

Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*

Wheat (*Triticum aestivum*) yield response to different inoculation techniques of *Azospirillum brasilense*

Lucas C. Pereira*, Samara C. Piana, Alessandro L. Braccini, Mayara M. Garcia, Gláucia C. Ferri, Pedro H. Felber, Danilo C.V. Marteli, Paloma A. Bianchessi e Igor B. Dametto

¹ Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, 87020-900, Maringá-PR, Brasil.
(*E-mail: lucascabiubi@yahoo.com.br)
<http://dx.doi.org/10.19084/RCA16089>

Recebido/received: 2016.07.13
Recebido em versão revista/received in revised form: 2016.10.30
Aceite/accepted: 2016.11.03

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência agronômica de diferentes dosagens e modos de aplicação (via sementes, aplicação foliar e no sulco de sementeira) da forma líquida de um inoculante à base de *Azospirillum brasilense* nos componentes da produtividade da cultura do trigo. As seguintes características agronômicas foram avaliadas: número de perfilhos por planta, número de grãos por espiga, massa seca da parte aérea, peso médio de mil grãos, peso do hectolitro, teor de N no grão, teor de N, P e K na massa seca da parte aérea e produtividade de grãos. Os resultados obtidos permitiram concluir que a utilização de metade da dose de N, associada à aplicação de *A. brasilense* na forma líquida, independentemente do método de inoculação, proporcionaram resultados benéficos ao rendimento da cultura, quando comparada com a aplicação isolada de metade da dose de N. A aplicação de *A. brasilense* via tratamento de sementes com a dose total de N em cobertura, no entanto, foi a combinação que proporcionou o maior incremento da produtividade de grãos.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, *Azospirillum brasilense*, inoculação, rendimento.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the efficiency of inoculation techniques (seed treatment, in-furrow application and foliar spray) with *Azospirillum brasilense* on the agronomic performance and yield response of wheat. At the point of harvest, the number of seeds per ear, the thousand-seed mass, the hectoliter weight, the shoot dry matter, the N, P and K content of shoot dry matter, the grain N content, and the grain yield were evaluated. Regardless of the inoculation technique, at half the dose of N fertilizer combined with *A. brasilense* in liquid formulation, provided significantly superior results in agronomic performance compared to the treatment in which only the half the dose of N fertilizer was used. However, it is inferred that seed inoculation with *A. brasilense* associated with full nitrogen fertilization showed the highest increase in wheat development and grain yield.

Keywords: *Triticum aestivum*, *Azospirillum brasilense*, inoculation, yield

INTRODUÇÃO

A cultura do trigo (*Triticum aestivum*) é de grande importância no sistema de produção agrícola do centro-sul do Brasil, por se tratar de uma opção economicamente viável durante o período de

inverno. Nos últimos anos, dentre os inúmeros avanços implementados na cultura, merecem ser citados a obtenção de cultivares resistentes ao acamamento com menor percentual de germinação na espiga, e, sobretudo, o aumento do peso do hectolitro com a gestão adequada da adubação.

Como para a maioria das culturas, o N é considerado o principal nutriente limitante do rendimento do trigo (Malavolta, 1989; Da Ros *et al.*, 2003). Segundo Moreira e Siqueira (2002), menos da metade do N aplicado no solo é absorvido pelas plantas, sendo o restante imobilizado ou perdido por volatilização ou lixiviação. Mundstock (1999) refere que, além de redução do perfilhamento, a deficiência desse nutriente afeta principalmente as folhas mais velhas, originando plantas débeis com folhas de limbo reduzido e com coloração verde-amarelada. A maioria dos solos brasileiros cultiváveis apresenta baixos teores disponíveis de N, tornando a aplicação de adubos nitrogenados indispensável. No entanto, sabe-se que o seu aproveitamento é limitado pelo caráter dinâmico desse nutriente no solo.

Com base nas descobertas de Döbereiner e Day (1976) e Döbereiner *et al.* (1976) sobre a fixação de N atmosférico por *Azospirillum* spp. quando associado à rizosfera de plantas não leguminosas, inúmeros investigadores em biologia e fertilidade do solo têm procurado perceber como esta associação poderá contribuir para a nutrição nitrogenada de gramíneas.

A este respeito, Döbereiner *et al.* (1996) concluíram que, por não realizarem a fixação biológica de nitrogênio (FBN) com alta eficiência, a exemplo das leguminosas, as gramíneas precisam de obter boa parte do N via fertilizantes. Posto isto, os autores sugerem que, devido ao seu sistema radicular fasciculado que possibilita a exploração de um maior volume do solo, mesmo que apenas uma parte do N seja fornecida pelas bactérias fixadoras de nitrogênio, a economia das gramíneas em adubos nitrogenados tem potencial para ser igual ou superior àquela verificada nas leguminosas.

Para a cultura do trigo, Saubidet *et al.* (2002) concluíram que a inoculação não substituiu a adubação nitrogenada. Dobbelaere *et al.* (1999) e Bashan *et al.* (2006), no entanto, apontaram uma melhor absorção de N em plântulas inoculadas, uma vez que as auxinas excretadas pela bactéria na associação simbiótica com a planta, resulta em aumento dos pelos radiculares.

Neste contexto, trabalhos como os de Cavalett *et al.* (2000), Reis (2007), Reis Júnior *et al.* (2008) e

Braccini *et al.* (2012) permitem afirmar que a aplicação de N associada à inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. já é prática consolidada e consagrada na gestão da cultura do milho. Para o trigo, importantes contribuições sobre a resposta da cultura a inoculação via sementes são apontadas em Caballero-Mellado *et al.* (1992), Didonet *et al.* (1996), Hungria *et al.* (2010), Piccinin *et al.* (2011) e Piccinin *et al.* (2013). Todavia, as respostas relativas a outros modos de aplicação, que não via sementes, são ainda pouco conhecidas. Desta forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a eficiência agronômica da associação de diferentes doses de N com 3 modos de aplicação de *A. brasilense* (via sementes, foliar e sulco), sobre os componentes da produtividade da cultura do trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalação e condução do ensaio

O presente ensaio foi conduzido numa área localizada na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no município brasileiro de Maringá, região noroeste do Estado do Paraná, situado a uma latitude de 23°02' sul e longitude de 52°04' a oeste de Greenwich.

Os tratamentos consistiram na utilização da adubação nitrogenada nas doses 0, 30 e 60 kg ha⁻¹ distribuídos na semeadura e em cobertura, em associação com três diferentes modos de aplicação (sementes, sulco e pulverização) de *A. brasilense*. O inoculante utilizado na forma líquida continha uma concentração de 2 × 10⁸ UFC por mililitros das estirpes AbV5 e AbV6 (Masterfix Gramíneas®). O esquema detalhado dos tratamentos encontra-se apresentado no Quadro 1.

Com exceção da adubação nitrogenada, a instalação e condução da lavoura experimental foram realizadas de acordo com as recomendações de Cunha e Caierão (2014) para a região de Maringá, Brasil, tendo por base a análise química e física do solo.

A cultivar utilizada na sementeira foi a CD 116, com densidade de 420 sementes viáveis m⁻². As parcelas foram constituídas por 10 linhas de 5 m de comprimento, espaçadas de 0,16 m entre si. Na colheita,

foram eliminadas duas linhas externas, bem como 0,5 m de cada extremidade das linhas centrais como bordaduras. Foram colhidas seis linhas centrais da área útil das unidades experimentais, perfazendo 3,84 m².

Para as aplicações no sulco de sementeira foi utilizado um pulverizador de costas propelido a CO₂, com pressão constante de 2 MP, a um caudal de 0,35 L min⁻¹, equipado com lança contendo um 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, propiciou um volume de calda de 50 L ha⁻¹. O mesmo equipamento foi empregue nas aplicações foliares no início do perfilhamento, embora com um caudal de 0,65 L min⁻¹ e um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

A inoculação de sementes com *A. brasilense* foi realizada momentos antes da semeadura. Para tanto, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos, onde receberam a dosagem do inoculante conforme descrito no Quadro 1. Em seguida, a fim de se obter uma distribuição homogênea do produto, as sementes foram agitadas por aproximadamente 1 min.

Avaliação do desempenho agronômico e rendimento de grãos

Para quantificação do número de perfilhos por planta, foram avaliadas 10 plantas por parcela no

início do emborrachamento. Igualmente, o número de grãos por espiga foi determinado pela colheita de 10 espigas por parcela. A amostragem da parte aérea para análise dos teores de N, P e K no tecido vegetal foi conduzida conforme a metodologia descrita em Tedesco *et al.* (1995). Os teores de P e K no tecido vegetal foram determinados de acordo com Silva (2009).

A massa seca da parte aérea das plantas foi determinada no início da floração, altura em que foram realizadas amostragens de 10 plantas por parcela colhidas em 0,50 m de linha, escolhidas ao acaso em dois pontos da área útil das parcelas na área experimental. Cada amostra foi etiquetada no campo e seguidamente transportada para o laboratório, onde foram colocadas em sacos papel tipo *kraft* e levadas para secagem em estufa com circulação forçada de ar a 65°C, até atingirem peso constante. As amostras foram pesadas em balança de precisão com duas casas decimais (peso seco), obtendo-se, a partir deste, a massa seca por planta.

No final do ciclo, as parcelas foram colhidas manualmente e debulhadas em máquina debulhadora estacionária, limpas com o auxílio de peneiras e selecionador de impurezas digital, secas em condições naturais e acondicionadas em sacos de papel tipo *kraft* multifoliado. A partir da massa de grãos obtida na área útil da parcela, obteve-se a produtividade de cada parcela,

Quadro 1 - Esquema dos tratamentos com diferentes modos de aplicação do inoculante a base de *A. brasilense*, associados a doses de N (Maringá, PR, Brasil, 2015)

Tratamento	Adubação nitrogenada (kg ha ⁻¹)*	Modo de aplicação do inoculante	Dose do inoculante (mL ha ⁻¹ ou mL 50 kg ⁻¹)
1	0	-	0
2	30	-	0
3	60	-	0
4	60	Sementes	200
5	30	Sementes	200
6	30	Sulco	300
7	30	Sulco	400
8	30	Pulverização	300
9	30	Pulverização	400

* 15 kg ha⁻¹ na sementeira e o restante em cobertura no perfilhamento

que foi pesada em balança analítica, determinando-se o grau de humidade das sementes por meio do método de estufa descrito em Brasil (2009). O peso dos grãos foi corrigido para 13% de humidade, calculando-se posteriormente o rendimento de grãos, o qual foi expresso em kg ha⁻¹. O teor de nitrogénio na matéria seca da parte aérea e nos grãos colhidos foi determinado conforme recomendação de AOAC (1990).

O peso de mil grãos foi determinado pela pesagem de 8 subamostras de 100 grãos para cada repetição de campo, com auxílio de balança analítica com precisão de um miligrama. Em seguida, obedecendo ao critério do coeficiente de variação inferior a quatro, os resultados foram multiplicados por 10 de acordo com Brasil (2009).

O peso do hectolitro de grãos foi determinado pela pesagem de um volume conhecido (225 mL) em balança eletrónica Agrológic Al-101®, utilizando quatro repetições por parcela; os resultados foram expressos em kg hL⁻¹ (Brasil, 2009).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados com 9 tratamentos e quatro repetições de campo. As variáveis analisadas foram submetidas à análise de variância a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), utilizando-se os sistemas para análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011). Quando o tratamento foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (Scott e Knott, 1974) a 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na avaliação das características agronómicas e nos componentes de rendimento da cultivar CD116, em função dos tratamentos, encontram-se no Quadro 2. Com exceção dos teores de N, P e K na massa seca da parte aérea, a análise de variância dos dados permitiu inferir que ocorreram diferenças significativas ($p > 0,01$) para todas as demais variáveis nas condições experimentais observadas.

Número de perfilhos por planta (NPP)

De acordo com o critério de agrupamento de Scott-Knott (Scott e Knott, 1974), os tratamentos 4, 5 e 9 apresentaram valores superiores de NPP. Por outro

lado, os tratamentos 1, 2, 3, 6, 7 e 8 não apresentaram diferença estatística entre si (Quadro 2). Tais resultados mostram que os tratamentos com metade da dose de N associada à inoculação via sementes ou em pulverização a 400 mL ha⁻¹, ou ainda com a dose total de N associada a inoculação de sementes, sobressaíram positivamente em relação aos demais tratamentos.

Este comportamento diverge do observado por Mendes *et al.* (2011), que não encontraram diferenças significativas entre os tratamentos com redução da adubação nitrogenada e inoculação de *A. brasilense* via sementes. Tanto naquele como no presente estudos, foram utilizadas as estirpes AbV5 e AbV6 da bactéria, consideradas as mais efetivas para o trigo segundo Hungria *et al.* (2010).

Número de grãos por espiga (NGE)

Os valores mais elevados de NGE foram encontrados nos tratamentos 4 e 9 (Quadro 2). Todos os tratamentos com inoculação apresentaram resultados de NGE superiores aos tratamentos com a dose correspondente de N, porém sem o inoculante.

Este comportamento permite sugerir que a aplicação de *A. brasilense* favoreceu o N.G.E. tal como encontrado por Rosário (2013). Por fim, o aumento da dose de N também induziu um melhor desempenho para a presente característica.

Peso do hectolitro (PH)

O PH é um indicativo de qualidade e rendimento do trigo, sendo, portanto, uma propriedade de elevada importância para efeito de comercialização. No Brasil, um PH igual ou superior a 78 kg hL⁻¹ para o grão limpo a 13% de humidade é considerado o valor de referência para o trigo de alta qualidade industrial.

No presente estudo notou-se (Quadro 2) que a adição de *A. brasilense* aos tratamentos 4, 5, 6, 7, 8 e 9 proporcionou valores de PH dentro da faixa de alta qualidade industrial. À exceção dos tratamentos 1 (testemunha) e 2 (meia dose de N), que apresentaram, sequencialmente, as menores médias de PH, os restantes tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, indicando que, independentemente do modo de aplicação e da dose, o *A. brasilense* favoreceu esta variável nas doses menores de N.

Embora diferindo nos modos de inoculação, estes resultados convergem com os de Piccinin *et al.* (2013), que observaram que o cultivo de trigo sob meia dose de N associado à inoculação com *A. brasilense* pode elevar os valores do PH, quando comparado com tratamentos sem esta bactéria.

Matéria seca da parte aérea (MSPA)

Os valores mais elevados de MSPA foram encontrados nos tratamentos 3 e 4, correspondentes à dose completa de N.

Em Araújo (2014), a restrição no N disponibilizado via adubação, mesmo na presença de inoculação,

resultou num decréscimo da MSPA. Resultados semelhantes foram obtidos no presente trabalho, tendo-se notado uma menor acumulação de MSPA nos tratamentos conduzidos sob redução da adubação nitrogenada, sobretudo na ausência da bactéria (tratamentos 1 e 2). De entre os tratamentos conduzidos com metade da dose de N, os tratamentos 5, 6 e 9 apresentaram valores de MSPA significativamente superiores aos demais. Este facto permite sugerir que o modo de aplicação e as doses de inoculante não afetaram esta variável. Independentemente do modo de aplicação, o *A. brasilense* induziu um incremento da MSPA nos tratamentos com metade da dose de N. Contudo, em

Quadro 2 - Resultados médios do número de perfilhos por planta (NPP), número de grãos por espiga (NGE), peso do hectolitro (PH), massa seca de parte aérea (MSPA), peso de mil grãos (PMG), teor de N na massa seca da parte aérea (TNMS), teor de P na massa seca da parte aérea (TPMS), teor de K na massa seca da parte aérea (TKMS) teor de N no grão (TNG) e produtividade de grãos (PROD.) da cultivar CD 116, em resposta a diferentes doses de N associadas a diferentes doses e modos de aplicação de *A. brasilense*

Tratamento	NPP	NGE	PH	MSPA (g planta ⁻¹)	PMG (g)
1	3,350 B	13,700 D	75,248 C	1,041 C	40,040 B
2	3,700 B	17,075 C	76,320 B	1,082 C	40,095 B
3	3,950 B	20,275 B	78,388 A	1,719 A	42,160 A
4	5,325 A	25,325 A	78,540 A	1,854 A	42,180 A
5	5,050 A	20,925 B	78,393 A	1,507B	42,138 A
6	4,425 B	21,700 B	78,450 A	1,568 B	42,165 A
7	3,950 B	20,075 B	78,238 A	1,164 C	42,115 A
8	4,175 B	20,875 B	78,315 A	1,282C	42,100 A
9	5,100 A	23,200 A	78,528 A	1,659 B	42,188 A
Média	4,336	20,350	77,82	1,430	41,68
C.V. (%)	12,11	6,85	0,16	7,21	0,09
Trat.	TNMS (g Kg ⁻¹)	TPMS (g Kg ⁻¹)	TKMS (g Kg ⁻¹)	TNG (kg N ha ⁻¹)	PROD. (kg ha ⁻¹)
1	4,75 A	0,23 A	7,68 A	51,773 E	488,323 H
2	4,33 A	0,25 A	12,18 A	55,818 D	762,511 G
3	5,53 A	0,23 A	8,45 A	114,383 B	2316,293 B
4	4,73 A	0,28 A	11,68 A	115,838 A	2573,878 A
5	4,95 A	0,35 A	11,15 A	56,793 C	2083,712 C
6	4,68 A	0,30 A	6,90 A	57,288 C	1822,334 D
7	5,03 A	0,30 A	8,43 A	56,033 C	1169,356 F
8	4,05 A	0,30 A	8,98 A	56,833 C	1539,874 E
9	4,83 A	0,23 A	8,70 A	58,128 C	1755,514 D
Média	4,76	0,27	9,35	69,209	1612,421
C.V. (%)	22,26	32,06	28,44	0,76	5,55

De acordo com o critério de agrupamento de Scott-Knott (1974), médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem a um mesmo grupo, a 1% de probabilidade.

concordância com Didonet *et al.* (2000), tornou-se evidente que, embora a inoculação propicie a acumulação de matéria seca, não preenche integralmente as exigências de N da cultura. Por outro lado, empregando-se a recomendação total de N, obtiveram-se valores de MSPA estatisticamente semelhantes na presença (tratamento 3) ou na ausência (tratamento 4) do inoculante.

Peso de mil grãos (PMG)

Nesta avaliação, em concordância com o comportamento observado no PH, notou-se que tratamentos em que se associou a metade da dose de N com aplicação de *A. brasilense* apresentaram incremento no PMG, independentemente do modo de aplicação e da dose do inoculante, o que corrobora com os resultados obtidos por Didonet *et al.* (2000). Estes resultados sugerem que na presença de uma disponibilidade de N no solo da ordem de 30 kg ha⁻¹, o *A. brasilense* propiciou à cultura alocar fotoassimilados em benefício do enchimento de grãos. Por outro lado, quando a recomendação total de N foi fornecida a cultura (tratamentos 3 e 4), a inoculação não beneficiou nem prejudicou o PMG.

Nunes *et al.* (2015), de maneira contrastante, observaram que o P.M.G. decresceu nos tratamentos em que se realizou a inoculação, neste caso, via sementes. Ressalta-se, contudo, que naquele trabalho os autores conduziram a cultura em solo com disponibilidade de N inferior a 30 kg ha⁻¹ (metade da dose), facto que pode ter levado a maior partição de fotoassimilados para o crescimento vegetativo em detrimento a produção de grãos.

Teores de nitrogénio (TNMS), fósforo (TPMS) e potássio (TKMS) na matéria seca da parte aérea

A análise de variância dos dados (Quadro 2) permitiu inferir que não ocorreram diferenças significativas ($p > 0,01$) para os teores de N, P e K na matéria seca. Portanto, corroborando com Hungria *et al.* (2010), face aos tratamentos efetuados estas características não foram passíveis de alteração.

Teor de nitrogénio nos grãos (TNG)

Cazetta *et al.* (2008) observaram que dada sua associação com o aumento no teor de proteínas e, consequentemente, da qualidade tecnológica da farinha de trigo, o aumento de N nos grãos é característica muito requerida pela indústria. Neste estudo, o T.N.G. nos tratamentos submetidos à inoculação

foi superior àqueles sem o emprego da bactéria, independentemente da dose de N na adubação ou do modo de inoculação. Destaca-se, ainda, que o teor mais elevado de N nos grãos foi encontrado no tratamento 4, que é fruto da aplicação do inoculante via de sementes associada à recomendação total de N.

Estes resultados corroboram os estudos de Rodrigues *et al.* (2014), que também observaram que a inoculação de *A. brasilense* em trigo incrementou o conteúdo de N dos grãos. Rampim *et al.* (2012) e, posteriormente, Souza *et al.* (2014), também para a mesma cultura, apontaram comportamento semelhante para a variável T.N.G. após a inoculação das sementes. Outra observação relevante é a de que tratamentos sem restrição de N se sobressaíram positivamente sobre os demais.

Produtividade

Em relação à produtividade de grãos (Quadro 2), o maior ganho de rendimento foi observado no tratamento 4, seguido decrescentemente pelos tratamentos 3 e 5. Observou-se, ainda, que a utilização de metade da dose de N associada à aplicação de *A. brasilense* na forma líquida, seja via tratamento de semente, aplicação foliar ou via sulco, proporcionaram acréscimos na produtividade, quando comparados com a aplicação isolada de metade da dose de N (tratamento 2).

Para o tratamento 4, observou-se que sua alta de produtividade foi determinada pela quantidade de grãos (NGE) e não pela massa deles (PMG), comportamento que corrobora os resultados de Sala *et al.* (2007). Frisa-se ainda que na gestão com adubação nitrogenada completa, a produtividade de grãos correlacionou-se de forma positiva ao TNG, refletindo, desta forma, na obtenção de grãos de elevada qualidade industrial.

O uso de meia dose de N associada à aplicação de *A. brasilense* via semente (tratamento 5) apresentou incremento de produtividade significativamente superior quando comparado aos modos de aplicação via sulco ou em pulverização foliar, mantida a meia dose de N. No entanto, embora a aplicação via semente associada à meia dose de N tenha proporcionado efeito positivo na produtividade, o resultado final foi inferior àquele em cujo tratamento se empregou a dose total de N.

CONCLUSÃO

Os resultados evidenciam que a associação de metade da dose de N com as diferentes formas de inoculação testadas (pulverização foliar, sulco de sementeira e a utilização usual via tratamento de sementes) constituem uma alternativa viável para aumentar o desempenho agronômico e o

rendimento do trigo, sobretudo, no que concerne à obtenção de grãos de elevado peso por hectolitro e, portanto, de alta qualidade industrial. Entretanto, elevadas produtividades podem ser especialmente obtidas conjugando a dose total de N com a aplicação do inoculante via sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (1990) – *Official methods of the Association of Official Analytical Chemist* 15th ed. Washington, Association of Official Analytical Chemists, 230 p.
- Araújo, E.O. (2014) – *Quantificação da contribuição de bactérias diazotróficas na absorção de nitrogênio pela cultura do milho*. Tese de Doutorado. Dourados, Universidade Federal da Grande Dourados, 160 p.
- Bashan, Y.; Bustillos, J.J.; Leyva, L.A.; Hernandez, J.P. & Bacilio, M. (2006) – Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 42, n. 4, p. 279-285. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-005-0025-x>
- Braccini, A.L.; Dan, L.G.M.; Piccinin, G.G.; Albrecht, L.P.; Barbosa, M.C. & Ortiz, A.H.T. (2012) – Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* associated with the use of bioregulators in maize. *Revista Caatinga*, vol. 25, n. 2, p. 58-64.
- Brasil (2009) – *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, Secretaria de Defesa Agropecuária-Mapa/ACS, 395 p.
- Caballero-Mellado, J.; Carcaco-Montiel, M. & Mascarua-Esparza, M.A. (1992) – Field inoculation of wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum brasilense* under temperate climate. *Symbiosis*, vol. 13, p. 243-253.
- Cavalett, L.E.; Pessoa, A.C.S.; Helmich, J.J.; Helmich, P.R. & Ost, C.F. (2000) – Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 4, n. 1, p. 129-132. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-4366200000100024>
- Cazetta, D.A.; Asieri-Filho, D.; Arf, O. & Germani, R. (2008) – Qualidade industrial de cultivares de trigo e triticale submetidos à adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. *Bragantia*, vol. 67, n. 3, p. 741-750. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052008000300024>
- Cunha, G.R. & Caiarão, E. (Eds.) (2014) – *Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2015*. Brasília, Embrapa-VIII Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 229 p.
- Da Ros, C.O.; Salet, L.S.; Porn, R.L. & Machado, J.N.C. (2003) – Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. *Ciência Rural*, vol. 33, n. 5, p. 799-804. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782003000500002>
- Didonet, A.D.; Rodrigues, O & Kenner, M.H. (1996) – Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 16, n. 9, p. 645-651.
- Didonet, A.D.; Lima, A.S.; Candaten, A.A. & Rodrigues, O. (2000) – Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 35, n. 2, p. 401-411. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000000200019>
- Dobbelaere, S.; Croonenborghs, A.; Trys, A.; Vande Broek, A. & Vanderleyden, J. (1999) – Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil*, vol. 212, n. 2, p. 155-164 <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004658000815>
- Döbereiner, J.; Marriel, I. & Nery, M. (1976) – Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 22, n. 2, p. 1464-1473. <http://dx.doi.org/10.1139/m76-217>

- Döbereiner, J. & Day, J.M. (1976) – Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: Newton W.E. & Nyman, C.T. (Eds.) – *Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation*. Washington, Washington State University Press, vol. 2, p. 518-538.
- Döbereiner, J.; Baldani, V.L.D. & Baldani, J.I. (1996) – *Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas*. Brasília, Embrapa/Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia, 60 p.
- Ferreira, D.F. (2011) – Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 35, n. 6, p. 1039-1042. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Hungria, M.; Campo, R.J.; Souza, E.M. & Pedrosa, F.O. (2010) – Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, vol. 331, n. 1, p. 413-425. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Malavolta, E. (1989) – *ABC da Adubação*. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 292 p.
- Mendes, M.C.; Rosario, J.G.; Faria, M.F.; Zoche, J.C. & Walter, A.L. (2011) – Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. *Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada as Ciências Agrárias*, vol. 4, n. 3, p. 95-110.
- Moreira, F.M.S. & Siqueira, J.O. (2002) – *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 625 p.
- Mundstock, C.M. (1999) – *Planejamento e manejo integrado da lavoura de trigo*. Porto Alegre, UFRGS, 228 p.
- Nunes, P.H.M.P.; Aquino, L.A.; Santos, L.P. D. dos; Xavier, F.O.; Dezordi, L.R. & Assunção, N.S. (2015) – Produtividade do trigo irrigado submetido à aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 39, n. 1, p. 174-182. <http://dx.doi.org/10.1590/01000683rbcsc20150354>
- Piccinin, G.G.; Dan, L.G.M.; Braccini, A.L.; Mariano, D.C.; Okumura, R.S.; Bazo, G.L. & Ricci, T.T. (2011) – Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. *Journal of Agronomy*, vol. 10, n. 4, p. 132-135. <http://dx.doi.org/10.3923/ja.2011.132.135>
- Piccinin, G.G.; Braccini, A.L.; Dan, L.G.M.; Scapim, C.A.; Ricci, T.T. & Bazo, G.L. (2013) – Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. *Industrial Crops and Products*, vol. 43, p. 393-397. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.052>
- Rampim, L.; Rodrigues-Costa, A.C.P.; Nacke, H.; Klein, J. & Guimarães, V.F. (2012) – Qualidade fisiológicas de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 34, n. 4, p. 678-685. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222012000400020>
- Reis, V.M. (2007) – Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculantes para aplicação em gramíneas. *Embrapa Agrobiologia – Documentos 232*, 22 p. [cit. 2016-03-16]. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAB-2010/34399/1/doc232.pdf>
- Reis Júnior, F.B.; Machado, C.T.T.; Machado, A.T. & Sodek, L. (2008) – Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 32, n. 3, p. 1139-1146. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000300022>
- Rodrigues, L. F. O. S.; Guimarães, V. F.; Silva, M. B. da; Pinto Junior, A. S.; Klein, J. & Costa, A. C. P. R. da (2014) – Características agrônômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 18, n. 1, p. 31-37. <https://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662014000100005>
- Rosário, J.G. (2013) – *Inoculação com Azospirillum brasilense associada à redução na adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de trigo*. Dissertação de mestrado. Guarapuava. Universidade Estadual do Centro – Oeste, 71 p.
- Sala, V.M.R.; Cardoso, E.J.B.N.; Freitas, J.G. & Silveira, A.P.D. (2007) – Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 42, n. 6, p. 833-842. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007000600010>
- Saubidet, M.I.; Fatta, N. & Barneix, A.J. (2002) – The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil*, vol. 245, n. 2, p. 215-222. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1020469603941>
- Scott, A. & Knott, M. (1974) – Cluster analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*, vol. 30, n. 3, p. 507-512. <http://dx.doi.org/10.2307/2529204>

- Silva, F.C. (2009) – *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes 2ª ed.* Brasília, Embrapa Informações Tecnológicas, 627 p.
- Souza, T.M.; Prando, A.M.; Takabayashi, C.R.; Santos, J.S.; Ishikawa, A.T. & Felício, A.L.S.M. (2014) – Composição química e desoxinivalenol em trigo da região Centro – Sul do Paraná: adubação nitrogenada em cobertura associada com *Azospirillum brasilense*. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 35, n. 1, p. 327-342. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p327>
- Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C.A.; Bohnen, H. & Volkweiss, S.J. (1995) – *Análise de solo, plantas e outros materiais 2a ed – Boletim Técnico de Solos 5.* Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 174 p.