exogenamente, apresentam ações similares aos grupos de hormônios vegetais (CASTRO et al., 2005).

Vários resultados positivos foram encontrados em diversas culturas com a utilização de Stimulate® e outros produtos caracterizados como reguladores vegetais, em culturas como soja (KLAHOLD et al., 2006; ÁVILA et al., 2008; CAMPOS et al., 2008; MOTERLE et al., 2008; ALBRECHT et al., 2010), feijão (ALLEONI et al., 2000), milho (DOURADO NETO et al., 2004), algodão (SANTOS; VIEIRA, 2005; ALBRECHT et al., 2009), cevada (TEIXEIRA; RODRIGUES, 2004), assim como para trigo (RODRIGUES et al., 2003; BERTI et al., 2007).

As auxinas são substâncias quimicamente relacionadas com o ácido indolil-3 acético (AIA), que promovem o crescimento das plantas, principalmente por meio do alongamento celular, sendo encontradas principalmente em órgãos que estão em crescimento ativo, tais como as regiões meristemáticas dos ápices radiculares e caulinares, folhas jovens, coleótilos e sementes em desenvolvimento. Estas são sintetizadas em regiões de crescimento ativo, como o meristema apical do caule, gemas axilares ou laterais, folhas jovens e meristemas das raízes, tendo como precursor o aminoácido triptofano (DEFAVARI; MORAES, 2002; SANTOS; DOMINGUES, 2002; FLOSS, 2006). Segundo apontam Taiz e Zeiger (2004) e Floss (2006), altas concentrações de auxinas inibem o crescimento da raiz e baixas concentrações favorecem o desenvolvimento radicular.

Em contrapartida, as citocininas participam efetivamente dos processos de divisão, diferenciação e alongamento celular, bem como atuam em associações com as auxinas no controle da dominância apical. Com isso, os dois hormônios apresentam efeitos antagônicos, agem com ácido abscísico e cumarina nos efeitos de iniciação da germinação, inibindo também a saída de nutrientes das partes jovens e mobilizando os nutrientes das partes mais velhas da planta, retardando a senescência dos tecidos (LARCHER, 2000; CASTRO, 2006; FLOSS, 2006).

Assim, as giberelinas promovem o alongamento dos entrenós em diversas espécies da família das gramíneas, constituem um grupo de diterpenos, assemelhadas ao ácido giberélico, que desempenha funções na regulação de vários processos fisiológicos das plantas. Além do alongamento do caule, as giberelinas também controlam vários aspectos da germinação de sementes, incluindo a mobilização de reservas do endosperma e a quebra de

dormência. Durante o desenvolvimento reprodutivo podem afetar a transição do estado juvenil para o maduro, bem como a indução da floração, a determinação do sexo, estabelecimento do fruto e outros como a partenocarpia (SANTOS et al., 2000; DEFAVARI; MORAES, 2002).

Espindula et al. (2010a) relatam que chormequat, trinexapac-ethyl e paclobutrazol promovem efeitos significativos na estatura de plantas de trigo, por atuar como antagonistas na síntese de giberelina modificando o metabolismo destas.

Outro elemento, não menos importante, é o etileno produzido em quase todas as células das plantas superiores, em praticamente todos os órgãos, difundindo-se na fase gasosa através dos espaços intercelulares, podendo ser perdido para a atmosfera externa ou atingir outros órgãos da planta. Age em concentrações muito baixas e participa da regulação de praticamente todos os processos de crescimento, desenvolvimento e senescência das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Em relação ao ácido abscísico, a biossíntese ocorre nos cloroplastos e outros plastídeos, em sementes e folhas maduras, especialmente em resposta ao estresse hídrico. O transporte, na maioria das vezes, ocorre das folhas pelo floema. O ácido abscísico promove o fechamento estomático, indução do transporte de fotoassimilados das folhas para sementes em desenvolvimento, induz a síntese de proteínas de reserva nas sementes, participa na embriogênese e pode afetar a indução e manutenção de dormência nas sementes e gemas de certas espécies (TAIZ; ZEIGER, 2004; RAVEN et al., 2001).

Por isso, diversas pesquisas demonstram o efeito de biorreguladores com ação promotora na cultura da soja, como os de Vieira e Castro (2001), Klahold et al. (2006), Campos et al. (2008), Moterle et al. (2008), Campos et al., (2009) e Albrecht et al. (2010), que indicaram resultados positivos nos componentes da produção e desempenho das plantas.

Segundo Zagonel et al. (2002), utilizando o regulador de crescimento trinexapac-ethyl na cultura do trigo, verificaram redução do comprimento dos entrenós e aumento do número de espigas por metro, incrementando o rendimento. Este regulador atua nas plantas, reduzindo a alongação celular no

estádio vegetativo e obstruindo a biossíntese do ácido giberélico (HECKMAN et al., 2002).

Cato (2006), trabalhando com Stimulate[®] aplicado via tratamento de sementes de trigo, observou aumento na massa seca da parte aérea, número de perfilhos e espigas por planta. No entanto, até aonde se sabe, poucos estudos tiveram como objetivo investigar a ação de biorreguladores sobre a cultura do trigo, especialmente no que se refere à aplicação foliar de biorreguladores associados ao tratamento de sementes com *Azospirillum brasilense* com diferentes doses de nitrogênio, verificando a possibilidade de melhoria na qualidade fisiológica das sementes.

2.5 Qualidade de sementes

A utilização de sementes com boa qualidade fisiológica, aliada a práticas culturais adequadas, favorece a obtenção de estandes mais uniformes e incremento no rendimento de sementes. Com isso, técnicas mais sofisticadas devem ser adotadas no sentido de obter sementes com alto potencial fisiológico (McDONALD, 1998).

Em geral, as sementes adquirem a máxima qualidade próxima à maturidade fisiológica, período em que ocorre o máximo acúmulo de massa seca, a fim de promover formação completa dos sistemas bioquímico, morfológico e estrutural (NAKADA et al., 2011). Por outro lado, o processo de deterioração é a soma de todas as alterações físicas, fisiológicas, químicas e bioquímicas que ocorrem nas sementes, conduzindo-as à perda total da viabilidade (FOWLER, 2000). A rapidez com que ocorre a perda de qualidade das sementes após a maturidade fisiológica é em função da espécie, da cultivar e das condições impostas às sementes a campo, após a colheita e durante as operações de beneficiamento e armazenamento (MARCANDALLI et al., 2011).

É notório que a germinação e o vigor das sementes são condicionadas por características genéticas, influenciados por sinais externos (ambientais), que quando percebidos pela semente desencadeiam sinais internamente, em nível molecular, os quais induzem a ativação dos processos metabólicos que culminam com o crescimento do eixo embrionário (CASTRO et al., 2004). De

acordo com Marcos Filho (2005), a qualidade de sementes pode ser definida como conjunto de características que determinam seu valor para a semeadura.

O processo de germinação é caracterizado, principalmente, pela absorção de água e pela mobilização de reservas da semente. O vigor compreende o conjunto de características que determinam o potencial fisiológico das sementes, sendo influenciado pelas condições de ambiente e pelo manejo durante as etapas de pré e pós-colheita (MARCOS FILHO, 2005).

Sementes de alta qualidade é o resultado do manejo e das boas práticas de produção, no qual o N está intimamente ligado à produção de proteínas, que são constituintes importantes no desenvolvimento inicial do embrião durante a germinação das sementes. O manejo da adubação nitrogenada de maneira racional é essencial para a obtenção de elevadas produtividades de trigo, que podem ser obtidos por meio da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

Além da qualidade fisiológica das sementes, o grão de trigo também deve apresentar qualidade tecnológica satisfatória para favorecer a comercialização e industrialização. Certos atributos na quantidade e na qualidade de proteínas são de grande interesse prático, por serem influenciadas pelas condições de crescimento e disponibilidade de N nos diversos estádios de desenvolvimento da planta. A qualidade está relacionada a fatores genéticos e à quantidade por fatores ambientais como temperatura, precipitação, disponibilidade de enxofre e nitrogênio (SILVA et al., 2004; FORANASIERI FILHO, 2008; FRANCESCHI et al., 2009).

No endosperma da semente estão presentes as proteínas do glúten, que são as principais responsáveis pela qualidade industrial e representam aproximadamente 85% das proteínas da farinha de trigo (BRAMMER, 2000). Segundo Franceschi et al. (2009), as proteínas são classificadas em dois grupos: as gluteninas (alto e baixo peso molecular), responsáveis pela elasticidade, e as gliadinas, responsáveis pelas características de viscosidade.

De certa forma, o N pode influenciar a qualidade das sementes de várias culturas e os seus efeitos variam conforme as condições ambientais e o estágio de desenvolvimento da planta em que a aplicação é realizada, refletindo principalmente no tamanho e na massa das sementes, na formação do embrião, com resultados eficazes sobre a viabilidade e no vigor das

sementes (DIDONET, 1994; TEIXEIRA et al., 2005; MARCOS FILHO, 2005, MEIRELES et al., 2009; TOLEDO et al., 2009; ABRANTES et al., 2010).

Acredita-se que os biorreguladores podem incrementar o crescimento e o desenvolvimento vegetal, estimular a divisão celular, podendo, também, aumentar a absorção de água e de nutrientes pelas plantas (VIEIRA; CASTRO, 2002) e melhorar a qualidade fisiológica da semente (ALBRECHT et al., 2010).

Por esse motivo, torna-se necessário realizar estudos detalhados que envolvam a produção de sementes em manejo de biorreguladores, que visem a estimular a capacidade de pesquisa e desenvolvimento por meio de ensaios, que contribuam com o aumento de informações e, por consequência, o melhor posicionamento dos produtos, para gerar melhores resultados com maior segurança e estabilidade da adoção de novas tecnologias e aumentar e melhorar a qualidade de sementes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Instalação e condução do experimento

O experimento foi conduzido nos anos agrícolas de 2010 e 2011, instalado na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no município de Maringá, região noroeste do Estado do Paraná, situada a uma latitude de 23°25' ao sul e longitude de 51°57' a oeste de Greenwich, com altitude média de 540 m.

O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2006) de textura média. Os resultados da análise química do solo realizada antes da instalação do experimento encontram-se na Tabela 1. Para o ano de 2011, foi necessário realizar a calagem para elevar a saturação por bases a 70%.

Tabela 1 - Resultado da análise química e física do solo da área experimental, antes da implantação da cultura. (Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá – 2010/2011).

Profundidade	¹ P	² Ph		H ⁺ +Al ³⁺	Al ³⁺	¹ K ¹	³ Ca	³ Mg	SB	CTC	V	⁴ C
Cm	mg dm ⁻³	CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³			-----		-----		%	g dm ⁻³
	11,2	5,1	6,1	3,68	0,0	0,47	4,91	1,94	6,32	10,0	63,20	15,11
0 – 20	⁵ S-SO ₄ ²⁻	Zn	Fe	Cu	Mn	Areia grossa		Areia fina	Argila	Silte		
	-----mg dm ⁻³			-----			-----		-----%			
	4,02	3,89	111,1	9,86	121,39	51		16	28	05		
Profundidade	¹ P	² pH		H ⁺ +Al ³⁺	Al ³⁺	¹ K ¹	³ Ca	³ Mg	SB	CTC	V	⁴ C
Cm	mg dm ⁻³	CaCl ₂	H ₂ O	cmol _c dm ⁻³			-----		-----		%	g dm ⁻³
	7,9	4,7	5,6	3,42	0,0	0,36	2,68	0,99	4,03	7,45	54,09	9,12
0 – 20	⁵ S-SO ₄ ²⁻	Zn	Fe	Cu	Mn	Areia grossa		Areia fina	Argila	Silte		
	-----mg dm ⁻³			-----			-----		-----%			
	3,22	3,44	109,50	10,06	141,79	51		16	28	05		

¹ - Extrator Mehlich 1; ² - CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹; ³ - KCl 1 mol L⁻¹; ⁴ - Método Walkley-Black; ⁵ - Método Fosfato Monocálcico.

O clima predominante na região é do tipo Cfa, mesotérmico úmido, com chuvas abundantes no verão e no inverno seco com verões quentes, segundo classificação de Köppen (IAPAR, 1987). Os dados locais de precipitação pluvial, temperatura máxima e mínima diária, referentes ao período de duração do experimento em campo, foram coletados na FEI durante o ciclo da cultura Figura 1.

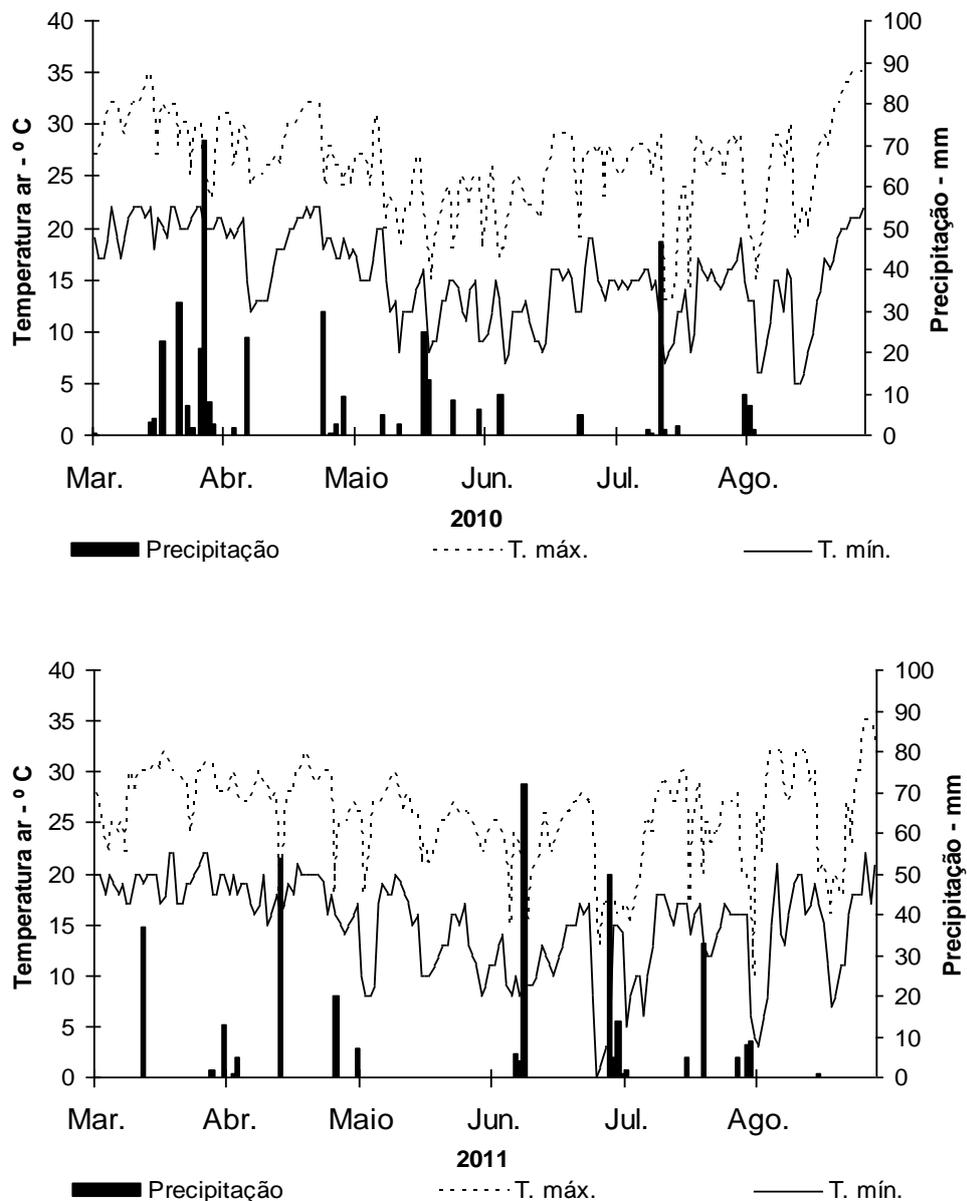


Figura 1 – Dados climáticos diários da precipitação pluvial, temperaturas máxima e mínima, de março a agosto na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) em 2010 e 2011.

Em relação às necessidades hídricas, em distintos períodos fisiológicos, independente do ano, foram suplementadas por meio de irrigação entre os meses de maio a julho, suprimindo a demanda da cultura.

Os tratamentos foram constituídos de ausência e presença da inoculação das sementes com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*, na formulação líquida e turfosa, três doses de adubação com nitrogênio (0, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N), distribuídos 1/3 na base e 2/3 em cobertura, havendo associação com a aplicação foliar do biorregulador Stimulate[®] (0 e 250 mL ha⁻¹) no perfilhamento. O esquema detalhado dos tratamentos encontra-se apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Esquema dos tratamentos com a inoculação das sementes da cultivar de trigo CD 150, associado a doses de nitrogênio e em manejo da aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

N°	Tratamentos
T1	Testemunha absoluta
T2	Sem nitrogênio + sem inoculante + biorregulador ***
T3	Sem nitrogênio + <i>Azospirillum</i> líquido *
T4	Sem nitrogênio + <i>Azospirillum</i> líquido * + biorregulador ***
T5	Sem nitrogênio + <i>Azospirillum</i> turfoso **
T6	Sem nitrogênio + <i>Azospirillum</i> turfoso ** + biorregulador ***
T7	½ dose de N + sem inoculante
T8	½ dose de N + sem inoculante + biorregulador ***
T9	½ dose de N + <i>Azospirillum</i> líquido *
T10	½ dose de N + <i>Azospirillum</i> líquido * + biorregulador ***
T11	½ dose de N + <i>Azospirillum</i> turfoso **
T12	½ dose de N + <i>Azospirillum</i> turfoso ** + biorregulador ***
T13	Dose cheia N + sem inoculante
T14	Dose cheia N + sem Inoculante + biorregulador ***
T15	Dose cheia N + <i>Azospirillum</i> líquido *
T16	Dose cheia N + <i>Azospirillum</i> Líquido * + biorregulador ***
T17	Dose cheia N + <i>Azospirillum</i> turfoso **
T18	Dose cheia N + <i>Azospirillum</i> turfoso ** + biorregulador ***

* Masterfix gramíneas líquido, aplicado na dose de 100 mL 50 kg⁻¹ de sementes de *Azospirillum* spp.

** Masterfix gramíneas turfoso, aplicado na dose de 100 g 50 kg⁻¹ de sementes de *Azospirillum* spp.

*** Biorregulador Stimulate[®] (Cinetina + Ácido giberélico + Ácido 4-indol-3-ilbutírico).

O biorregulador utilizado denominado Stimulate[®] é composto por três reguladores vegetais em sua concentração: 0,005% do ácido indolbutírico (auxina), 0,009% de cinetina (citocinina) e 0,005% de ácido giberélico (giberelina).

Para a implantação do experimento, a área foi dessecada com 3,0 kg ha⁻¹ do herbicida Roundup WG[®] (Glifosato) e, posteriormente, aplicado 1 L ha⁻¹ de Aminol 806[®] (2,4-D-Dimetilamina). A adubação de semeadura (N-P₂O₅-K₂O) foi realizada com base na análise de solo e seguindo as Informações Técnicas para Trigo e Triticale (2010), com expectativa de produzir 3.000 kg ha⁻¹ de sementes. A aplicação de nitrogênio foi fracionada em 1/3 na semeadura e 2/3 em cobertura no início do perfilhamento, seguindo as recomendações Embrapa Trigo (2008) e IAPAR (2004).

Por ocasião do tratamento de sementes com o inoculante líquido e turfoso, foram utilizadas as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 na concentração mínima de (1x10⁸ células viáveis por g ou mL). Para melhor aderência do produto utilizou-se água açucarada a 10% (concentração de 10% de açúcar) na dose de 100 g mL⁻¹ do produto comercial por hectare até atingir 150 mL de volume por 50 kg de sementes, veiculado misturado às sementes a fim de proporcionar o total recobrimento e, posteriormente, realizada a semeadura.

A semeadura foi realizada no dia 28/04/2010 (1º ano) e 29/04/2011 (2º ano), sob sistema de semeadura direta semeando a cultivar CD 150 com hábito de crescimento intermediário e ciclo precoce com densidade de 60 a 80 sementes viáveis por metro linear. As unidades experimentais foram constituídas por 15 linhas de 5,0 m de comprimento, com espaçamento de 0,15 m entre linhas, considerando-se como área útil 6 linhas centrais, desprezando-se 0,5 m em ambas as extremidades (3,6 m²).

Para proporcionar boas condições de crescimento e de desenvolvimento das plantas, foram realizadas capinas manuais e aplicações do herbicida Ally[®] (Metsulfurom-Metílico) para o controle das plantas infestantes, bem como o controle de pragas e de doenças foi realizado respeitando o nível de dano econômico para um manejo integrado e racional, com aplicação de Macht EC[®] (Lufenurum) a 100 mL ha⁻¹, Engeo Pleno[®] (Lambd-Acialotrina + Tiametoxam) a 70 mL ha⁻¹, Tamaron BR[®] (Metamidofós) a 600 mL ha⁻¹ para o controle de lagartas, pulgões e percevejos; para o

controle oídio, ferrugem do colmo e da folha, giberela e brusone do trigo, realizou-se a aplicação de Opera[®] (Epoconazol + Piraclostrobina) a 750 mL ha⁻¹ e Priori Xtra[®] (Azoxistrobina + Ciproconazol) a 300 mL ha⁻¹.

A aplicação do biorregulador Stimulate[®] foi realizada no perfilhamento, na dose de 250 mL ha⁻¹. Para a aplicação foliar foi utilizado pulverizador costal propelido a CO₂, com pressão constante de 2 BAR (ou 29 PSI), uma vazão de 0,65 L min.⁻¹, equipado com lança contendo 1 bico leque da série Teejet tipo XR 110 02, que, trabalhando a uma altura de 50 cm do alvo e a uma velocidade de 1 m s⁻¹, atingindo uma faixa aplicada de 50 cm de largura, que propiciou volume de calda de 200 L ha⁻¹.

3.2 Avaliação das características agrônômicas e rendimento

As avaliações de número de sementes por espiga, massa de sementes, bem como a determinação da qualidade fisiológica e dos teores de proteínas e nitrogênio foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Sementes do Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (Nupagri), em Maringá, Estado do Paraná. O peso hectolítrico foi determinado na C.Vale Cooperativa Agroindustrial no entreposto de Paulistânia, Estado do Paraná.

Para avaliar o número de sementes espiga⁻¹, foram coletadas 10 espigas aleatoriamente na área útil das parcelas e acondicionadas em sacos de papel Kraft, devidamente etiquetadas e, posteriormente, submetidas à contagem no Laboratório de Tecnologia de Sementes.

Ao final do ciclo, as parcelas foram colhidas manualmente e debulhadas em máquina trilhadeira estacionária, limpas com o auxílio de peneiras e selecionador de impurezas digital, secadas em condições naturais e acondicionadas em sacos de papel Kraft multifoliado.

A partir da massa de sementes obtida na área útil da parcela obteve-se a produtividade de cada parcela, que foi pesada em balança analítica, determinando-se o grau de umidade das sementes por meio do método de estufa a 105°C ± 3°C, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 5,0 g de sementes para cada parcela (BRASIL, 2009). A umidade das sementes foi corrigida para 13% e, posteriormente, calculou-se o rendimento expresso em kg ha⁻¹.

A massa de mil sementes foi determinada pela pesagem de 8 subamostras de 100 sementes para cada repetição de campo, com auxílio de balança analítica com precisão de um miligrama. Para todas as parcelas o coeficiente de variação foi inferior a quatro, multiplicaram-se os resultados por 10 (BRASIL, 2009).

O peso hectolítrico das sementes foi determinado pela pesagem em balança eletrônica com volume conhecido (225 mL) utilizando duas repetições por parcela, obtida no aparelho Dalle Molle[®] e os resultados foram expressos em kg hL⁻¹ (BRASIL, 2009).

3.3 Avaliação do potencial fisiológico das sementes

A qualidade fisiológica das sementes de trigo foi avaliada por meio dos testes de germinação (primeira contagem e contagem final), classificação do vigor das plântulas, frio modificado, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, os quais são descritos a seguir.

Teste de germinação: foi realizado com quatro subamostras compostas por 50 sementes para cada parcela colhida. As sementes foram semeadas entre três folhas de papel-toalha umedecidas com água destilada, utilizando-se a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Foram confeccionados rolos, os quais foram transferidos para germinador de sementes do tipo Mangelsdorf, regulado para manter constante a temperatura de 20°C. Foi realizada avaliação do número de plântulas normais aos oito dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, segundo as prescrições contidas nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Primeira contagem do teste de germinação: foi efetuada em conjunto com o procedimento anterior, utilizando-se a mesma metodologia, computando-se a porcentagem de plântulas normais obtidas no quarto dia após a semeadura (BRASIL, 2009).

Teste de frio: realizado com quatro subamostras compostas por 100 sementes por tratamento e repetição. A semeadura foi realizada entre três folhas de papel-toalha previamente umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos confeccionados foram

envoltos por sacos plásticos e lacrados com fita adesiva, permanecendo nessa condição por um período de sete dias em câmara de germinação do tipo B.O.D (Biolog Oxygen Demand), na ausência de luz e à temperatura constante de 10°C (KRZYZANOWSKI et al., 1999). Ao término desse período, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para germinador com temperatura constante de 20°C por quatro dias. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Teste de envelhecimento acelerado: realizado com quatro repetições por tratamento e repetição de campo, em caixas do tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm) como compartimento individual (mini-câmaras), apresentando em seu interior uma bandeja de tela metálica, onde foram distribuídas as sementes, de maneira a formarem camada simples. Foram adicionados 40 mL de água destilada ao fundo de cada caixa e estas foram tampadas. Posteriormente, as caixas foram levadas a uma câmara jaquetada de água (Water Jacked Incubator) modelo 3015 marca VWR/USA e mantidas a 43°C, durante 48 horas (LIMA et al., 2006; OHLSON et al., 2010). Em seguida, foram submetidas ao teste de germinação conforme já descrito. A contagem foi realizada aos quatro dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Teste de condutividade elétrica: foi conduzido utilizando-se quatro subamostras de 50 sementes para cada tratamento e repetição. Inicialmente, as sementes referentes a cada subamostra foram colocadas em copos plásticos (200 mL) e pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g. Após a pesagem, foram adicionados 75 mL de água deionizada nos copos plásticos contendo as sementes; em seguida, foram mantidas em câmara de germinação (B.O.D) a 25°C por 24 horas. Logo após, a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição foi realizada utilizando-se condutímetro microprocessador digital de bancada, modelo ACA 150, da marca Alpax. O valor indicado pelo aparelho foi anotado e dividido pela massa obtida de cada subamostra, conseqüentemente o resultado obtido foi expresso em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ (MARCOS-FILHO et al., 1987; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Determinação dos teores de proteínas nas sementes: foi realizada utilizando-se o método de Kjeldahl, na quantificação de nitrogênio total, conforme recomendação da Association of Official Analytical Chemist

(A.O.A.C., 1990) e Vitti et al. (2001), com modificações. Foram analisadas quatro subamostras de 0,2g da farinha de trigo moída, provenientes de amostras das sementes de cada repetição de campo. A farinha de trigo moída foi condicionada em tubos de ensaio, junto com 2 g de uma mistura catalítica (sulfato de cobre e selênio em pó) e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado; estes tubos foram, então, levados para aquecimento em um bloco digestor para a fase de digestão da matéria orgânica. O aquecimento foi gradual e, assim que a temperatura de 350°C foi atingida, o material permaneceu a esta temperatura constante por mais 2,5h. Após a obtenção do material digerido, iniciou-se a fase de destilação da amônia liberada, após a reação com hidróxido de sódio (50%), sendo recolhida em solução de ácido bórico a 4%. A titulação foi realizada em solução-padrão de ácido clorídrico a 1 N, em que os indicadores foram o vermelho de metila (0,2%) e o azul de metila (0,2%). Obteve-se para esse procedimento a recuperação de 99,7% de nitrogênio. Para o cálculo da conversão de nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25 e a porcentagem de proteínas foi obtida com base na matéria seca.

3.6 Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos foram instalados no delineamento experimental em blocos completos, com tratamentos casualizados, com seis blocos, em esquema fatorial 3 x 3 x 2. As doses de nitrogênio foram (zero, meia e dose cheia de N), distribuídas 1/3 na semeadura e 2/3 em cobertura; inoculação das sementes com *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6, (sem inoculante, inoculante líquido e inoculante turfoso); duas doses de biorregulador (0 e 250 mL ha⁻¹) aplicado no perfilhamento em duas safras (2010 e 2011).

Os resultados coletados no presente estudo foram analisados, seguindo-se as recomendações de Gomes (2000), pelas quais, em experimentos dessa natureza, o esquema de análise adotado é a análise conjunta de experimentos, sendo necessário se verificar a homogeneidade dos quadrados médios dos resíduos. Caso a relação entre o maior e o menor QMresíduo seja menor que 7, pode-se adotar a análise conjunta de experimentos; com isso, estes foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) e, quando significativas, as médias foram

comparadas pelo teste de Student Newman Keuls ($p < 0,05$), de acordo com Banzatto e Kronka (2008). Na comparação das médias da aplicação foliar com biorregulador o teste F foi conclusivo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados da análise estatística dos dados

Os resultados da análise de variância conjunta para as características agronômicas, rendimento, qualidade de sementes, teores de proteínas e nitrogênio revelaram efeito não-significativo ($p > 0,05$) nas interações de segunda ordem (Anos x Doses x *Azospirillum*). Entretanto, foi necessário realizar os desdobramentos para assegurar possíveis diferenças significativas que se encontram nos Apêndices 2A, 3A e 4A. Em relação às doses de N, apesar de ser fator quantitativo, o que interessou foram os fatores intermediários zero, meia e dose cheia de N.

Por sua vez, com o manejo de biorregulador permite refletir sobre a complexa interação de fatores bióticos e abióticos com a atividade dos hormônios vegetais, que influenciam a ecofisiologia das plantas (DARIO et al., 2005). Evidentemente, torna-se necessário realizar pesquisas com diferentes doses e estágios de aplicação de biorreguladores que estimulem e potencializem o rendimento da cultura do trigo. Contudo, na circunstância em que foi conduzido o experimento, fica evidente que a aplicação exógena de 250 mL ha⁻¹ de hormônios sintéticos proferidos pelo Stimulate[®] não proporcionaram incrementos significativos.

4.2 Desempenho agronômico do trigo

Os dados climáticos de precipitação pluvial, temperaturas máximas e mínimas diárias, referentes aos períodos de duração do experimento, nos dois anos, são apresentados na Figura 1.

Nota-se durante a condução do experimento em 2010, que a precipitação pluvial total foi de 555 mm, atendendo às necessidades da cultura. Por outro lado, em 2011 a disponibilidade hídrica apresentou comportamento distinto com 388 mm, com distribuições irregulares, ficando abaixo das necessidades mínimas requerida. Com isso, para assegurar o bom

desenvolvimento, realizou-se a irrigação complementar para repor as necessidades hídricas da cultura.

De acordo com Doorenbos e Kassam (1979), a necessidade hídrica da cultura do trigo é de 450 a 600 mm, dependendo do clima e da duração do ciclo.

Em relação às temperaturas, para o primeiro ano, a temperatura média do ar oscilou entre 15,4 e 25,9°C, com temperatura mínima de 5°C e máxima de 35°C no mês de agosto. De maneira semelhante, para o segundo ano de semeadura, a temperatura do ar oscilou entre 15,0 e 25,4°C com temperatura mínima de 1°C em junho e máxima de 35°C em agosto. Segundo Harding et al. (1990), a temperatura ideal para o pleno desenvolvimento oscila entre 15 e 25°C. Porém, vale ressaltar mesmo com temperaturas fora da faixa ideal, não foram detectados danos à cultura.

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados dos desdobramentos para doses e inoculantes com *Azospirillum* ssp., referentes ao número de sementes por espiga. No decorrer dos experimentos, independente da aplicação de biorregulador, os tratamentos sem adubação nitrogenada e sem a inoculação das sementes proporcionaram sintomas leves de deficiência de N nas folhas após o perfilhamento. Estas reações apresentadas pelas plantas podem ser atribuídas ao fornecimento de N (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Portanto, observa-se que as melhores respostas foram obtidas quando se aplicaram 50 kg ha⁻¹ de N associado ao inoculante líquido, que não diferiram significativamente, em nível de 5% de probabilidade da dose de 100 kg ha⁻¹. Nota-se no segundo ano que os melhores resultados foram obtidos, utilizando a metade da dose de N, conjugado ao *Azospirillum brasilense*, independente da forma líquida e/ou turfosa, que promoveu acréscimos de, aproximadamente, seis sementes por espiga.

Esse resultado torna-se relevante, uma vez que a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* permite realizar a fixação biológica parcial do nitrogênio (FBPN), que, por sua vez, foi potencialmente eficiente no sentido de incrementar o número de sementes por espiga com redução na dose de nitrogênio (meia dose de N).

Tabela 3 – Resultados médios do número de sementes por espiga, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	20,66 Cb	25,42 Ba	27,19 Ca	23,67 Ba	25,88 Ba	24,26 Ba
Meia	24,30 Bb	29,92 Aa	30,69 Ba	26,00 ABb	31,87 Aa	32,03 Aa
Cheia	28,94 Ab	31,32 Ab	36,37 Aa	27,38 Ac	31,77 Ab	34,92 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

Dommelen et al. (2009), estudando a inoculação com *Azospirillum brasilense* em sementes de trigo, observaram que a principal forma de assimilação do N é por meio da enzima glutamina sintetase, que geralmente libera amônio para o meio.

O incremento no número de sementes por espiga proporcionado pelo aumento das doses de nitrogênio também foi observado por Cazetta et al. (2007). Assim, os benefícios promovidos pela inoculação associada à meia dose de N permitem contribuir no desempenho agrônômico da cultura do trigo.

Por outro lado, trabalhos apontam que o número de sementes por espiga pode ser influenciado pela densidade de semeadura (OZTURK et al., 2006), disponibilidade hídrica (PIRES et al., 2004), desenvolvimento e sobrevivência de afilhos (VALÉRIO et al., 2008).

Para massa de mil sementes (Tabela 4), observa-se que houve efeito significativo para doses de N e para inoculante. Para a variável em questão, no primeiro ano, independente do tipo de inoculante conjugado com 50 kg ha⁻¹ de N, assim como o inoculante líquido, apresentou resposta significativa. Neste caso, para o segundo ano, nota-se que utilizando a mesma carga de adubo, o comportamento foi significativamente ($p < 0,05$) semelhante para ambos os inoculantes.

Estes resultados reforçam o fato de que a inoculação com *Azospirillum brasilense* contribui com FBPN, quando associado a ½ dose de N, o que incrementa significativamente ($p < 0,05$) a massa de mil sementes, favorecendo as características agrônômicas da cultura do trigo. Diante do

exposto, é muito provável que o fornecimento de N contribui com o acúmulo de assimilados, sendo um dos principais fatores responsáveis pelo enchimento de grãos (SIMMONS, 1987).

Os resultados corroboram com Toledo et al. (2007), que obtiveram incrementos na massa de mil sementes a partir da testemunha até a dose de 100 kg ha⁻¹ de N em sorgo-de-guiné.

Tabela 4 – Resultados médios da massa de mil sementes em gramas, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	30,92 Cb	35,12 Ba	34,35 Ba	31,09 Ba	33,05 Ba	33,02 Ca
Meia	33,40 Bb	37,72 Aa	36,85 Aa	32,20 Bb	36,40 Aa	34,93 Ba
Cheia	35,36 Ab	38,05 Aa	38,45 Aa	34,85 Ab	37,57 Aa	38,44 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

Nakagawa et al. (2000) e Jornada et al. (2005), trabalhando com doses e as épocas de aplicação do N em cobertura, não verificaram efeito do N na massa de sementes de aveia preta e milho.

Asseng e Van Herwaarden (2003) explicam que o enchimento de grãos depende do suprimento de N e da disponibilidade hídrica durante o desenvolvimento da cultura. Seguramente a FBPN, além de disponibilizar maiores quantidades de N, pode aumentar a área fotossintética da planta e proporcionar aumento na quantidade de reservas acumuladas para a translocação no enchimento de grãos.

Os resultados referentes ao peso hectolítrico estão apresentados na Tabela 5. O peso hectolítrico para as respectivas safras variou entre 74,91 e 79,16 kg hL⁻¹. No entanto, é possível confirmar para o primeiro ano que as melhores respostas ocorreram quando se aplicou a meia dose de N, independente do tipo do inoculante. Neste caso, nota-se que o uso do inoculante turfoso ou líquido, quando associado à metade da dose de N,

apresentaram resultados comparáveis com a dose cheia de N. No segundo ano, o peso hectolítrico também foi influenciado positivamente pela aplicação de N e pela inoculação com *Azospirillum brasilense*. Entretanto, independentemente do tipo do inoculante, a meia dose de N apresentou as melhores respostas.

Tabela 5 – Resultados médios do peso hectolítrico em kg hL⁻¹, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	74,91 Bb	75,66 Bb	76,75 Ba	75,00 Ba	76,00 Ba	76,25 Ca
Meia	76,08 Ab	78,25 Aa	78,50 Aa	75,00 Bb	77,58 Aa	77,91 Ba
Cheia	76,41 Ab	78,33 Aa	78,58 Aa	77,75 Ab	78,50 Aab	79,16 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

O componente que mais influenciou no aumento do rendimento de sementes do trigo foi o peso hectolítrico. Este fato é importante, pois valores acima de 78 kg hL⁻¹ pertencem à classificação do tipo 1, o que agrega mais valor no momento de comercializar a produção.

Portanto, é provável que a adubação nitrogenada associada à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* influencia significativamente ($p < 0,05$) o peso hectolítrico, pois a falta deste nutriente pode reduzir o número de sementes por espiga e a massa de mil sementes e, conseqüentemente, o rendimento da cultura. Porém, vale considerar que o N se perde facilmente por lixiviação, volatilização e desnitrificação no sistema solo planta. Assim, torna-se necessário realizar a inoculação das sementes com bactérias diazotróficas para melhorar a eficiência de absorção da cultura em questão.

De maneira geral, o fertilizante nitrogenado utilizado não foi fator limitante para os benefícios propiciados por *Azospirillum brasilense* no peso

hectolítrico. Porém, esta variável pode ser influenciada por altas precipitações no momento da colheita, o que não ocorreu nos referidos experimentos.

Ainda, os resultados evidenciam que o aumento do peso hectolítrico, em geral, está associado à massa de sementes, que, por sua vez, provavelmente estaria associado à maior disponibilidade de N promovido pela FBPN durante o período de enchimento de grãos, promovido pelo tratamento de sementes com *Azospirillum brasilense* conjugado com meia dose de N.

Ao contrário desses resultados, Alvarenga et al. (2009), trabalhando com trigo, observaram que nas doses de N entre 90 e 120 kg ha⁻¹ não foram suficientes para alterar a produtividade das sementes, o peso hectolítrico e a massa de mil sementes. Já, Zagonel e Fernandes (2007) evidenciaram que uso de altas doses de nitrogênio pode comprometer a qualidade das sementes.

Os resultados do rendimento de sementes da cultivar de trigo CD 150 (Tabela 6) indicaram que a aplicação da dose cheia de N associado ao inoculante turfoso proporcionou rendimentos de 3.072,3 kg ha⁻¹, para o primeiro ano, quando se utilizou a dose cheia de N. Nota-se, contudo, para o tratamento de sementes com inoculante líquido associado à metade da dose de N, não diferiu significativamente da dose de 100 kg ha⁻¹ de N. Com isso, permite inferir que a inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum* spp. na dose de 100 mL 50 kg⁻¹ de sementes associado à metade da dose de N, supera a aplicação isolada de 50 kg ha⁻¹ em condições favoráveis.

Tabela 6 – Resultados médios do rendimento em kg ha⁻¹, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	1542,8 Ca	1779,3 Ba	1684,4 Ca	1792,0 Cb	2102,6 Ca	2126,0 Ca
Meia	2037,1 Bb	2522,8 Aa	2610,0 Ba	2147,0 Bb	2603,6 Ba	2752,8 Ba
Cheia	2435,5 Ab	2615,7 Ab	3072,3 Aa	2421,5 Ab	3082,2 Aa	3178,4 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

Os referidos tratamentos foram efetivos em aumentar a produtividade utilizando o mesmo nível de adubação nitrogenada, que possibilitou incrementos no rendimento na ordem de 20% superior à aplicação de nitrogênio sem a inoculação das sementes.

Para o segundo ano, a inoculação das sementes de trigo com o inoculante turfoso, associado à dose cheia de N, quando comparado com a mesma dose de nitrogênio, porém, sem a inoculação, obteve acréscimos de 756,9 kg ha⁻¹. Estes acréscimos podem ser atribuídos ao favorecimento dos componentes de rendimento proporcionado pela FBPN. Entretanto, vale destacar que os resultados podem ser influenciados por sistemas em que se almejam altas produtividades pelas condições de solo, ambiente e genótipos.

Os resultados supracitados corroboram Zorita et al. (2008) e Piccinin et al. (2011), que após inocular *Azospirillum brasilense* nas sementes de trigo, obtiveram incrementos expressivos no rendimento. Assim como Hungria (2011) observou aumento médio de 26% no rendimento de milho e de 31% para trigo.

De acordo com Dobbelaere et al. (2003) para milho e Santa et al. (2008) para trigo, o incremento no rendimento está diretamente ligado à contribuição da FBN pela associação de bactérias do gênero *Azospirillum* ssp. associado a doses de N. Assim como Zagonel et al. (2002), Heinemann et al. (2006) também verificaram efeito positivo das doses de N no rendimento de sementes de trigo.

Braccini et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes para a cultura do milho, constatando que a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* na formula líquida promoveu aumento na altura de plantas e no rendimento de grãos, em comparação com o tratamento controle. Com isso, comprovam a hipótese de que as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 são eficazes na FBPN, quando a inoculação das sementes é realizada de maneira adequada e racional, podendo diminuir a aplicação de adubo nitrogenado na cultura do trigo em 50%, levando a economia de insumos e mão de obra na aplicação.

4.3 Qualidade fisiológica das sementes

Com condições climáticas favoráveis durante o período final da maturação fisiológica do trigo, as sementes estavam em circunstâncias normais. Porém, com as condições de campo quente e seco no final do mês de agosto (Figura 1), a secagem das sementes ocorreu de forma rápida, não apresentando problema com a germinação na espiga e queda de peso hectolítrico.

Em relação às variáveis analisadas, houve efeito significativo para aplicação de N e inoculação das sementes, exceto para o biorregulador (Apêndice 3A). Portanto, realizou-se o desdobramento de segunda ordem para as referidas fontes de variação. Para o fator ano, não foram obtidas diferenças significativas a 5% de probabilidade, exceto para condutividade elétrica.

Em relação à aplicação do biorregulador Stimulate[®], o mesmo não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) para vigor e germinação das sementes de trigo. Desta forma, sob a ausência da aplicação exógena do biorregulador obtiveram-se sementes com a mesma qualidade fisiológica. Resultados semelhantes foram obtidos por Souza et al. (2010), para os quais a aplicação de retardadores de crescimento não influenciou na germinação e no vigor das sementes de trigo.

Em contrapartida, para a soja, o manejo de reguladores vegetais, além de melhorar o desempenho agrônômico, pode também propiciar a produção de sementes com diferenciado potencial fisiológico (CAMPOS et al., 2008; CAMPOS et al., 2009; ALBRECHT et al., 2010).

De acordo com os valores obtidos para primeira contagem da germinação (Tabela 7), observa-se, para o primeiro ano, que se quando aplicou a meia dose de N associado à inoculação das sementes, tanto o inoculante turfoso, quanto o inoculante líquido, proporcionaram valores significativamente iguais aqueles obtidos com aplicação da dose cheia.

Em relação o segundo ano, os resultados foram semelhantes, porém, com a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* os tratamentos proporcionaram aumento significativo no vigor das sementes de trigo.

É provável que a disponibilidade de N durante o desenvolvimento da cultura esteja relacionada com a velocidade da germinação por ser uma das

características afetadas no processo de deterioração das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Tabela 7 – Resultados médios da porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T) com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	80,37 Ba	82,50 Ba	80,95 Ba	80,62 Ba	81,58 Ba	81,54 Ba
Meia	82,91 ABb	88,70 Aa	88,04 Aa	82,91 Bb	90,20 Aa	90,58 Aa
Cheia	84,58 Ab	90,83 Aa	90,58 Aa	87,75 Aa	91,25 Aa	91,41 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste Student Newman Keuls.

Nesse sentido, fica evidente que a aplicação de N, associado à inoculação das sementes, apresenta respostas positivas favorecendo o desempenho fisiológico das sementes de trigo. No entanto, isso pode ser explicado pelo papel importante que o N desempenha durante o desenvolvimento da planta, destacando que seus efeitos variam conforme as condições do ambiente e estágio de desenvolvimento da planta em que ocorre a aplicação de N.

Resultados semelhantes foram obtidos por Abrantes et al. (2010), conduzindo estudos com painço. Os autores concluíram que a aplicação de N afetou positivamente o vigor das sementes. Farinelli et al. (2006), trabalhando com sementes de feijão, observaram que a adubação nitrogenada em cobertura promoveu acréscimos no vigor das sementes, melhorando a sua qualidade fisiológica.

Os resultados obtidos no teste de germinação (Tabela 8) em diferentes doses de N associado à inoculação das sementes, por dois anos consecutivos, indicaram que a interação entre esses fatores exerceu influência significativa na porcentagem de germinação, com valores máximos de 99,05 e 97,12%, respectivamente. Com isso, a meia dose de nitrogênio, associado à inoculação

das sementes, proporcionou o mesmo poder germinativo que a dose cheia; por isso, a inoculação pode ser uma tecnologia alternativa de cultivo para quem almeja obter sementes com maior qualidade. Do ponto de vista prático, a meia dose de N a ser aplicada viabiliza a FBPN.

Tabela 8 – Resultados médios da porcentagem de germinação das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	82,33 Ba	85,83 Ba	85,70 Ba	85,20 Ba	88,37 Ba	87,83 Ba
Meia	86,79 Ab	95,41 Aa	97,41 Aa	88,87 Ab	94,62 Aa	95,00 Aa
Cheia	89,62 Ab	97,41 Aa	99,08 Aa	91,37 Ab	97,12 Aa	96,54 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste Student Newman Keuls.

Neste aspecto, justifica-se a prática da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* associado à meia dose de N, pois este nutriente, em geral, resulta em aumento significativo no potencial fisiológico por meio de atividades enzimáticas nas sementes durante o processo de germinação, o que pode promover a maior emergência no campo e/ou diminuir o tempo de deterioração das sementes, mantendo a semente viável. Esses resultados corroboram com Oliveira et al. (2003) que, ao avaliarem o efeito da adubação nitrogenada no vigor das sementes de feijoeiro, verificaram aumento à medida que se disponibilizou N. Vieira et al. (1995), avaliando a qualidade fisiológica de sementes de trigo, observaram que a dose de 120 kg ha⁻¹ de N, em uma única aplicação proporcionou maior germinação.

Silva et al. (2001), estudando diferentes doses de N aplicados no perfilhamento e emborrachamento da cultura da aveia, observaram que a aplicação deste nutriente não contribui com a qualidade fisiológica das sementes.

O teste de frio (Tabela 9) corrobora, de modo geral, com os resultados da primeira contagem. Observa-se, tanto para o primeiro ano, quanto para o segundo ano, que os melhores resultados obtidos foram quando se aplicou a metade da dose de N associado ao tratamento de sementes com o inoculante líquido ou turfoso, independente da aplicação exógena de biorregulador; assim, proporcionou de maneira significativa acréscimos de 6% no vigor. Por outro lado, é importante ressaltar que, quando se aplicou 100% do N, em geral, não houve efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense*.

O acréscimo no vigor oriundo da meia dose de N é, provavelmente, consequência da eficiência da inoculação com *Azospirillum brasilense* independente do tipo do inoculante. Portanto, este manejo alternativo pode proporcionar ganhos satisfatórios na qualidade fisiológica das sementes. Assim, essas informações se projetam para a redução no uso de fertilizantes nitrogenados, podendo minimizar os custos de produção da referida cultura, contribuindo para a redução da poluição ambiental. Resultados por Curá et al. (2005) evidenciaram que o *Azospirillum ssp.* libera fitormônios que controlam o crescimento de patógenos na rizosfera e fixam nitrogênio atmosférico transformando o N em amônia facilmente assimilável.

Tabela 9 – Resultados médios da porcentagem das plântulas normais no teste de frio, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	80,58 Bb	84,33 Bab	86,54 Ba	81,91 Ba	83,29 Ba	84,54 Ba
Meia	85,08 ABb	92,00 Aa	92,37 Aa	85,45 ABb	91,37 Aa	91,33 Aa
Cheia	89,45 Aa	94,79 Aa	94,70 Aa	90,83 Aa	94,29 Aa	95,08 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste Student Newman Keuls.

Portanto, uma das prováveis explicações para as diferenças encontradas entre os anos para o vigor das sementes, pode ser pela variações climáticas, principalmente temperaturas altas e elevada precipitação ocorridas

próximo ao período de colheita. Resultados discrepantes entre anos foram encontrados por Braccini et al. (2003), Albrecht et al. (2008) e Viganó et al. (2010).

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados do teste de envelhecimento acelerado. Neste contexto, analisando-se o potencial fisiológico das sementes produzidas no primeiro ano, verifica-se que as doses de N influenciam significativamente ($p < 0,05$) o vigor das sementes.

Entretanto, numa análise geral, observa-se que as sementes, produzidas na presença do inoculante turfoso, apresentaram acréscimos de 6% no vigor das sementes, quando comparado com apenas a metade da adubação nitrogenada.

Para o segundo ano, observa-se que entre as doses meia e cheia de N, não houve variação significativa na porcentagem de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado, exceto para a ausência do inoculante, que não apresentaram acréscimos significativos entre as doses de N.

Tabela 10 – Resultados médios da porcentagem de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	78,33 Ba	80,75 Ba	82,08 Ba	79,50 Ba	81,45 Ba	81,25 Ba
Meia	82,25 ABb	88,29 Aa	89,62 Aa	83,05 ABb	89,12 Aa	88,85 Aa
Cheia	86,33 Aa	90,54 Aa	91,12 Aa	87,62 Aa	90,01 Aa	90,29 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste Student Newman Keuls.

Carvalho e Nakagawa (2000) obtiveram relações positivas no vigor das sementes de trigo sob as diferentes doses de N. Em sorgo-de-guiné, a dose de 100 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura resultou em sementes de melhor qualidade fisiológica (TOLEDO et al., 2007).

Na Tabela 11 encontram-se os resultados do teste de condutividade elétrica. Neste momento, é importante salientar, para o primeiro ano, a observação de que, a aplicação da metade da dose de N, associado à inoculação das sementes, apresentou resposta semelhante à dose cheia de N.

Tabela 11 – Resultados médios da condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha^{-1})	2010			2011		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	37,45 Ba	36,60 Ba	36,32 Ba	35,78 Ca	34,91 Ba	34,55 Ba
Meia	34,85 Ab	31,83 Aa	31,46 Aa	31,98 Bb	29,20 Aa	29,36 Aa
Cheia	37,45 Ab	31,23 Aa	30,89 Aa	29,77 Aa	28,18 Aa	28,73 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste Student Newman Keuls.

Para o segundo ano, sem influência da inoculação, as doses de N apresentaram, de maneira significativa, respostas diferenciadas no vigor das sementes. De outra forma, quando foi realizado o tratamento de sementes, a meia dose de N, apresentou respostas semelhantes ao ano anterior. Desta maneira, hipoteticamente, é possível afirmar que a inoculação das sementes associada à meia dose de N, proporciona modificações significativas nas sementes capazes de propiciar a lixiviação de eletrólitos pela maior disponibilidade de N proporcionado pela FBPN.

Resultados contrários foram encontrados por Crusciol et al. (2003) e Farinelli et al. (2006) que não obtiveram diferenças expressivas em relação ao efeito do N no teste de condutividade elétrica em sementes de feijão. Todavia, Nakagawa et al. (2000), estudando o efeito do mesmo nutriente na condutividade elétrica de aveia preta, verificaram efeito significativo com redução da condutividade elétrica até a dose de 40 kg ha^{-1} de N.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, observa-se que a produção de sementes com maior vigor é possível, utilizando-se doses

reduzidas de N associada à inoculação com *Azospirillum brasilense*, disponibilizando-se uma tecnologia alternativa para a cultura do trigo. No entanto, em média, os valores obtidos nos referidos de testes de vigor e germinação podem classificar a produção de sementes de trigo na região de Maringá como adequada para comercialização, pois, para a produção de sementes de primeira geração a porcentagem mínima exigida é de 80% de germinação (MAPA, 2011).

4.4 Teores de proteínas e nitrogênio nas sementes

Na Tabela 12 estão apresentados os resultados dos teores médios de proteínas das sementes em diferentes doses de N, associado à inoculação e aplicação do biorregulador, em duas safras. Nota-se, no primeiro ano, independente da aplicação do biorregulador, que o uso da dose cheia de N, conjugado com o inoculante turfoso, proporcionou maiores incrementos significativos nos teores de proteínas, possibilitando acréscimos significativos de 24,26 e 24,15%, respectivamente.

Tabela 12 – Resultados médios dos teores de proteínas das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Sem biorregulador			Com biorregulador		
	S.I	I.L	I.T	S.I	I.L	I.T
Zero	17,74 Cb	18,94 Ca	18,62 Ca	18,96 Cb	18,81 Cb	19,86 Ca
Meia	20,67 Bb	21,17 Bb	22,03 Ba	21,73 Bb	22,17 Bb	23,17 Ba
Cheia	22,81 Ab	22,75 Ab	24,26 Aa	22,92 Ab	23,76 Aa	24,15 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

Diante deste cenário, cabe salientar que o fornecimento de N em quantidades adequadas na fase vegetativa, além de contribuir com o rendimento, influencia na porcentagem de proteínas nas sementes,

proporcionando acréscimos das doses de N, associado à inoculação com *Azospirillum brasilense*. Além disso, os resultados podem estar relacionados diretamente com vários processos complexos envolvendo o uso deste nutriente, tais como: absorção, assimilação e retranslocação do N pela planta, os quais permitiram que ocorresse relação direta entre os teores de proteínas acumulados nas sementes com as referidas doses aplicadas.

Por sua vez, Stewart (2003) afirma que o N está relacionado principalmente com a síntese de proteínas nas sementes e melhora substancialmente a qualidade industrial da farinha, sendo de grande interesse para indústrias alimentícias.

Toledo et al. (2007) obtiveram incrementos nos teores de proteínas nas sementes com acréscimo da dose de nitrogênio, porém, ressaltam que não houve correlação do nível de proteína com germinação e vigor. Esse comportamento foi semelhante aos resultados obtidos neste trabalho, corroborando com Amaral Filho et al. (2005) para milho e Ohm (1976) para aveia-branca.

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados do desdobramento do biorregulador dentro de doses e inoculantes para variável teor de proteína. No primeiro ano, observa-se que a aplicação do bioestimulante proporcionou, de maneira significativa ($p < 0,05$), acréscimos de 1,11% no teor de proteína. Portanto, fica evidente que a aplicação conjunta de reguladores vegetais sintéticos como o Stimulate[®] proporciona incrementos na quantidade de proteínas nas sementes, em relação à ausência do produto.

Supostamente, este incremento proteico pode estar relacionado com o equilíbrio hormonal proporcionado pelo biorregulador. Segundo Albrecht et al. (2010), os biorreguladores podem contribuir com adequado balanço hormonal e criar condições para a produção adequada de compostos primários e secundários, o que poder estar relacionado com maior síntese de proteínas nas sementes. No entanto, é provável que os resultados estejam relacionados com a maior absorção do N proporcionado pelo crescimento do sistema radicular, pela maior disponibilidade de N no solo, promovido pelo balanço hormonal fornecido pela aplicação do biorregulador no início do perfilhamento. Esta condição, pode promover alterações fisiológicas com efeitos ainda não esclarecidos no desenvolvimento da planta. Essa premissa já foi verificada por

Espindula et al. (2010b) em sementes de trigo e constataram que os teores de N total, nas sementes, aumentou linearmente, com o acréscimo das doses de sulfato de amônio.

Saikia et al. (2007) observaram que plantas inoculadas com *Azospirillum* ssp., apresentaram maior taxa de fotossíntese e maior condutância estomática, resultando em maior rendimento de sementes em comparação com às plantas não-inoculadas, assim como o teor de nutrientes nas sementes foi maior em plantas inoculadas.

Tabela 13 – Resultados médios dos teores de proteínas das sementes de trigo, em efeito do tratamento de sementes com diferentes doses de nitrogênio, sem biorregulador (S.B) e com biorregulador (C.B), (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Sem inoculante		Inoculante líquido		Inoculante turfoso	
	S.B	C.B	S.B	C.B	S.B	C.B
Zero	17,74 b	18,96 a	18,94 a	18,81 a	18,62 b	19,86 a
Meia	20,67 b	21,73 a	21,17 b	22,17 a	22,03 b	23,17 a
Cheia	22,81 a	22,92 a	22,72 b	23,76 a	24,26 a	24,15 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste “F”.

Na avaliação dos teores de N sob efeito do tratamento de sementes com diferentes inoculantes, associado à aplicação do biorregulador (Tabela 14), não obteve diferença significava ($p > 0,05$) para biorregulador, exceto na ausência do inoculante em 2010. Além disso, constata-se que, com aplicação do biorregulador, não houve influencia significativa para inoculantes.

Tal fato permite inferir que a maior disponibilidade de N, desempenha efeito direto no teor de proteínas nas sementes, por serem constituintes de aminoácidos e estarem em maior quantidade contida no embrião das sementes.

Tabela 14 – Resultados médios dos teores de nitrogênio nas sementes de trigo, sob efeito do tratamento de sementes sem inoculante (S.I), inoculante líquido (I.L) e inoculante turfoso (I.T), com diferentes doses de nitrogênio, associado à aplicação do biorregulador, (Maringá – PR, 2010/2011).

Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Sem inoculante		Inoculante líquido		Inoculante turfoso	
	S.B	C.B	S.B	C.B	S.B	C.B
2010	3,28 Ab	3,42 Aa	3,47 Aa	3,51 Aa	3,47 Aa	3,52 Aa
2011	3,29 Aa	3,31 Aa	3,47 Aa	3,43 Aa	3,47 Aa	3,52 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Student Newman Keuls.

Santa et al. (2008) justificam que a inoculação com *Azospirillum brasilense* não incrementou o nitrogênio total dos grãos de aveia, porém, para as sementes de trigo a inoculação pode incrementar o teor de N.

De acordo com Mengel e Kirkby (1982), para trigo e centeio o incremento no conteúdo protéico, proporcionado pelo acúmulo de N nas sementes, está acompanhado por redução na proporção de aminoácidos lisina e metionina, elementos necessários para formação de nucleosídeos de fosfato e aminoácidos, que compõem a estrutura dos ácidos nucléicos e das proteínas.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os dois ensaios, é possível concluir que:

o *Azospirillum brasilense* é uma alternativa tecnológica capaz de realizar a fixação biológica parcial do nitrogênio suplementado por adubações nitrogenadas;

a aplicação de meia dose de nitrogênio, associada ao uso de diferentes formas do inoculante, propicia resultados positivos no desempenho agrônomo e no rendimento da cultura do trigo;

doses de nitrogênio, conjugadas à inoculação, independente do veículo líquido ou turfoso, proporcionam acréscimos na qualidade fisiológica das sementes de trigo;

a dose de 250 mL ha⁻¹ do biorregulador não incrementa a qualidade das sementes, quando aplicado no início do perfilhamento, porém favorece o aumento no teor proteico das sementes.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES, F. L.; KULCZYNSKI, S. M.; SORATTO, R. P.; BARBOSA, M. M. M. Nitrogênio em cobertura e qualidade fisiológica e sanitária de sementes de painço (*Panicum miliaceum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 106-115, 2010.
- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; AGUIAR, C. G.; ÁVILA, M. R.; STULP, M. Qualidade fisiológica e sanitária das sementes sob semeadura antecipada da soja. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 4, p. 445-454, 2008.
- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; ÁVILA, M. R.; BARBOSA, M. C.; RICCI, T. T.; ALBRECHT, A. J. P. Aplicação de biorregulador na produtividade do algodoeiro e qualidade de fibra. **Scientia Agraria**, v. 10, n. 3, p. 191-198, 2009.
- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, A. J. P.; BARBOSA, M. C. Qualidade das sementes de soja produzidas sob manejo com biorregulador. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 39-48, 2010.
- ALLEONI, B.; BOSQUEIRO, M.; ROSSI, M. Efeito dos reguladores vegetais de Stimulate[®] no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 6, n. 1, p. 23-35, 2000.
- ALMEIDA, M. L. de.; MUNDSTOCK, C. M.; SANGOI, L. Evocação de afilhos pela qualidade da luz em plantas de trigo cultivadas em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n.1, p. 25-36, 2000.
- ALVARENGA, C. B.; SOBRINHO, J. S.; BUENO, M. R.; GONÇALVES, M. V. Avaliação de quatro densidades de semeadura e duas doses de nitrogênio no comportamento do trigo irrigado sob bioma cerrado em sistema de semeadura direta no município de perdizes Minas Gerais. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 5, p. 15-20, 2009.
- AMARAL FILHO, J. P. R. do.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J. C. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 467-473, 2005.
- ANTONYUK, L. P.; EVSEEVA, N. V. Wheat lectin as a factor in plant-microbial communication and a stress response protein. **Microbiology**, v. 75, p. 470-476, 2006.

AOAC - Association of Official Analytical Chemist. **Official methods of the Association of Official Analytical Chemist**. 15. ed. Washington, D.C.: AOAC. 1990. v. 1, p. 209-230.

ASSENG, S.; HERWAARDEN, A. F. V.; Analysis of the benefits to wheat yield from assimilates stored prior to grain filling in a range of environments. **Plant and Soil**, v. 256, n. 1, p. 217-229, 2003.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; TONIN, T. A.; STÜLP. Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 6, p. 567-691, 2008.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 911-922, 1998.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4. Ed. Jaboticabal: Funep, 2008. 237 p.

BARBIERI, P.; GALLI, E. Effect on wheat root development of inoculation with an *Azospirillum brasilense* mutant with altered indole-3-acetic acid production. **Research in Microbiology**, v. 44, p. 69-75, 1993.

BARBIERI, P.; ZANELLI, T.; GALLI, E.; ZANETTI, G. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiology Letters**, v. 36, p. 87-90, 1986.

BARBOSA FILHO, M. P.; FAGERIA, N. K.; SILVA, O. F. Fontes e métodos de aplicação de nitrogênio em feijoeiro Irrigado submetido a três níveis de acidez do solo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 785-792, 2004.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 103-121, 1997.

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

BASHAN, Y.; SINGH, M.; LEVANONY, H. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 2429-2424, 1989.

BERTI, M.; ZAGONEL, J.; FERNANDES, E. C. Produtividade de cultivares de trigo em função do trinexapac-ethyl e doses de nitrogênio. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 2, p. 127-134, 2007.

- BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation in sugar cane: a key to energetically viable biofuel production. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 14, p. 263-279, 1995.
- BOUTON, J. H.; ALBRECHT, S. L.; ZUBERER, D. A. Screening and selection of pearl millet for root associated bacterial nitrogen fixation. **Field Crops Research**, v. 11, p. 131-139, 1985.
- BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M. C.; ORTIZ, A. H. T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. *Revista Caatinga*, v. 25, n. 2, 2012.
- BRACCINI, A. L.; MOTTA, I. S.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, M. C. L.; ÁVILA, M. R.; SCHUAB, S. R. P. Semeadura da soja no período de safrinha: potencial fisiológico e sanidade das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 76-86, 2003.
- BRAMMER, S. P. **Marcadores moleculares**: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000.
- 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, 2009. 395 p.
- BULL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: YAMADA, T. *Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 63-145.
- CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; BOARO, C. S. F.; RODRIGUES, J. D. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguladoras. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 3, p. 53-63, 2008.
- CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Desenvolvimento da parte aérea de plantas de soja em função de reguladores vegetais. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p. 74-79, 2009.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.
- CAO, W.; MOSS, D. N. Daylength effect on leaf emergence and phyllochron in wheat and barley. **Crop Science**, v. 29, n. 4, p. 1021-1025, 1989.
- CARVALHO, M. A. C.; FURLANI, E. J.; ARF, O.; SÁ, M. E.; PAULINO, H. B.; BUZETTI, S. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio e teores foliares deste nutriente e de clorofila em feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 3, p. 445-450, 2003.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Asociación Argentina de Microbiología**, 2008. 268 p.

CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: Esalq/USP, 2006.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R.; PERES, L. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Livrocere, 2005. 650 p.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F (Coord.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

CATO, S. C. **Ação de bioestimulante nas culturas do amendoizeiro, sorgo e trigo e interações hormonais entre auxinas, citocininas e giberelinas**. 2006. 73 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

CAZETTA, D. A.; FORNASIERI, D.; ARF, O. Resposta de cultivares de trigo e triticale ao nitrogênio no sistema de plantio direto. **Científica**, v. 35, p. 155-165, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, segundo levantamento**. Safra 2011/2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_11_09_11_49_48_bo letim_2o_levantamento_safra_2011_12.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2011.

CRUSCIOL, C. A. C.; LIMA, E. D.; ANDREOTTI, M.; NAKAGAWA, J.; LEMOS, L. B.; MARUBAYASHI, O. M. Efeito do nitrogênio sobre a qualidade fisiológica, produtividade e características de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p.108-115, 2003.

CURÁ, J. A.; RIBAUDO, C. M.; GAETANO, A. M.; GHIGLIONE, H.O. Utilidad de lãs bacterias promotoras Del crecimiento fijadoras de nitrógeno em el cultivo del arroz durante lãs primeras etapas de desarrollo. **Foro**, p. 10-12, 2005.

DARIO, G. J. A.; MARTIN, T. N.; DOURADO NETO, D.; MANFRON, P. A.; BONNECARRERE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Influência do uso de fitorreguladores no crescimento da soja. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 12, n. 1, p. 63-70, 2005.

DEFAVARI, D.; MORAES, L. A. Fisiologia da floração. In: CASTRO, P. R. C.; SENA, J. O. A.; KLUGE, R. A. (Org.). **Introdução a fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, p. 191-210, 2002.

DEKHIL, S. B.; CAHILL, M.; STACKBRANDT, E.; SLY, L. I. Transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *Largomobilis* to the genus *Azospirillum* as ***Azospirillum largomobile*** comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *Parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. **Systems Applied to Microbiology**, v. 20, p. 72-77, 1997.

DIDONET, A. D.; LIMA, O. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

DIDONET, A. D. Revisão sobre aspectos fisiológicos envolvendo qualidade e teor protéico do grão de trigo. In: SÁ, M. E.; BUZZETTI, S. (Ed.). **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas**. São Paulo: Ícone, 1994. cap.15, p. 249-255.

DIDONET, C. C. G. M. Bactérias diazotróficas: isolamento, diversidade e caracterização em plantas do arroz no cerrado. Anapolis: UnU CET, 2007. 20 p.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* na *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.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs en the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. History and new perspective of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v. 13, n.1, p. 1-13, 1992.

DOMMELEN, A. V.; CROONENBORGHS, A.; SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. Wheat growth promotion through inoculation with an Ammonium-excreting mutant of *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 45, n. 5, p. 549-553, 2009.

DOORENBOS, J.; KASSAN, A. H. Yield response to water. Rome: FAO, 1979. 193p.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JUNIOR, P. A.; MANFRON, P. A.; MARTIN, T. N.; GARCIA, R. A. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2004.

ECKERT, B.; WEBER, O. B.; KI HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 17-26, 2001.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Avaliação de Linhagens de Arroz de Terras Altas Inoculadas com *Azospirillum lipoferum* Sp59b e *A. brasilense* Sp245. **Comunicado Técnico 69**. Santo Antonio de Goiás, 2003.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**, 2. ed. Rio de Janeiro: CNPS, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Informações técnicas para a safra 2009: trigo e triticale. Organizado por José Roberto Salvadori ... [et al.]. **Passo Fundo: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale**; Embrapa Trigo; Embrapa Transferência de Tecnologia, 2008. 172 p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Seropédica**: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.

ERNANI, P. R. Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para macieira. **Lages**: Graphel, 2003. 76 p.

ESPINDULA, M. C.; ROCHA, V. S.; SOUZA, L. T.; SOUZA, M. A.; GROSSI, J. A. S. Efeitos de reguladores de crescimento na elongação do colmo de trigo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 109-116, 2010a.

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

FAQUIM, V.; ANDRADE, A. T. Nutrição mineral e diagnose do estado nutricional das hortaliças. **Lavras**: UFLA/FAEPE, 2004. 88 p.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão em função de sistemas de manejo de solo e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 102-109, 2006.

FAVER, K. L.; GERIK, T. J.; THAXTON, P. M.; ELZIK, K. M. Late season water stress in cotton: Leaf gas exchange and assimilation capacity. **Crop Science**, v. 36, p. 922-928, 1996.

- FISCHER, R. A. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. **Journal of Agricultural Science**, v. 105, p. 447-461, 1985.
- FLOOD, R. G.; HALLORAN, G. M. Genetics and physiology of vernalization response in wheat, **Advances in Agronomy**, v. 39, p. 87125, 1986.
- FLOSS, E. L. **Fisiologia das plantas cultivadas**: o estudo do que está por trás do que se vê. 3. ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2006.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do trigo**. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 338 p.
- FOWLER, J. A. P. Superação de dormência e armazenamento de sementes de espécies florestais. In: Galvão, A. P. M. Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais. Brasília: **Embrapa**, 2000. 351 p.
- FRANCESCHI, L.; BENING, G.; GUARIENTI, E.; MARCHIORO, S.; MARTIN, T. N. Fatores pré-colheita que afetam a qualidade tecnológica de trigo. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p.1624-1631, 2009.
- FRANCO, F. A.; PINTO, R. J. B.; SCAPIM, C. A.; SHUSTER, I.; PREDEBON, C. T.; MARCHIORO, V. S. Tolerância à germinação na espiga em cultivares de trigo colhido na maturação fisiológica. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2396-2409, 2009.
- FRANKENBERGER W. T.; ARSHAD M. **Phytohormones in Soils**. Marcel Dekker, Inc.: Hong Kong: Basel, 1995.
- FREEZE, D. M.; BACON, R. K. Row-spacing and seeding rate effects on wheat yields in the Mid-South. **Journal of Production Agriculture**, v. 3, p. 345-348, 1990.
- GARCIA, M. U.; HUBBELL, D. H.; GASKINS, M. H.; DAZZO, F. G. Association of *Azospirillum* with grass roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 39, p. 219-226, 1980.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: ESALQ, 2000. 477 p.
- GONZÁLEZ, F. G; SLAFER, G. A; MIRALLES, D. J. Grain and floret number in response to photoperiod during stem elongation in fully and slightly vernalized wheats. **Field Crops Research**, v. 81, n. 1, p. 17-27, 2003.
- HARDING, S. A.; GUIKEMA, J. A.; PAULSEB, G. M. Photosynthetic decline from high temperature stress during maturation of wheat. II. Interaction with Source and Sink Processes. **Plant Physiology**, v. 92, n. 3, p. 654-658, 1990.

HECKMAN, N. L.; ELTHON, T. E.; HORST, G. L.; GAUSSOIN, R. E. Influence of trinexapac-ethyl on respiration of isolated wheat mitochondria. **Crop Science**, v. 42, n. 2, p. 423-427, 2002.

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

HOLEN, D. L.; BRUCKNER, P. L.; MARTIN, J. M.; CARLSON, G. R.; WICHMAN, D. M.; BERG, J. E. Response of winter wheat to simulated stand reduction. **Agronomy Journal**, v. 93, p. 364-370, 2001.

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, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

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

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. **Informações técnicas para a cultura do trigo no Paraná – 2004**. Londrina, 2004. 218 p. (IAPAR. Documento, 1).

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. **Cartas climáticas básicas do Estado do Paraná**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1987. 35 p.

Informações Técnicas para Trigo e Triticale. **IV Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale**. Cascavel, 2010. 171 p.

JORNADA, J. B. J.; MEDEIROS, R. B.; PEDROSO, C. E. S.; SAIBRO, J. C.; SILVA, M. A. Efeito da irrigação, épocas de corte da forragem e doses de nitrogênio sobre o rendimento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 50-58, 2005.

KHAMMAS, K. M.; AGERON, E.; GRIMONT, P. A. D.; KAISER, P. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and **Research in Microbiology**, v. 140, p. 679-694, 1989.

KIRBY, E. J. M. Co-ordination of leaf emergence and leaf and spikelet primordium initiation in wheat. **Field Crops Research**, v. 25, n. 1-2, p. 235-264, 1990.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; Robinson L. C., BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.

KLOEPPER, J. W.; RODRIGUEZ-UBANA, R.; ZEHNDER, G. W.; MURPHY, J. F.; SIKORA, E.; FERNÁNDEZ, C. Plant root-bacterial interactions in biological

control of soil Borne diseases and potencial extension to systemic and foliar diseases. **Australian Plant Pathology**, v. 28, p. 21-26. 1999.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes**. Conceitos e testes. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Comitê de vigor de sementes. Londrina: ABRATES1999. 218 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000.

LAUER, J. G.; SIMMONS, S. R. Photoassimilate partitioning by tillers and individual tiller leaves in field-grown spring barley. **Crop Science**, v. 28, p. 279-282, 1988.

LAVRINENKO K.; CHERNOUSOVA, E.; GRIDNEVA, E.; DUBININA, G.; AKIMOV, V.; KUEVER, J.; LYSENKO, A.; GRABOVICH, M. *Azospirillum thiophilum* sp. nov., a novel diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 2832-2833, 2010.

LEYSER, O. Dynamic integration of auxin transport and signalling. **Current Biology**, v. 16, n. 1, p. 424-433, 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.

LIN, C. Y.; YOUNG, C. C.; HUPFER, H.; SIERING, C.; ARUN, A. B.; CHEN, W. M.; LAI, W. A.; SHEN, F. T.; REKHA, P. D.; YASSIN, A. F. *Azospirillum picis* sp. nov., isolated from discarded tar. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, p. 761-765, 2009.

MAGALHÃES, F. M. M. & DÖBEREINER, J. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **R. Microbiologia**, v. 15, p. 246-252, 1984.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1975. 528 p.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 25, de 16 de dezembro de 2005. Anexo XII - **Padrões para produção e comercialização de sementes de trigo e de trigo duro**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=10813>>. Acesso em: 15 nov. 2011.

MARCANDALLI, L. H.; LAZARINI, E.; MALASPINA, I. C.; Épocas de aplicação de dessecantes na cultura da soja: qualidade fisiológica das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 241-250, 2011.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 320 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v.12. 495 p.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal**: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa: Editora UFV, 2005. 451 p.

McDONALD, M. B. Improving our understanding of vegetable and flower seed quality. **Seed Technology**, v. 20, n.2, p. 121-124, 1998.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. Principles of plant nutrition. 3 ed. Bern: **Internacional Potash Institute**, 1982. p. 237-297.

MEGDA, M. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. M. C.; VIEIRA, M. X. Resposta de cultivares de trigo ao nitrogênio em relação às fontes e épocas de aplicação sob plantio direto e irrigação por aspersão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1055-1060, 2009.

MEHNAZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 620-624, 2007.

MEIRELES, R. C.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, E. F. REIS, L. S.; LYRA, G. B.; MARINHO, A. B. Influência do nitrogênio e das lâminas de irrigação na qualidade fisiológica das sementes de mamoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 216-221, 2009.

MICHIELS, K.; CROES, C. L.; VANDERLEYDEN, J. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasiliense* Sp7 to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, v. 137, p. 2241-2246, 1991.

MIRALLES, D. J. Consideraciones sobre ecofisiología y manejo de trigo. **Información técnica de trigo**. 2004. Publicación Miscelânea, n. 101, 2004.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.

MOSSAD, M.; ORTIZ, G. F.; MAHALAKSHMI, V.; FISCHER, R. A. Phyllochron response to vernalization and photoperiod in spring wheat. **Crop Science**, v. 35, p. 168-171, 1995.

MOTERLE, L. M.; SANTOS, R. F.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; BARBOSA, M. C. Efeito da aplicação de biorregulador no desempenho agrônomo e produtividade da soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, supl. Esp., p. 701-709, 2008.

MUNDSTOCK, C. M.; BREDEMEIER, C. Dinâmica do afilhamento afetada pela disponibilidade de nitrogênio e sua influência na produção de espigas e grãos em trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 62, n. 1, p. 141-149, 2002.

MUNDSTOCK, C. M. **Planejamento e manejo integrado da lavoura de trigo**. Porto Alegre: Evangraf, 1999. 228 p.

NAKADA, P. G.; OLIVEIRA, J. A.; MELO, L. C.; GOMES, L. A. A.; PINHO, E. V. R. V. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos referentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 1, p. 113-122, 2011.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; MACHADO, J. R. Adubação nitrogenada no perfilhamento da aveia preta em duas condições de fertilidade do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1071-1080, 2000.

OHLSON, O. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010.

OHM, H. W. Response of 21 oat cultivars to nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, v. 68, n. 5, p. 773-775, 1976.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 7, p. 366-370, 1997.

OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA, E. L.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, E. U.; COSTA, R. F.; LEAL, F. R. Produção e qualidade fisiológica de sementes de feijão-vagem em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 49-55, 2003.

OSAKI, F. **Calagem e adubação**. Campinas: Instituto Brasileiro de Ensino Agrícola, 1991. 503 p.

OZTURK, A.; CAGLAR, O.; BULUT, S. Growth and yield response of facultative wheat to winter sowing, freezing sowing and spring sowing at different seeding rates. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 192, p. 10-16, 2006.

PANG, X. P.; LETEY, J. Organic farming: challenge of timing nitrogen availability to crop nitrogen requirements. **Soil Science Society of America Journal**, v. 64, p. 247-253, 2000.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil Microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. 275 p.

PENCKOWSKI, L. H. Utilizando regulador de crescimento na cultura do trigo: aspectos importantes para garantir bons resultados. Castro: **Fundação ABC**, 2009. 56 p.

PENG, G.; WANG, H.; ZHANG, G.; HOU, W.; LIU, Y.; WANG, E. T.; TAN, Z. *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n. 56, p. 1263-1271, 2006.

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**, v. 75, p. 1143-1150, 2007.

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

PIRES, J. L. F.; LIMA, M. I. P. M.; VOSS, M.; SHEEREN, P. L.; WIETHÖLTER, S.; CUNHA, G. R.; IGNACZAK, J. C.; CAIERÃO, E. **Avaliação de cultivares de trigo em sistema de manejo tradicional e otimizado, Passo Fundo, 2004**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. 26 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. 2a ed. Brasília,1985. 289 p.

PLAUT, Z.; BUTOW, B. J.; BLUMENTHAL, C.S.; WRIGLEY, C.W. Transport of dry matter into developing wheat kernels and its contribution to grain yield under post-anthesis water deficit and elevated temperature. **Field Crops Research**, v. 86, n. 23, p. 185-184, 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais. In: RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. (Ed.). **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 646-675.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; POT, B.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; THIELEMANS, S.; LEY, J. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 43-51, 1987.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Life in grasses: diazotrophic endophytes. **Trends in Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 139-144, 1998.

REIS JÚNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552-555, 2004.

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

SAIKIA, S. P.; JAIN, V.; SANGEETA, K.; SAMITHA, A. Dinitrogen fixation activity of *Azospirillum brasilense* in maize (*Zea mays*). **Current Science**, v. 93, p. 1296-1300, 2007.

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**, v. 42, n. 6, p. 833-842, 2007.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, v. 21, p. 193-196, 1996.

SANTA, O. R. D.; HERNADEZ, R. F.; ALVAREZ, G. L. M.; RONZELLI, P.; SOCCOL, C. R. *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 47, n. 6, p. 843-850, 2004.

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. **Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 4, n. 2, 2008.

SANTOS, V. D.; MELGES, E.; BONATO, C. M.; RUBIN FILHO, C. J. **Introdução ao estudo do crescimento e desenvolvimento vegetal**. Maringá: UEM, 2000. (Apostila).

SANTOS, C. H.; DOMINGUES, C. S. Mecanismo de ação de auxinas. In: CASTRO, P. R. C.; SENA, J. O. A.; KLUGE, R. A. (Org.). **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, 2002. p. 35-48.

SANTOS, C. M. G.; VIEIRA, E. L. Efeito de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento inicial do algodoeiro. **Magistra**, v. 17, n. 3, p. 124-130, 2005.

SCALCO, M. S.; FARIA, M. A.; GERMANI, R.; MORAIS, A. R. de. Produtividade e qualidade industrial do trigo sob diferentes níveis de irrigação e adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 2, p. 400-410, 2002.

SCHEEREN, P. L.; CUNHA, G. R.; QUADROS, F. J. S. de; MARTINS, L. F. **Efeito do frio em trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 2p. html. 2 ilustr.. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co57.htm>. Acesso em: 07 jun 2011. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 57).

SHAH, N. H.; PAULSEN, G. M. Interaction of drought and high temperature on photosynthesis and grain-filling of wheat. **Plant and Soil**, v. 257, p. 219-226, 2003.

SILVA, S. A.; CARVALHO, F. I. F.; NEDEL, J. L. VASCOCELLOS, N. J. S.; CRUZ, P. J.; SIMIONI, D.; SIOLVA, J. A. G. Composição de subunidades de

gluteninas de alto peso molecular (HMW) em trigos portadores do caráter "stay-green". **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 679-683, 2004.

SILVA, R. H.; ZUCARELI, C.; NAKAGAWA, J.; SILVA, R. A.; CAVARIANI, C. Doses e épocas de aplicação do nitrogênio na produção e qualidade de sementes de aveia-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 51-55, 2001.

SIMMONS, R. S. Growth, development, and physiology. In: HEYNE, E.G. (Ed.). **Wheat and heat improvement**. 1987. p. 77-113.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

SOUZA, M. A.; RAMALHO, M. A. P. Controle genético e tolerância ao estresse de calor em populações híbridas e em cultivares de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 10, p. 1245-1253, 2001.

SOUZA, L. T.; ESPÍNDULA, M. C.; ROCHA, V. S.; DIAS, D. C. F.; SOUZA, M. A. Redutores de crescimento em plantas de trigo e seus efeitos na qualidade fisiológica de sementes. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1431-1434, 2010.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.

STRECK, N. A.; WEISS, A.; BAENZIGER, P. S. A generalized vernalization response function for winter wheat. **Agronomy Journal**, v. 95, n. 1, p. 155-159, 2003a.

STRECK, N. A.; WEISS, A.; XUE, Q.; BAENZIGER, P.S. Incorporating a chronology response function into the prediction of leaf appearance rate in winter wheat. **Annals of Botany**, v. 92, n. 2, p. 181-190, 2003b.

STEWART, W. M. Fertilizer for better bread. **Better Crops**, v. 87, n. 2, p. 15-17, 2003.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v.149, p. 55-60, 1994.

SWEDRZYNSKA, D. Effect of Inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of winter wheat and oat under different cultivation conditions. **Polish Journal of Environmental Studies**. v. 9, n. 5, p. 423-428, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TARRAND, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new

genus, *Azospirillum* ssp. and two species, *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 8, p. 967-980, 1978.

TEIXEIRA, I. R.; BORÉM, A.; ARAÚJO, G. A. A.; ANDRADE, M. J. B. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com manganês e zinco. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2005.

TEIXEIRA, M. C. C.; RODRIGUES, O. Efeito da disposição da orientação de cultivo, do pareamento, de doses de nitrogênio e do uso de regulador de crescimento em características de cevada. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 11 p.

TERVER, I. W.; HOLLIS, J. P. Bacteria in the storage organs of healthy tissue. **Phytopathology Journal**, v. 38, p. 960-67, 2002.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, p. 1016-1024, 1979.

TOLEDO, M. Z.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J.; ALVES, E.; MATEUS, G. P.; CRUSCIOL, A. C. Qualidade fisiológica de sementes de sorgo-de-guiné em função da adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 6, n. 2, p. 234-246, 2007.

TOLEDO, M. Z.; FONSECA, N. R.; CESAR, M. L.; SORATTO, R. P.; CAVARINI, C.; CRUSCIOL, C. A. C. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão em função da aplicação tardia de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 2, p. 124-133, 2009.

VALÉRIO, I. P.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; ALMEIDA, M. A.; BENIN, G.; SCHEEREN, P. D.; SOUZA, V. Q.; HARTWIG, I. Desenvolvimento de afilhos e componentes do rendimento em genótipos de trigo sob diferentes densidades de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 319-326, 2008.

VEIT, B. Stem cell signalling networks in plants. **Plant Molecular Biology**, v. 60, n. 6, p. 793-810, 2006.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 222-228, 2001.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. **Ação de Stimulate no desenvolvimento inicial de plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. Piracicaba: Departamento de Ciências Biológicas/ USP, 2002.

VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; MINOHARA, L.; BERGAMASCHI, M. C. M. Efeito de doses e de épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na

produção e na produção e na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Científica**, v. 23, n. 2, p. 257-264, 1995.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. B. (Coord.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. cap. 4, p. 1-26.

VIGANÓ, J.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; FRANDO, F. A.; SCHUSTER, I.; MOTERLE, L. M.; TEXEIRA, L. R. Qualidade fisiológica de sementes de trigo em resposta aos efeitos de anos e épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 086-096, 2010.

VITTI, G. C.; CAMARGO, M. A. F.; LARA, C. **Síntese de análises químicas em tecido vegetal**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2001.

XIE, C. H.; YOKOTA, A. *Azospirillum ory* from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 55, p. 1435-1438, 2005.

WALTER, L. C.; STRECK, N. A.; ROSA, H. T.; ALBERTO, C. M.; OLIVEIRA, F. B. Desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de cultivares de trigo e sua associação com a emissão de folhas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2320-2326, 2009.

WANG, Z.; YIN, Y.; HE, M.; ZHANG, Y.; LU, S.; LI, Q.; SHI, S. Allocation of photosynthates and grain growth of two wheat cultivars with different potential grain growth in response to pre- and post-anthesis shading. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 189, p. 280-285, 2003.

WHITE, J.W. From genome to wheat: Emerging opportunities for modeling wheat growth and development. **European Journal of Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 79-88, 2006.

YOUNG, J. P. W. Phylogenetic classification of BURRIS, R. M.; EVANS, M. S. (Ed.). **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Springer Verlag, 1992. 943 p.

ZAGONEL, J.; FERNANDES, E. C. Rates and application times of growth reducer affecting wheat cultivars at two nitrogen rates. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 331-339, 2007.

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

ZAIED, K. A.; EL-HADY, A. H.; AFIFY, A. H.; NASSEF, M. A. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 4, p. 344-358, 2003.

ZIMMER W. The phytohormonal interactions between *Azospirillum* and wheat. **Plant and Soil**, v. 110, n. 32, p. 239-247, 1988.

ZORITA, M. D.; CANIGIA, M. V. F. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology**, v. 30, n. 9 p.1-10, 2008.

APÉNDICE

Tabela 1A – Características do inoculante à base de *Azospirillum brasilense*, para a cultivar CD 150 (Maringá – PR, 2010/2011).

Inoculante	Estirpes (UFPR)	Suporte
Formulação líquida ⁽¹⁾	AbV5 e AbV6	Água
Formulação turfosa ⁽²⁾	AbV5 e AbV6	

- (1) **Empresa formuladora:** Stoller do Brasil Ltda.
Concentração mínima: 2×10^8 Unidade Formadora de Colônias/mL (UFC mL⁻¹).
Densidade: 1 g mL⁻¹.
Aditivo: *Poliol, Ácido Carboxílico, Estabilizante/Conservante e Tensoativo.*
Dose: 100 mL 50 kg⁻¹ do produto comercial por hectare, veiculado misturado às sementes.
- (2) **Empresa formuladora:** Stoller do Brasil Ltda.
Concentração mínima: 2×10^8 Unidade Formadora de Colônias/g (UFC g⁻¹).
Dose: 100 gramas 50 kg⁻¹ do produto comercial por hectare, veiculado misturado às sementes.

Tabela 2A – Resumo da análise de variância conjunta referente às variáveis respostas: número de sementes por espiga (NSE), massa de mil sementes em gramas (MMS), peso hectolítrico (PH) e rendimento em kg ha⁻¹ (REND), (Maringá – PR, 2010/2011).

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios			
		NSE	MMS	PH	REND
ANOS	1	12,90 ^{ns}	39,44*	0,00 ^{ns}	2422335,42*
DOSES	2	1135,32*	344,64*	143,01*	16698767,24*
AZOSPIRILLUM (AZOS.)	2	769,46*	272,55*	116,68*	5078275,29*
BIORREGULADORES (BIO.)	1	45,19 ^{ns}	11,43 ^{ns}	22,04*	881245,05*
ANOS x DOSES	2	39,96*	6,02 ^{ns}	9,89*	299516,98*
ANOS x AZOS	2	49,06*	6,26 ^{ns}	0,83 ^{ns}	142616,89 ^{ns}
ANOS x BIO	1	23,07 ^{ns}	14,36 ^{ns}	2,44 ^{ns}	294,23 ^{ns}
DOSES x AZOS	4	41,15*	5,74 ^{ns}	2,42 ^{ns}	426256,45*
DOSES x BIO	2	23,51*	3,85 ^{ns}	3,79 ^{ns}	135157,47 ^{ns}
AZOS x BIO	2	20,94 ^{ns}	4,66 ^{ns}	1,09 ^{ns}	53261,08 ^{ns}
ANOS x DOSES x AZOS	4	35,38*	6,16 ^{ns}	1,70 ^{ns}	251290,05*
ANOS x AZOS x BIO	2	4,26 ^{ns}	3,97 ^{ns}	0,03 ^{ns}	12017,84 ^{ns}
ANOS x BIO x DOSES	2	6,08 ^{ns}	4,04 ^{ns}	0,72 ^{ns}	18170,90 ^{ns}
DOSES x AZOS x BIO	4	7,89 ^{ns}	4,06 ^{ns}	1,82 ^{ns}	173660,03 ^{ns}
ANOS x DOSES x AZOS x BIO	4	31,79 ^{ns}	4,22 ^{ns}	3,08 ^{ns}	31416,39 ^{ns}
Blocos/Anos	10	50,70	5,41	1,64	74733,77
Resíduo	170	15,77	4,51	1,73	81198,92
Total	215				
Média Geral		28,40	35,04	76,90	2361,48
CV (%)		12,20	6,06	1,72	12,07

* significativo pelo teste “F” a 5% de probabilidade; ^{ns} não-significativo; CV (Coeficiente de variação); GL (Graus de Liberdade).

Tabela 3A – Resumo da análise de variância conjunta referente às variáveis respostas: primeira contagem da germinação (PCG), contagem final (CF), teste de frio (TF), teste de envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE), (Maringá – PR, 2010/2011).

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios				
		PCG	CF	TF	EA	CE
ANOS	1	71,76 ^{ns}	18,96 ^{ns}	33,05 ^{ns}	0,53 ^{ns}	421,12 [*]
DOSES	2	1319,10 [*]	1708,93 [*]	2620,24 [*]	1060,23 [*]	105,32 [*]
AZOSPIRILLUM (AZOS.)	2	348,33 [*]	866,89 [*]	299,24 [*]	396,99 [*]	92,57 [*]
BIORREGULADOR (BIO.)	1	0,97 ^{ns}	11,11 ^{ns}	15,84 ^{ns}	37,25 ^{ns}	10,75 ^{ns}
ANOS x DOSES	2	3,63 ^{ns}	49,83 ^{ns}	35,77 ^{ns}	4,58 ^{ns}	259,58 [*]
ANOS x AZOS	2	3,29 ^{ns}	45,67 ^{ns}	87,54 ^{ns}	13,26 ^{ns}	14,98 [*]
ANOS x BIO	1	8,36 ^{ns}	2,66 ^{ns}	217,00 [*]	0,49 ^{ns}	0,85 ^{ns}
DOSES x AZOS	4	51,32 ^{ns}	52,63 [*]	11,10 ^{ns}	11,34 ^{ns}	3,69 ^{ns}
DOSES x BIO	2	25,73 ^{ns}	1,50 ^{ns}	22,62 ^{ns}	5,88 ^{ns}	0,53 ^{ns}
AZOS x BIO	2	11,00 ^{ns}	2,98 ^{ns}	137,51 ^{ns}	18,16 ^{ns}	1,07 ^{ns}
ANOS x DOSES x AZOS	4	10,86 ^{ns}	27,95 ^{ns}	60,35 ^{ns}	1,45 ^{ns}	3,79 ^{ns}
ANOSx AZOS x BIO	2	6,61 ^{ns}	3,38 ^{ns}	15,22 ^{ns}	11,32 ^{ns}	0,47 ^{ns}
ANOS x BIO x DOSES	2	32,95 ^{ns}	19,81 ^{ns}	148,98 [*]	25,11 ^{ns}	4,12 ^{ns}
DOSES x AZOS x BIO	4	25,14 ^{ns}	24,79 ^{ns}	211,93 [*]	17,57 ^{ns}	1,02 ^{ns}
ANOS x DOSES x AZOS x BIO	4	16,43 ^{ns}	24,58 ^{ns}	25,03 ^{ns}	9,60 ^{ns}	3,54 ^{ns}
Blocos/Anos	10	22,74	11,69	77,12	36,03	2,07
Resíduo	170	23,53	17,35	47,66	33,13	3,13
Total	215					
Média Geral		85,52	91,36	89,31	85,53	32,95
CV (%)		5,67	4,56	7,73	6,75	5,37

* significativo pelo teste “F” a 5% de probabilidade; ^{ns} não-significativo; CV (Coeficiente de variação); GL (Graus de Liberdade).

Tabela 4A – Resumo da análise de variância conjunta referente aos teores de proteínas e nitrogênio determinado nas sementes de trigo (Maringá – PR, 2010/2011).

Fontes de Variação	GL	Quadrados médios	
		Proteína	Nitrogênio
ANOS	1	2,80 ^{ns}	0,06 ^{ns}
DOSES	2	394,85*	4,59 *
AZOSPIRILLUM (AZOS.)	2	26,98*	0,65 *
BIORREGULADORES (BIO.)	1	28,83*	0,13 *
ANOS x DOSES	2	0,16 ^{ns}	0,01 ^{ns}
ANOS x AZOS	2	0,70 ^{ns}	0,01 ^{ns}
ANOS x BIO	1	0,31 ^{ns}	0,09 ^{ns}
DOSES x AZOS	4	0,79 ^{ns}	0,09 *
DOSES x BIO	2	2,36 ^{ns}	0,02 ^{ns}
AZOS x BIO	2	0,12 ^{ns}	0,04 *
ANOS x DOSES x AZOS	4	0,26 ^{ns}	0,01 ^{ns}
ANOS x AZOS x BIO	2	0,33 ^{ns}	0,01 ^{ns}
ANOS x BIO x DOSES	2	0,25 ^{ns}	0,04 ^{ns}
DOSES x AZOS x BIO	4	2,91 *	0,07 *
ANOS x DOSES x AZOS x BIO	4	0,24 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Blocos/Anos	10	0,98	0,04
Resíduo	170	0,78	0,02
Total	215		
Média Geral		21,36	3,43
CV (%)		4,14	4,87

* significativo pelo teste “F” a 5% de probabilidade; ^{ns} não-significativo; CV (Coeficiente de variação); GL (Graus de Liberdade).