

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FERNANDA DE GOES FURMAM

DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO TRIGO EM FUNÇÃO DA
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

PONTA GROSSA

2019

FERNANDA DE GOES FURMAM

DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO TRIGO EM FUNÇÃO DA
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Ponta Grossa para obtenção
do título de Mestre em Agronomia - Área
de concentração: Agricultura.

Orientadora: Prof. Dra. Carolina Weigert
Galvão

PONTA GROSSA

2019

F986 Furmam, Fernanda de Goes
Desenvolvimento e produtividade do trigo em função da inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal / Fernanda de Goes Furmam. Ponta Grossa, 2019.
59 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração – Agricultura), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Weigert Galvão

1. Fixação biológica de Nitrogênio (FBN). 2. Quantificação de bactérias diazotróficas. 3. Estresse hídrico. I. Galvão, Carolina Weigert. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa-Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD : 633.11



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Titulo da Dissertação: "Desenvolvimento e produtividade do trigo em função da inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal".

Nome: Fernanda de Goes Furman

Orientador: Carolina Weigert Galvão

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Profª Drª Carolina Weigert Galvão

Dr. Hélio Antonio Wood Joris

Prof. Dr. Fabricio Tondello Barbosa

Data da Realização: 25 de Fevereiro de 2019

Dedico este trabalho aos meus pais, Orizes e Leni, ao meu irmão Pedro e ao meu namorado Jordano **por serem os alicerces da minha vida, meus grandes incentivadores.**

À toda minha família, **por serem meus grandes colaboradores.**

À toda comunidade agrícola, **por trazerem inspiração para nossos estudos.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por me proporcionar sabedoria e dedicação para desempenhar este trabalho.

Aos meus pais, Orizes e Leni, por todo amor, apoio, incentivo e compreensão. Obrigada pela constante dedicação para que eu pudesse chegar até aqui e por constituírem a base da nossa família.

Ao meu irmão Pedro, por todo amor, carinho e cuidado. Obrigada por baixar o volume todas as vezes em que eu pedi. Parceria sempre!

Ao meu amor, Jordano, por toda compreensão, cuidado e dedicação. Obrigada por caminhar junto comigo, por me ouvir, me aconselhar e me encorajar nos momentos difíceis.

À toda minha família, a qual esteve sempre presente, me motivando e vivendo cada etapa da minha vida comigo. Gratidão por todas as orações feitas com tanto carinho.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), por todo suporte, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

À Professora Dra. Carolina Weigert Galvão e ao Professor Dr. Rafael Mazer Etto pela orientação, conselhos e ensinamentos, tanto do meio científico quanto da vida pessoal, os quais levarei para vida toda. Vocês são exemplos de seriedade, humildade e comprometimento. Muito obrigada!

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEPG, por toda contribuição para nossa formação científica.

Ao Professor Dr. Hélio Antonio Wood Joris pela contribuição para realizar este experimento.

Ao Dr. Daniel Ruiz Potma Gonçalves, pelo incentivo e auxílio nas análises estatísticas.

À toda equipe da Palagro, pela atenção e disponibilidade em me ajudar nas análises de produtividade do trigo.

A todos os funcionários da Mini Farm BASF/SA, pelo apoio e disponibilidade dos dados climáticos.

A todos os amigos do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM), por toda ajuda, companheirismo e auxílio na realização das análises.

A todos os colegas da Pós-Graduação, pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

A todos os funcionários da UEPG, em especial aos funcionários da Fazenda Escola Capão da Onça.

A técnica do LABMOM, Lígia Dombroski dos Santos, por toda amizade, atenção, ajuda e incentivo.

Por todas as pessoas que não foram mencionadas aqui, mas que foram fundamentais em minha formação, direta ou indiretamente, contribuindo para meu crescimento profissional e pessoal.

Gratidão a todos!

EPÍGRAFES

“Plante um pensamento, colha uma ação, plante uma ação, colha um hábito, plante um hábito, colha um caráter, plante um caráter, colha um destino”

(Stephen Covey)

“Não tenha medo, pois eu estou com você. Não precisa olhar com desconfiança, pois eu sou o seu Deus. Eu fortaleço você, eu o ajudo e o sustento com minha direita vitoriosa”

(Isaías 41:10)

“Você chegou até aqui, pode ir muito mais longe”

(Pe. Osni dos Anjos)

DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO TRIGO EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

RESUMO

O trigo representa a cultura de inverno de maior relevância econômica no sul do Brasil, pois é caracterizado como alimento básico da população. O nutriente que mais limita a produtividade de trigo é o nitrogênio (N), portanto, a prática de adubação nitrogenada é comum e responsável pelo elevado custo da produção agrícola, além de ser uma fonte considerável de contaminação ambiental. Buscando reduzir a utilização de fertilizantes químicos, uma alternativa promissora é a utilização de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV), as quais apresentam como benefícios a fixação biológica do nitrogênio (FBN), solubilização de nutrientes, produção de fitohormônios, modulação da atividade patogênica e tolerância a estresses abióticos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a contribuição da inoculação de sementes de trigo com BPCV no desenvolvimento e na produtividade da cultura do trigo. O experimento foi conduzido em Ponta Grossa (PR), sob delineamento experimental de blocos ao acaso, com seis repetições. Os tratamentos consistiram em um controle, duas doses de adubação nitrogenada em cobertura, inoculação das sementes de trigo com seis diferentes estirpes de BPCV e um tratamento com a combinação de quatro estirpes bacterianas. Neste experimento foram avaliadas a emergência das plantas, componentes de produção, teor de N nas folhas e grãos e quantificação de bactérias diazotróficas presentes na rizosfera de trigo. A condição climática durante o experimento afetou o desenvolvimento e a produtividade do trigo, contribuindo com a obtenção de baixos níveis de produtividade e interferindo na resposta das plantas à inoculação com BPCV. Contudo, a inoculação das sementes com *Pseudomonas* sp. H2D apresentou o maior valor de número de plantas de trigo por metro linear na fase de perfilhamento da cultura, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Embora os demais parâmetros avaliados não tenham demonstrado diferença estatística, os resultados com o uso das BPCV são bastante promissores e novos testes devem ser realizados para a melhor compreensão do efeito da inoculação em diferentes condições de cultivo.

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), quantificação de bactérias diazotróficas, estresse hídrico.

DEVELOPMENT AND PRODUCTIVITY OF WHEAT IN FUNCTION OF INOCULATION OF PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA

ABSTRACT

Wheat represents the most important winter crop of southern Brazil, because it is characterized as the staple food of the population. The nutrient that most limits wheat productivity is nitrogen (N), therefore, the practice of nitrogen fertilization is common and responsible for the high cost of agricultural production, besides being a considerable source of environmental contamination. In order to reduce the use of chemical fertilizers, a promising alternative is the use of Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB), which have the benefits of biological nitrogen fixation (BNF), nutrient solubilization, phytohormone production, pathogenic activity and tolerance to abiotic stresses. In this sense, the present work had the objective of evaluating the contribution of the inoculation of wheat seeds with PGPB in the development and productivity of the wheat crop. The experiment was conducted in Ponta Grossa (PR), under a randomized block experimental design, with six replicates. The treatments consisted of one control, two doses of nitrogen fertilization in the cover, inoculation of wheat seeds with six different strains of PGPB and a treatment with the combination of four bacterial strains. In this experiment the emergence of plants, yield components, N content in the leaves and grains and quantification of diazotrophic bacteria present in the wheat rhizosphere were evaluated. The climatic condition during the experiment affected the development and productivity of wheat, contributing to low yields and interfering with the response of plants to PGPB inoculation. However, seed inoculation with *Pseudomonas* sp. H2D presented the highest number of wheat plants per linear meter in the tillering phase of the crop, differing statistically from the other treatments. Although the other parameters evaluated did not show statistical difference, the results with the use of PGPB are very promising and new tests should be performed to better understand the effect of inoculation in different culture conditions.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation (BNF), quantification of diazotrophic bacteria, hydric stress.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Área e produtividade do trigo no Paraná (1977 – 2016).....16
- Figura 2** - Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 20 anos) e precipitação pluvial mensal, temperatura máxima e mínima ocorrida durante os meses de realização do experimento.....28
- Figura 3** - Presença de película, a qual caracteriza a bactéria como sendo positiva para a fixação biológica de nitrogênio.....33
- Figura 4** - Valores de precipitação e temperatura média representados em decêndios, durante a fase inicial do desenvolvimento da cultura do trigo.....36
- Figura 5** - Produtividade de grãos de trigo e incremento de produtividade em relação ao controle (Tratamento 1).....41

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Resultado da análise química do solo, da porção rizosférica de plantas de trigo, durante a realização do experimento..... | 27 |
| Tabela 2 - Identificação das BPCV utilizadas na inoculação de sementes de trigo..... | 29 |
| Tabela 3 - Representação das atividades bioquímicas dos isolados bacterianos usados na cultura do trigo..... | 29 |
| Tabela 4 - Descrição dos tratamentos que foram utilizados em sementes de trigo, cultivar TBIO Sossego..... | 30 |
| Tabela 5 - Número de plantas de trigo por metro no estágio 1 e no estágio 3, segundo escala fenológica de Feekes (1940), modificada por Large (1954)..... | 35 |
| Tabela 6 - Produtividade de grãos e componentes de rendimento da cultura do trigo..... | 38 |
| Tabela 7 - Teor de nitrogênio em folhas e grãos de trigo..... | 43 |
| Tabela 8 - Quantificação de bactérias diazotróficas pelo método do Número Mais Provável (NMP) em solo rizosférico de plantas de trigo submetidas a diversos tratamentos..... | 46 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 15 |
| 2.1 A CULTURA DO TRIGO..... | 15 |
| 2.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL..... | 17 |
| 2.2.1 BPCV e o ciclo de nitrogênio..... | 18 |
| 2.2.2 BPCV e o estresse hídrico..... | 19 |
| 2.2.3 BPCV como alternativa para produção agrícola..... | 21 |
| 3 OBJETIVOS..... | 25 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 25 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 25 |
| 4 HIPÓTESES..... | 26 |
| 5 MATERIAL E MÉTODOS..... | 27 |
| 5.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E CLIMA.... | 27 |
| 5.2 MATERIAIS..... | 28 |
| 5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL..... | 30 |
| 5.4 PREPARO DO INOCULANTE, SEMEADURA E MANEJO..... | 31 |
| 5.5 AVALIAÇÕES..... | 31 |
| 5.5.1 Contagem de plantas..... | 31 |
| 5.5.2 Análise do teor de nitrogênio nas folhas e grãos de trigo..... | 32 |
| 5.5.3 Quantificação de diazotróficos..... | 32 |
| 5.5.4 Produtividade de grãos, peso do hectolitro e peso de mil grãos..... | 34 |
| 5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 34 |
| 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 35 |
| 6.1 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE TRIGO..... | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 6.2 COMPONENTES DE PRODUÇÃO..... | 37 |
| 6.3 TEOR DE NITROGÊNIO EM FOLHAS E GRÃOS DE TRIGO..... | 43 |
| 6.4 QUANTIFICAÇÃO DE DIAZOTRÓFICOS..... | 45 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 48 |
| 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 49 |
| REFERÊNCIAS..... | 50 |

1 INTRODUÇÃO

O trigo é uma poácea pertencente ao gênero *Triticum*, o qual apresenta cerca de 30 tipos geneticamente diferenciados. A espécie *Triticum aestivum* é responsável por mais de 75% da produção mundial de trigo devido às suas qualidades para panificação (EMBRAPA, 2017). O trigo representa a cultura de inverno de maior importância econômica no sul do Brasil, pois é caracterizado como alimento básico da população, visto que é o principal ingrediente para fabricação de pães, bolachas, farinhas e bolos (BAZZAN, 2013).

A produção brasileira de trigo na safra 2017 sofreu redução de 36,6% em relação à safra anterior, devido as condições climáticas desfavoráveis e também pela redução da área plantada na ordem de 10% (CONAB, 2018a). Estima-se que um aumento de 60% na produção de trigo será necessário para atender a demanda do mercado nos próximos dez anos, porém, este processo é desafiador devido aos vários fatores ambientais limitantes (VICKI, 2001). Conforme a demanda de alimentos aumenta, a produção agrícola deve se intensificar e mais insumos, como a fertilização química por exemplo, serão necessários (DI SALVO et al., 2018).

O nitrogênio (N) é o principal limitante da produção de poáceas de alto rendimento de grãos, como o milho e o trigo; portanto, a prática de adubação nitrogenada se faz comum e responsável pelo elevado custo da produção agrícola (MELLO, 2012). Contudo, sabe-se que estes sistemas produtivos podem produzir efeitos negativos ao meio ambiente e por essa razão, atualmente, muitos autores estão propondo uma “nova revolução verde” com o objetivo de aumentar o rendimento de grãos através de uma melhor compreensão das interações solo-planta e do manejo de microrganismos benéficos do solo (GEWIN, 2010).

Visando uma agricultura sustentável, com baixo custo de manejo, menor dependência da importação de insumos e de forma não poluente, estudos têm demonstrado aumento significativo na produtividade de grãos de trigo através da utilização de bactérias diazotróficas, as quais são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (SALA et al., 2007).

Diversas bactérias, incluindo ou não espécies diazotróficas, são denominadas de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV), as quais podem auxiliar por

diversos mecanismos o crescimento e o rendimento das plantas (BASHAN; HOLGUIN; DE BASHAN, 2004). Além da fixação biológica de nitrogênio (FBN), as BPCV apresentam outros efeitos benéficos, como a solubilização de nutrientes, produção de fito-hormônios, modulação da atividade patogênica e tolerância a estresse hídrico e salino (COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, 2010). Porém, estudos com poáceas são recentes quando comparado às leguminosas, mas já se têm obtido resultados positivos com a inoculação das sementes com tais bactérias (ROSÁRIO, 2013).

Buscando compreender melhor a influência da inoculação de sementes de trigo com Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV), este trabalho servirá de apoio para possíveis respostas quanto ao desenvolvimento e produtividade da cultura do trigo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO TRIGO

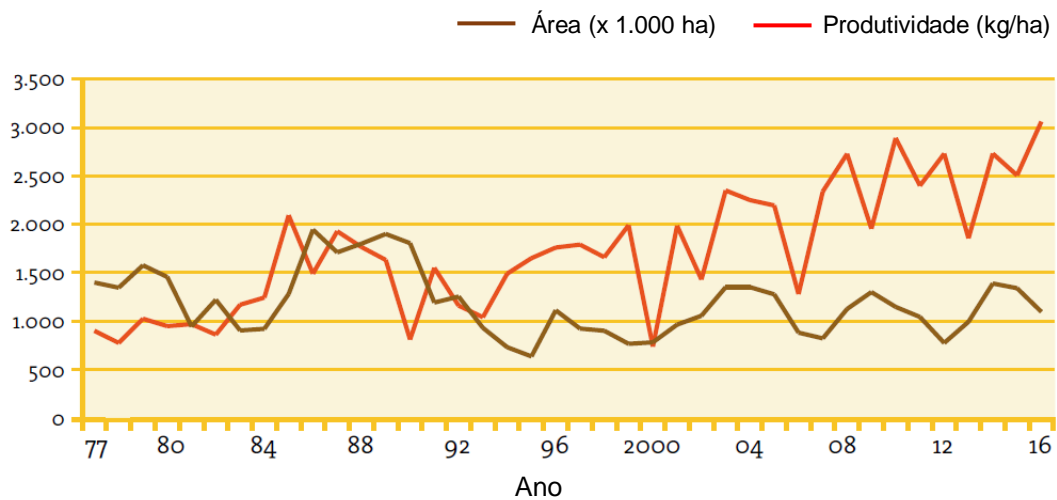
A cultura do trigo é considerada uma das primeiras espécies cultivadas no mundo e se enquadra entre as mais importantes para alimentação humana (JOSHI *et al.*, 2007). O trigo faz parte da família Poaceae, gênero *Triticum*, onde as principais espécies cultivadas são *Triticum monococcum*, *Triticum durum* e *Triticum aestivum* (LEON; ROSELL, 2007).

O trigo destaca-se por ser um dos três cereais mais cultivados do mundo, juntamente com o milho e o arroz, merecendo sua importância na economia global (TAKEITI, 2015). No Paraná, o cultivo de trigo é fundamental para o sistema produtivo, exercendo a sua função na rotação de culturas e na cobertura do solo durante o inverno, fatores estes primordiais no sistema de plantio direto (BRUM; MÜLLER, 2008).

Vários fatores bióticos e abióticos influenciam a produtividade e qualidade dos grãos de trigo, sendo a fertilidade do solo um importante fator, onde o nitrogênio é o nutriente fundamental para a produção de trigo (MELLO, 2012). Segundo Dobbelaere *et al.* (2002) as plantas de trigo conseguem utilizar apenas 50% do fertilizante nitrogenado aplicado, sendo o restante perdido devido a lixiviação e desnitrificação.

O nutriente que mais limita a produtividade do trigo é o nitrogênio, pois determina o número de perfilhos e é essencial para a fase de formação dos nós, no início do alongamento (DOBBELAERE *et al.*, 2002). De acordo com Bennett *et al.* (2011), o nitrogênio é responsável por incrementar o número de espiguetas, número de grãos por espiga e o peso hectolítrico.

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017a), após o fim do monopólio estatal na comercialização do trigo em 1990, a área cultivada no estado do Paraná decresceu, apresentando oscilações ao redor de uma área média cultivada de 1,050 milhão de hectares por safra. Além disso, a produtividade exibe uma tendência de alta, passando de 900 kg ha⁻¹ em 1977 para aproximadamente 3.000 kg ha⁻¹ em 2016, como mostra a Figura 1.

Figura 1 - Área e produtividade do trigo no estado do Paraná (1977 – 2016).

Fonte: CONAB (2017a).

A cultura do trigo possui extrema importância no estado do Paraná, sendo este o maior estado produtor do cereal, possuindo a maior área cultivada com o produto (CONAB, 2018b). Devido à estiagem nos meses de julho, agosto e setembro e em menor escala, das geadas e chuvas intensas no Paraná (CONAB, 2017b), houve uma redução na produtividade na ordem de 26,5% em comparação com a safra de 2016, a qual recuou para 2.308 kg ha⁻¹ em 2017 (CONAB, 2018a). A média nacional de produtividade na safra 2017 foi de 2.225 kg ha⁻¹, aproximadamente 30% a menos que na safra 2016, totalizando uma produção de 4,26 milhões de toneladas. No entanto, essa produção não supre a demanda interna nacional, a qual corresponde a aproximadamente 14 milhões de toneladas, sendo necessário importar trigo de outros países (CONAB, 2018a).

A obtenção de renda com a cultura do trigo não é fator preponderante para o seu cultivo, pois raramente há lucro significativo com o produto em consequência do alto custo operacional, baixo preço do cereal no mercado ou ocorrência de fatores climáticos que alteram a qualidade do grão, dificultando sua comercialização (CONAB, 2017a).

Segundo Baumgratz *et al.* (2017) para maximizar o desempenho econômico-financeiro em meio aos riscos e as instabilidades do mercado de trigo, é necessário gerir com eficiência as atividades agrícolas, abordando princípios fundamentais, como

a minimização de custos, otimização da utilização do espaço produtivo e a obtenção de níveis de produtividade significativos.

2.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

Segundo Gholami; Shahsavani e Nezarat (2009) as Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV) são assim denominadas devido aos efeitos benéficos que proporcionam ao crescimento das plantas. Diversos mecanismos de promoção do crescimento vegetal são descritos, como a fixação biológica do nitrogênio (FBN), solubilização de fosfato, produção de fito-hormônios e modulação da atividade patogênica (COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, 2010). Além disso, essas bactérias podem melhorar a tolerância contra estresses, como a seca, alta salinidade, toxicidade a metais e agrotóxicos (BASHAN *et al.*, 2008).

A capacidade das BPCV em modificar o metabolismo da planta tem sido descrita em vários estudos, tanto em condições normais quanto de estresse (KASIM *et al.*, 2013). De acordo com Di Salvo *et al.* (2018) o nível de resposta da inoculação é definido por interações complexas entre microrganismos e plantas, muitas delas ainda desconhecidas.

Garcia *et al.* (2015) relatam que o modo de ação das diferentes BPCV variam de acordo com a planta hospedeira. Além disso, Vacheron *et al.* (2013) a resposta a inoculação com BPCV também sofre influência de vários fatores bióticos (genótipos das plantas, estágios de desenvolvimento das plantas, outros membros da comunidade microbiana) e fatores abióticos (composição do solo, manejo do solo e condições climáticas).

Diversos gêneros de BPCV são descritos, incluindo *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Anabaena*, *Arthrobacter*, *Azoarcos*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Frankia*, *Hydrogenophaga*, *Kluyvera*, *Microcoleus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptomyces* e *Vibrio* (BASHAN *et al.*, 2008).

Segundo Dobbelaere *et al.* (2001), o gênero *Azospirillum* sp. faz parte das bactérias de vida livre e são consideradas BPCV, as quais são capazes de afetar o crescimento e o rendimento de numerosas espécies de plantas com grande

importância agronômica e ecológica. Diversos pesquisadores têm demonstrado grande interesse pelo gênero *Azospirillum*, sendo *Azospirillum brasilense* a principal bactéria estudada, a qual foi descoberta no início dos anos 70 por Johanna Döbereiner e pesquisadores da Embrapa Agrobiologia (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994).

De acordo com Tien; Gaskins e Hubbell (1979) um dos principais mecanismos propostos para explicar a promoção do crescimento das plantas pela inoculação de *Azospirillum* sp. tem sido relacionado à sua capacidade de produzir e metabolizar vários fito-hormônios e outras moléculas de regulação do crescimento da planta.

2.2.1 BPCV e o ciclo de nitrogênio

Em sua maioria, os solos brasileiros possuem baixos teores de nitrogênio disponível, o que torna a adubação nitrogenada uma prática indispensável, onde os fertilizantes inorgânicos constituem a principal forma de adição deste nutriente nos solos (DARTORA *et al.*, 2013). Porém, o uso intensivo de fertilizantes químicos na agricultura constitui um importante componente dos custos de produção e representa uma fonte considerável de contaminação ambiental, podendo atingir recursos de águas subterrâneas, lagos e rios (KUMMU *et al.*, 2012).

O uso de processos biológicos representa uma alternativa promissora para reduzir a utilização de fertilizantes químicos através da inoculação de bactérias diazotróficas, as quais fazem parte do grupo de BPCV e são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (N_2), tornando-o disponível para as plantas através da conversão enzimática do N_2 em íons amônio (NH_4^+) (MARIN *et al.*, 1999). Devido ao alto custo dos fertilizantes nitrogenados, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo mais estudado na biologia do solo (DOBEREINER, 1989).

O processo de FBN em poáceas é realizado por bactérias diazotróficas livres ou em simbiose com plantas (BHATTACHARJEE; SINGH; MUKHOPADHYAY, 2008). O grupo de genes necessários para a FBN varia muito entre os diversos gêneros de Archaea e Bacteria (Dos SANTOS *et al.*, 2012). Um núcleo mínimo de três genes catalíticos (*nifHDK*) e três biossintéticos (*nifENB*) é conservado na maioria dos diazotróficos (Dos SANTOS *et al.*, 2012). Outros genes necessários para a

biossíntese e atividade da nitrogenase são menos conservados, como *ntr*, *fix*, *fdx*, *nod*, etc (YANG *et al.*, 2014).

De acordo com a Embrapa (2016) a inoculação de sementes de trigo com *Azospirillum* pode suprir com no máximo 30 kg ha⁻¹ de N. Segundo os mesmos autores, os fatores que afetam a disponibilidade de N também se refletirão na eficiência do *Azospirillum* em ser fonte de N para o trigo e a eficiência agrônômica dos inoculantes pode variar em função das condições de cultivo do trigo.

A substituição total ou parcial de fertilizantes químicos através do uso de BPCV pode reduzir os custos de produção, bem como ajudar a mitigar os impactos ambientais negativos das atividades agrícolas (FUKAMI *et al.*, 2016). Em vários estudos foi constatado que a inoculação de BPCV, tanto em poáceas quanto em leguminosas, reduziu o uso de fertilizantes químicos, especialmente o nitrogênio, na ordem de 20 a 50% e forneceu resultados superiores quando fertilizantes orgânicos foram incorporados (BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004).

Devido a extensa área cultivada com cereais, a FBN torna-se uma alternativa para essas culturas, mesmo que apenas parte da demanda de nitrogênio seja suprida por este método (GALINDO, 2015). De acordo com pesquisas realizadas no Brasil por Hungria *et al.* (2010), considerando a substituição parcial (50%) do fertilizante nitrogenado exigido pelas culturas de milho e trigo por *Azospirillum brasilense*, seria esperado uma economia de 1,2 bilhões de dólares por ano, sendo assim a utilização de inoculantes a base de *Azospirillum* sp. apresenta como objetivo a redução no uso de fertilizantes químicos.

A combinação da FBN com outras características da promoção do crescimento das plantas tem demonstrado que as BPCV são uma alternativa eficiente e viável aos fertilizantes químicos, visando a máxima produção juntamente com a preservação ambiental (KENNEDY; CHOUDHURY; KECSKÉS, 2004).

2.2.2 BPCV e o estresse hídrico

O estresse hídrico está entre os estresses abióticos mais limitantes a produção vegetal e o aumento da sua intensidade, nas últimas décadas, está afetando a segurança alimentar mundial (VURUKONDA *et al.*, 2016). Kasim *et al.* (2013) afirmam

que a seca pode causar sérios problemas de crescimento nas plantas, em mais de 50% dos solos aráveis até 2050. De acordo com Lesk; Rowhani e Ramankutty (2016) a seca representa uma das principais limitações à produção de alimentos em todo o mundo, sendo que durante o período de 1964 a 2007 houve uma redução na produção de cereais na ordem de 9 a 10%.

Rubin; Van Groenigen e Hungate (2017) indicaram através de uma meta-análise que as BPCV podem melhorar consideravelmente o desempenho das plantas, obtendo um efeito maior sob a massa de parte aérea e rendimento reprodutivo em condições de seca quando comparado às condições com suficiência de água. Várias BPCV são capazes de induzir a tolerância a estresses abióticos em algumas plantas, como o estresse salino e hídrico na cultura do trigo (CREUS; SUELDO; BARASSI, 2004).

Segundo Vurukonda *et al.* (2016) os mecanismos utilizados pelas BPCV para promover o crescimento das plantas em condições de seca são variados e envolvem a produção de exopolissacarídeos (EPS), fitormônios, 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminase, compostos voláteis, acúmulo de osmólitos, antioxidantes, regulação de genes responsivos ao estresse hídrico e alterações na morfologia radicular, os quais desempenham um papel significativo no alívio do estresse hídrico nas plantas. Um exemplo é a estirpe de *Bacillus licheniformis*, que pode produzir ACC desaminase, a qual degrada o etileno, hormônio vegetal responsável pela redução do crescimento das raízes e parte aérea em condições de seca (LIM; KIM, 2013).

Segundo Huang; DaCosta e Jiang (2014) entre as muitas características adaptativas que as plantas possuem para suportar a seca, a arquitetura do sistema radicular é uma das mais importantes. Nesse contexto, as BPCV, através do aumento das concentrações de AIA (ácido indol acético), podem aumentar o comprimento das raízes laterais e modificar a arquitetura das mesmas (CONTESTO *et al.*, 2010). Wasson *et al.* (2012) citam a correlação existente entre o sistema radicular profundo e prolífico com a resistência à seca em várias culturas, incluindo o trigo.

De acordo com Timmusk *et al.* (2014), as BPCV podem realizar uma adaptação física em solos mais secos através da produção de uma matriz extracelular formada

por oligossacarídeos e polissacarídeos, os quais aumentam a capacidade de retenção de água no solo.

Diversas BPCV podem promover tolerância à seca através de diferentes mecanismos e representam uma abordagem promissora para reduzir o estresse hídrico em plantas de trigo, melhorando seu crescimento, além de apresentar menor atividade enzimática antioxidante, reduzindo assim os níveis de espécies reativas de oxigênio em plantas submetidas à condição de seca (KASIM *et al.*, 2013).

Mancosu *et al.* (2015) afirmam que existe a necessidade de encontrar soluções que visem aumentar a tolerância das plantas ao estresse hídrico, permitindo o crescimento das culturas para que satisfaçam a demanda de alimentos, porém, com uma disponibilidade limitada de recursos hídricos.

Apesar do papel desempenhado pelas BPCV na promoção do crescimento das plantas, manejo de nutrientes e controle de doenças ser bem conhecido, o mesmo não acontece com o manejo relacionado ao estresse abiótico, como a seca, a qual ganhou importância recentemente (YANG; KLOEPPER; MIN RYU, 2009).

2.2.3 BPCV como alternativa para a produção agrícola

Díaz-Zorita e Fernández-Canigia (2009) avaliaram a inoculação de trigo com *Azospirillum brasilense* em 297 locais da Argentina, os quais apresentaram resultados positivos, com até 6% de aumento no rendimento em 70% dos casos. No Brasil, ensaios a campo demonstraram aumento de 18% no rendimento de grãos de trigo inoculado com *A. brasilense* (HUNGRIA *et al.*, 2010).

Através de análise agregada de diversos artigos publicados, Veresoglou e Menexes (2010) descreveram que as respostas de produtividade de grãos de trigo à inoculação correspondem a aproximadamente 50% do peso seco da parte aérea. Cassán e Diaz-Zorita (2016) demonstraram que os benefícios no rendimento de grãos são explicados principalmente pelo aumento da quantidade de grãos produzida em consequência ao melhor crescimento vegetativo em culturas inoculadas, obtendo efeitos mínimos no peso de grãos ou em sua composição.

Veresoglou e Menexes (2010) avaliaram a interação trigo-*Azospirillum* e encontraram resultados onde a inoculação aumentou o rendimento de grãos de trigo

em 9% e a massa da parte aérea em 18%. Porém, Rubin; Van Groenigen e Hungate (2017) obtiveram 15% de incremento no rendimento de grãos de trigo inoculados com *Azospirillum* e 5% de incremento na massa da parte aérea, não encontrando um padrão consistente para as respostas.

Ensaio testando diferentes estirpes de *A. brasilense* e *A. lipoferum* nas culturas de milho e trigo demonstraram que a inoculação com *A. brasilense* resultou em incrementos de 24 a 30% no rendimento de grãos de milho quando comparado ao controle sem inoculação, o que proporcionou a identificação das primeiras estirpes autorizadas para a produção de inoculantes comerciais no Brasil (HUNGRIA *et al.*, 2010).

Dartora *et al.* (2013) observaram incremento de 15% no diâmetro basal do colmo de milho com a inoculação combinada de *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* em relação a testemunha, atribuindo este resultado ao efeito da promoção do crescimento proporcionado pelas bactérias diazotróficas. Na cultura do trigo, a inoculação das sementes com *A. brasilense* apresentou resultados na manutenção de perfilhos férteis, maior extração de nitrogênio e acúmulo nos grãos, aumento da produção através de grãos mais pesados e cheios e maior desenvolvimento radicular (SALA *et al.*, 2007).

Outros gêneros bacterianos também são descritos como benéficos às plantas, dentre os quais o gênero *Burkholderia* sp., o qual foi observado na rizosfera de cana-de-açúcar apresentando mecanismos de ação eficientes quanto a inibição do crescimento de agentes patogênicos, solubilização de fosfato e a produção de AIA (LUVIZOTTO *et al.*, 2010). Segundo Teixeira *et al.* (2016) este gênero bacteriano apresenta potencial para ser submetido a experimentos de promoção do crescimento vegetal em campo, sob condições de estresse salino e hídrico.

De acordo com Perez-Montano *et al.* (2014), a inoculação de *Pseudomonas fluorescens* no trigo, estirpe produtora de ACC-desaminase, resultou na diminuição das doses de nitrogênio, fósforo e potássio. Além disso, a cultura do trigo apresentou maior rendimento de grãos, índice de colheita e teor de proteína com doses de fertilizantes abaixo do que as convencionalmente aplicadas.

Chihaoui *et al.* (2015) observaram efeito benéfico da inoculação do solo com a estirpe *Agrobacterium* sp. 10C2, apresentando incrementos de 54% no número de nódulos, 157% no peso fresco dos nódulos, 16% na biomassa da parte aérea e 53% no teor de fósforo nos grãos de feijão. Segundo Li *et al.* (2008), os gêneros bacterianos *Pantoea*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Agrobacterium* e *Burkholderia* foram capazes de produzir AIA, solubilizar fosfato e fixar nitrogênio, sugerindo que estas bactérias são promissoras para futuros estudos de promoção de crescimento vegetal.

Döbereiner (1989) ressalta que existe diferença entre genótipos de poáceas em relação à FBN, o que representa um grande potencial para uma melhor exploração através do melhoramento vegetal. Existem estudos que corroboram com esta afirmação, onde destacam que o genótipo da planta é o fator-chave para se obter benefícios oriundos da FBN associado a seleção de estirpes eficientes (REIS *et al.*, 2000).

A alta variação vista entre os resultados experimentais em campo é a principal barreira que dificulta a aceitação do uso comercial generalizado de microrganismos promotores do crescimento de plantas, como o *Azospirillum* sp. pelos agricultores (DOBELAERE *et al.*, 2001). Cassán e Diaz-Zorita (2016) relataram que essa variação da resposta ao inoculante depende da quantidade de adubação nitrogenada, da identidade das cultivares de trigo, do tipo de solo e da temperatura.

O aumento da utilização da FBN pelas poáceas é um dos maiores desafios da pesquisa em biologia do solo, visto que as poáceas não formam nódulos com bactérias fixadoras de N₂ como acontece com as leguminosas (DÖBEREINER, 1989). No entanto, com a perspectiva de aumento da produção agrícola e economia no uso de fertilizantes nitrogenados, as bactérias do gênero *Azospirillum* têm sido muito estudadas. Os efeitos proporcionados pela utilização de *Azospirillum* assim como outras BPCV, fornecendo melhorias no aproveitamento de nitrogênio, diminuindo assim os custos com fertilizantes nitrogenados, principalmente em poáceas, são bastante promissores (FERREIRA *et al.*, 2017).

Portanto, o estudo visando encontrar novas estirpes, as quais sejam eficientes na promoção do crescimento de plantas de trigo é de extrema importância para a

agricultura, a qual busca por maiores produtividades associada a um propósito mais sustentável e mais econômico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a contribuição da inoculação de sementes de trigo com Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV) no desenvolvimento e produtividade da cultura do trigo em campo experimental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a influência da inoculação de BPCV no estabelecimento de plantas da cultura do trigo;
- Determinar o número mais provável de bactérias diazotróficas presentes na rizosfera de plantas de trigo submetidas a diversos tratamentos;
- Verificar se a inoculação com BPCV contribui com o fornecimento de nitrogênio para a cultura do trigo;
- Determinar o efeito da inoculação com BPCV sobre o rendimento e qualidade de grãos de trigo (peso do hectolitro, peso de mil grãos e teor de nitrogênio).

4 HIPÓTESES

- i. A inoculação das sementes com BPCV é capaz de auxiliar o crescimento e desenvolvimento de plantas de trigo.
- ii. As bactérias diazotróficas contribuem com o fornecimento de nitrogênio para a cultura em questão, visto que estas são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico.
- iii. A utilização de BPCV em sementes de trigo incrementa a produtividade e a qualidade dos grãos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO E CLIMA

O ensaio experimental foi conduzido entre os meses de junho a novembro de 2017 no município de Ponta Grossa (PR), na Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), sob as coordenadas geográficas 25°05'33"S e 50°03'03" W e altitude de 1.002 m.

O solo do local está localizado sob um relevo ondulado, no terço médio de uma topossequência de transição entre Latossolo e Cambissolo, sendo estas as classes de solo que mais predominam na região dos Campos Gerais (SÁ, 2014). As características físicas e químicas do solo utilizado estão apresentadas na Tabela 1.

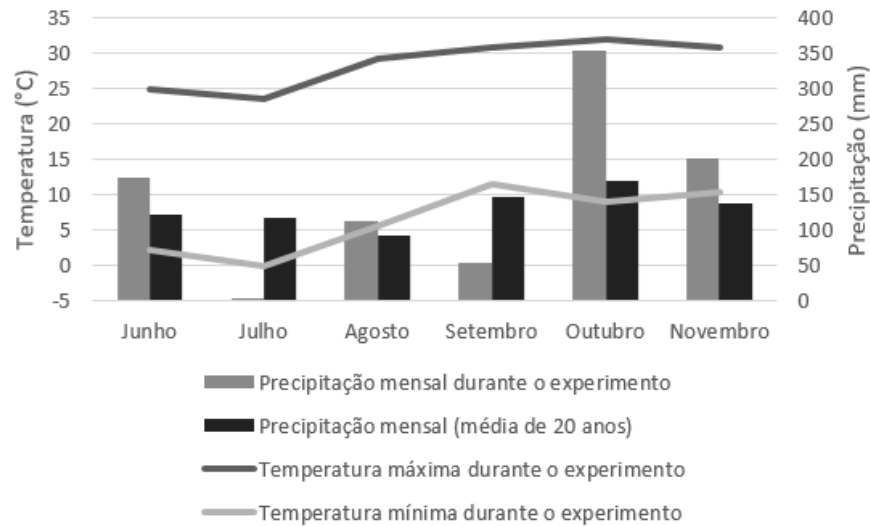
Tabela 1 – Resultado da análise física e química do solo, da camada 0-20 cm, antes da realização do experimento.

| pH | (H+Al) | Al | Ca | Mg | K | P ¹ | C ² | CTC ³ | V ⁴ | Areia | Silte | Argila |
|-------------------|--------|------------------------------------|-------|-------|-------|---------------------|--------------------|------------------------------------|----------------|-------|--------------------|--------|
| CaCl ₂ | ----- | cmol _c dm ⁻³ | ----- | ----- | ----- | mg dm ⁻³ | g dm ⁻³ | cmol _c dm ⁻³ | % | ----- | g kg ⁻¹ | ----- |
| 5 | 4,1 | 0,1 | 2,3 | 0,6 | 0,2 | 28,7 | 14,8 | 7,2 | 42,6 | 750 | 70 | 180 |

¹ P extraído com solução de Mehlich-1. ² Carbono orgânico. ³ Capacidade de troca catiônica pH 7,0. ⁴ Saturação por bases.

De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima da região é classificado como Cfb – clima temperado, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C e temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C, com verões frescos e sem estação seca definida (IAPAR, 2018). Os dados de temperatura mínima, temperatura máxima e precipitação pluvial ocorrida durante o experimento podem ser observados na Figura 2, além da precipitação média mensal ocorrida em Ponta Grossa, obtida através do conjunto de dados de 1997 até 2017 (INSTITUTO DAS ÁGUAS DO PARANÁ, 2019).

Figura 2 – Precipitação pluvial mensal da região de Ponta Grossa (média de 20 anos) e precipitação pluvial mensal, temperatura máxima e mínima ocorrida durante os meses de realização do experimento.



Fontes: Mini Farm – BASF/SA – Ponta Grossa e Instituto das Águas do Paraná, 2019.

5.2 MATERIAIS

Foram utilizadas neste experimento sementes de trigo do cultivar TBIO Sossego, fornecidas gentilmente pela Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), as quais não receberam tratamento químico de sementes.

Para a inoculação das sementes foi utilizado o inoculante comercial *Azospirillum brasilense* Abv5 e Abv6 e outras cinco potenciais Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (BPCV), as quais foram isoladas e identificadas por Souza (2013) através do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em conjunto com o Núcleo de Fixação Biológica de Nitrogênio da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os respectivos códigos e identificação destas bactérias estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Identificação das BPCV utilizadas na inoculação de sementes de trigo.

| Código | Identificação |
|---------------|--------------------------------|
| HM053 | <i>Azospirillum brasilense</i> |
| 5V3 | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 |
| H2D | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D |
| C7D | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D |
| 10N6 | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 |

As BPCV utilizadas neste experimento, foram previamente selecionadas através de testes bioquímicos realizados pelo LABMOM para determinar as atividades positivas de cada isolado bacteriano. Também foram realizados testes em casa de vegetação para determinar o efeito dessas bactérias na promoção do crescimento das plantas. Através desses resultados, as bactérias mais promissoras foram selecionadas para utilização neste experimento e estão descritas na Tabela 4.

O isolado *A. brasilense* HM053 foi caracterizado pelo Núcleo de Fixação Biológica de Nitrogênio da Universidade Federal do Paraná. O *A. brasilense* HM053 é um mutante espontâneo da estirpe *A. brasilense* Sp7 e possui a capacidade de excretar amônio e fixar nitrogênio constitutivamente, mesmo na presença de alta concentração de NH_4^+ (MACHADO *et al.*, 1991).

Tabela 3 – Representação das atividades bioquímicas dos isolados bacterianos usados na cultura do trigo.

| Atividades | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Protease | X | | | X |
| Solubilização de fosfato | | X | | X |
| Ácido indol acético | X | X | X | X |
| Sideróforo | X | | | X |
| FBN | X | X | X | X |

Fonte: SOUZA (2013); SILVA *et al.* (2015).

5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O ensaio foi conduzido sob delineamento experimental de blocos ao acaso, com 10 tratamentos e 6 repetições. Cada parcela experimental apresentou 3,6 m de largura e 8 m de comprimento, totalizando uma área de 28,8 m². Para fins de avaliação do desempenho dos tratamentos, a área útil de cada parcela foi de 9,6 m². A descrição dos tratamentos utilizados encontra-se na Tabela 3.

Tabela 4 – Descrição dos tratamentos que foram utilizados em sementes de trigo, cultivar TBIO Sossego.

| Tratamento | Inoculante | N em cobertura |
|----------------|--------------------------------|-------------------------|
| 1 (Testemunha) | - | - |
| 2 | - | 50 kg ha ⁻¹ |
| 3 | - | 100 kg ha ⁻¹ |
| 4 | <i>A. brasilense</i> Abv5/Abv6 | - |
| 5 | <i>A. brasilense</i> HM053 | - |
| 6 | 5V3 | - |
| 7 | H2D | - |
| 8 | C7D | - |
| 9 | 10N6 | - |
| 10 | 5V3 + H2D + C7D + 10N6 | - |

A dose de inoculante utilizada para cada tratamento foi de 10 mL para cada 2,5 kg de sementes, conforme recomendação do inoculante comercial utilizado, sendo que todos os tratamentos receberam 2×10^8 unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL). Quanto a adubação nitrogenada, todos os tratamentos receberam adubação de base com 350 kg ha⁻¹ da fórmula NPK (5-25-25), o que corresponde a 17,5 kg ha⁻¹ de N, 87,5 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 87,5 kg ha⁻¹ K₂O. A adubação nitrogenada em cobertura foi determinada com base nas Informações Técnicas para Trigo e Triticale (2017), utilizando metade da dose recomendada (50 kg ha⁻¹ de N) para o Tratamento 2 e a dose recomendada (100 kg ha⁻¹ de N) para o Tratamento 3. A aplicação ocorreu a lanço no início do perfilhamento da cultura, aos 35 dias após a semeadura (DAS), na forma de nitrato de amônio (32% de N).

5.4 PREPARO DO INOCULANTE, SEMEADURA E MANEJO

Os inoculantes referentes às BPCV foram preparados no LABMOM, onde o crescimento dos isolados foi efetuado em meio líquido DIGS (DÖBEREINER; ANDRADE; BALDANI, 1999) a 30° C, sob agitação de 180 rotações por minuto (rpm) por 24 horas. As bactérias foram crescidas até a $DO_{600} = 1,0$, o que corresponde a uma concentração bacteriana de 10^8 UFC mL⁻¹, segundo curva de crescimento previamente realizada.

As sementes foram acondicionadas em sacos plásticos e o inoculante foi adicionado às sementes com o auxílio de pipetas. Em seguida, os sacos plásticos foram agitados manualmente até a completa cobertura das sementes. A semeadura ocorreu em até quatro horas após a realização da inoculação.

Cada parcela experimental recebeu 2,5 kg de sementes inoculadas conforme a descrição dos tratamentos da Tabela 3. A semeadura do trigo foi realizada no dia 29 de junho de 2017, de forma mecânica em linhas espaçadas em 0,20 m, utilizando-se 350 sementes por metro quadrado. Antes da cultura do trigo, a área experimental foi utilizada para o cultivo da soja.

A cultura do trigo foi monitorada continuamente, e quando houve detecção de pragas, doenças ou plantas daninhas foi efetuado o devido controle químico com produtos registrados para a cultura do trigo. Ao longo do ciclo da cultura foram utilizados fungicidas do grupo químico morfolina, estrobilurina e triazol. Devido à suscetibilidade da cultura ao ataque de pragas, foram realizadas aplicações com inseticidas do grupo químico piretroide e benzoilureia. Herbicidas do grupo químico sulfonilureia e fenoxiacético também foram utilizados.

5.5 AVALIAÇÕES

5.5.1 Contagem de plantas

Aos 14 dias após a semeadura (DAS), foi realizada a contagem de plantas emergidas. Para isso, foi selecionada duas linhas centrais de cada parcela e com

auxílio de uma trena delimitou-se um metro linear em cada linha, onde foi contabilizado o total de plantas emergidas e em seguida efetuou-se uma média.

Quando a cultura estava na fase final de perfilhamento (60 DAS), outra contagem do número de plantas foi realizada, utilizando-se a mesma metodologia descrita acima, porém, demarcando 50 cm em cada linha central da parcela e contabilizando o número de plantas somado ao número de perfilhos.

5.5.2 Análise do teor de nitrogênio nas folhas e grãos de trigo

No florescimento (90 DAS) da cultura do trigo, foram coletadas amostras foliares, retirando-se a folha bandeira de 15 plantas por parcela, as quais foram lavadas em água deionizada, colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até atingir massa constante e posteriormente moídas. Em seguida, os teores de nitrogênio foram determinados conforme os métodos descritos por Malavolta; Vitti e Oliveira (1997). O florescimento foi escolhido para esta avaliação por ser o estágio com maior conteúdo de N absorvido pela planta (SILVA; PIRES, 2017).

Após a colheita, amostras de grãos foram secas a 60°C e posteriormente moídas para determinação dos teores de nitrogênio nos grãos de trigo, conforme proposto por Malavolta; Vitti e Oliveira (1997).

5.5.3 Quantificação de diazotróficos

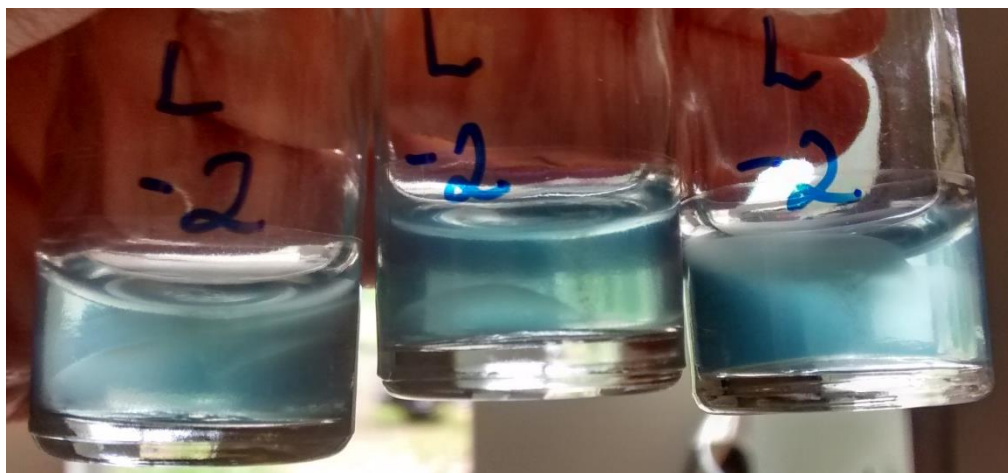
Ainda no florescimento da cultura do trigo (98 DAS), foram coletadas amostras de solo aderido à rizosfera de pelo menos oito plantas de trigo de cada parcela para realização de avaliações microbiológicas. As amostras de um mesmo tratamento foram agrupadas, secas ao ar e peneiradas, obtendo assim amostras de terra fina seca ao ar (TFSA), as quais foram armazenadas em sacos de papel até o momento das avaliações.

Para efetuar a determinação da população de diazotróficos das amostras de solo rizosférico, 10 g de TFSA de cada amostra foram incubadas com 2 mL de água destilada a 30°C por 48 h. Após este período, as amostras foram transferidas para frascos Erlenmeyer de 250 mL juntamente com 90 mL de solução salina esterilizada (NaCl 0,85%), os quais foram mantidos sob agitação orbital (80 rpm) por 15 minutos

à temperatura ambiente. Após a agitação, alíquotas da solução do solo foram coletadas para realizar as diluições seriadas das amostras (1:10 em solução salina esterilizada). Alíquotas de 0,1 mL das diluições de 10^{-2} a 10^{-6} foram inoculadas em frascos contendo 3 mL do meio de cultura semi-sólido NFb livre de nitrogênio (DÖBEREINER; ANDRADE; BALDANI, 1999), contendo 3 repetições para cada diluição e por fim, foram incubados a 30°C por um período variável entre 5 e 12 dias, possibilitando assim a quantificação da população de diazotróficos através do método do número mais provável (NMP) (DÖBEREINER, BALDANI, BALDANI, 1995; MAPA, 2017).

Após este período, os frascos que apresentaram formação de película (Figura 3), indicadora de crescimento bacteriano, foram assumidas como fixadoras de nitrogênio, ou seja, positivas para essa atividade. Nos frascos onde houve ausência de formação de película, admitiu-se caráter negativo ao teste. Para garantir a eficácia do teste, a última diluição deve apresentar todas as repetições negativas, a fim de evitar a subestimação do resultado (MAPA, 2017).

Figura 3 – Presença de película, a qual caracteriza a bactéria como sendo positiva para a fixação biológica de nitrogênio.



Fonte: A autora

Por fim, para estimar a quantidade de organismos diazotróficos (NMP), utilizou-se a tabela de MacCraday (MAPA, 2017), na qual verifica-se o número de frascos com resultado positivo em cada diluição, sendo que para fins de cálculo adotou-se três

diluições (D1, D2 e D3). Em seguida, foi utilizado a seguinte fórmula para estabelecer o número de células por grama de solo:

$$N^{\circ} \text{ de células/g} = n \times d \times f$$

onde n é o valor consultado na tabela MacCready, d é a menor diluição da série empregada e f é o fator de diluição (MAPA, 2017).

5.5.4 Produtividade de grãos, peso do hectolitro e peso de mil grãos

A produtividade dos grãos foi avaliada por meio da colheita mecanizada (colhedora Wintersteiger – modelo Classic) de 8 linhas centrais da parcela com 6 metros de comprimento, totalizando uma área útil de 9,6 m². As amostras de grãos de cada parcela foram pesadas e o peso de mil grãos também foi determinado. A umidade dos grãos e o peso hectolitro (PH) foram determinados em um medidor eletrônico (MOTOMCO Model 919[®]). Em seguida, a produtividade dos grãos foi corrigida com base na umidade de 13%.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos passaram por uma verificação das pressuposições de normalidade, homogeneidade das variâncias e ausência de outliers. Em seguida, foram submetidos a análise de variância e quando significância a 10% ($p < 0,10$) foi encontrada, a diferença entre as médias foi comparada pelo teste de Duncan a 10%. Para a variável NMP, utilizou-se a transformação dos dados de acordo com Box e Cox (1964). Todas as análises foram realizadas utilizando a linguagem R versão 3.5.1 e o pacote ExpDes (R Core Team, 2018).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE TRIGO

Nos estádios iniciais da cultura do trigo, foram realizadas a contagem do número de plantas emergidas em duas fases fenológicas distintas, como mostra a Tabela 5. Não houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) no número de plantas entre os tratamentos para a primeira contagem e para a porcentagem de incremento.

Tabela 5 – Número de plantas de trigo por metro no estádio 1 e no estádio 3, segundo escala fenológica de Feekes (1940), modificada por Large (1954).

| | Tratamentos | Estádio 1 | Estádio 3* | % de |
|----|--------------------------------|---------------|------------|--------------|
| | | Plantas/metro | | incremento** |
| 1 | 0 kg ha ⁻¹ N | 61,25 a | 106,67 b | 76,38 a |
| 2 | 50 kg ha ⁻¹ N | 55,58 a | 120,83 b | 122,83 a |
| 3 | 100 kg ha ⁻¹ N | 52,00 a | 109,50 b | 111,80 a |
| 4 | <i>A. brasilense</i> Abv5/Abv6 | 53,08 a | 117,17 b | 125,86 a |
| 5 | <i>A. brasilense</i> HM053 | 56,92 a | 108,00 b | 95,91 a |
| 6 | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 | 53,50 a | 117,50 b | 120,05 a |
| 7 | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D | 59,25 a | 147,83 a | 150,82 a |
| 8 | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D | 59,25 a | 119,00 b | 105,50 a |
| 9 | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 | 56,67 a | 116,00 b | 105,66 a |
| 10 | 5V3 + H2D + C7D + 10N6 | 52,42 a | 96,17 b | 83,41 a |

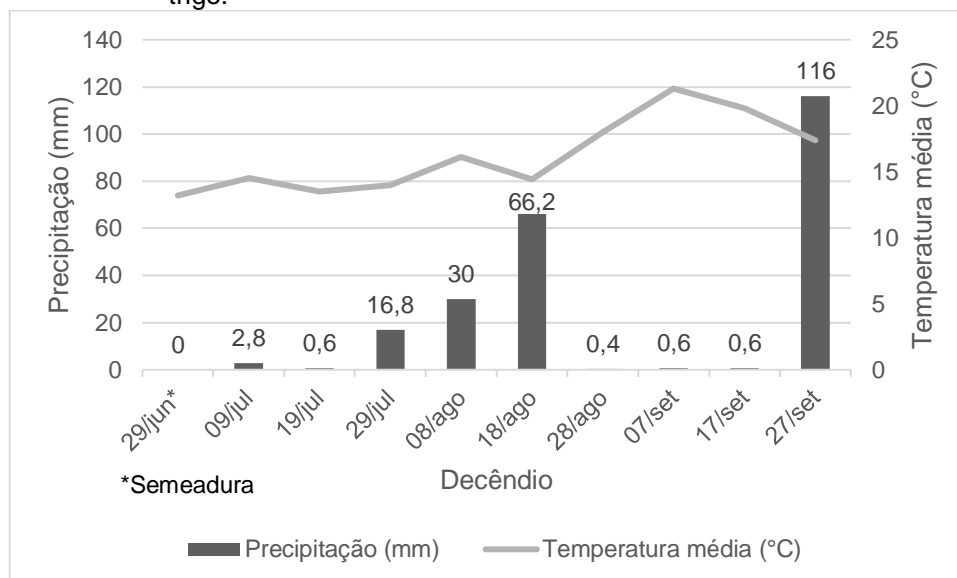
*Plantas mães + perfilhos. **Calculado com base no acréscimo do número de plantas do estádio 3 em relação ao estádio 1.

Na primeira contagem o número de plantas emergidas variou entre 52 a 61 plantas/metro, nos tratamentos 3 e 1 respectivamente. No entanto, vale ressaltar que a adubação nitrogenada em cobertura ainda não tinha sido realizada, estando esse resultado isento do efeito de nitrogênio em cobertura. Portanto, nota-se que números muito próximos foram alcançados com a inoculação de BPCV, como o tratamento 7 e 8, os quais apresentaram 59 plantas/metro, mostrando que a inoculação das sementes com BPCV não apresenta um efeito prejudicial à germinação e emergência das plântulas, visto que os tratamentos 1, 2 e 3 não foram inoculados e são iguais estatisticamente aos demais tratamentos que receberam inoculação. De acordo com Georgin *et al.* (2014) o uso de inoculante a base de *A. brasilense* em sementes de trigo não influenciou a germinação das sementes nem o índice de velocidade de emergência. No entanto, em teste realizado em casa de vegetação com a cultura de trigo, os tratamentos inoculados com *Burkholderia* sp. 10N6, *Burkholderia* sp. 5V3 e *Agrobacterium* sp. C7D apresentaram valores de índice de velocidade de emergência

significativamente superior ao tratamento com inoculante comercial e o tratamento sem inoculação (MORAES *et al.*, 2017).

Outro fator que pode ter influenciado em grande parte estes resultados foi a condição climática presente após a semeadura do trigo. Como pode ser visto na Figura 4, não foi registrado um volume de precipitação significativo após a semeadura, o que pode ter afetado a germinação e conseqüentemente a emergência das plantas de trigo, bem como o estabelecimento das bactérias na rizosfera, fazendo com que a resposta dos tratamentos se igualassem.

Figura 4 – Valores de precipitação e temperatura média representados em decêndios, durante a fase inicial do desenvolvimento da cultura do trigo.



Fonte: Mini Farm – BASF/SA – Ponta Grossa.

De acordo com Fartrigo (2019), até a fase de perfilhamento a cultura do trigo necessita de aproximadamente 55 mm de precipitação pluviométrica ao mês, podendo variar de 30 a 80 mm. Considerando o exposto na Figura 4, um volume próximo a 30 mm de precipitação ocorreu somente um mês após a semeadura do trigo. Sala *et al.* (2007) afirma que mesmo na presença de um genótipo promissor e de estirpes eficientes, caso as condições ambientais (temperatura, umidade, aeração, entre outros) não sejam favoráveis à sobrevivência e atividade bacteriana é provável que não ocorra respostas satisfatórias à inoculação.

Kasim *et al.* (2013) demonstraram que tanto a sobrevivência quanto o crescimento das plantas de trigo foram fortemente afetados pela seca em poucos dias e que a inoculação bacteriana melhorou o crescimento do trigo sob condições de estresse hídrico, conseqüentemente alcançando melhores resultados de peso fresco, seco e conteúdo de água.

Na segunda contagem houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) entre os tratamentos, sendo possível observar uma amplitude de variação maior do que na primeira contagem. Essa variação pode ser justificada pelo fato de que nesta avaliação já haviam perfilhos formados junto à planta mãe e os tratamentos 2 e 3 já haviam recebido a dose de nitrogênio em cobertura.

Um maior número de plantas foi obtido com a inoculação das sementes com *Pseudomonas* sp. H2D (Tratamento 7) sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos, o qual apresentou aproximadamente 148 plantas/metro (Tabela 5) e corrobora com resultados de testes realizados em casa de vegetação com a cultura do trigo, onde a inoculação com esta estirpe apresentou índice de velocidade de emergência superior ao controle e estatisticamente igual ao controle comercial com *A. brasilense* Abv5/Abv6 (MORAES *et al.*, 2017). Bashan *et al.* (2008) relata que a inoculação de sementes de *Phragmites australis* com *Pseudomonas asplenii* melhorou a germinação das sementes e protegeu as plantas da inibição do crescimento. Delshadi; Ebrahimi e Shirmohammadi (2017) afirmam que *Pseudomonas* sp. é um gênero de bactéria importante, a qual pode aumentar os elementos minerais do solo, bem como afetar o desenvolvimento e rendimento das plantas.

6.2 COMPONENTES DE PRODUÇÃO

Ao final do ciclo da cultura do trigo, os componentes de produção: produtividade, peso do hectolitro (PH) e peso de mil grãos (PMG) foram mensurados e estão descritos na Tabela 6. Todos os parâmetros analisados não apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) entre os tratamentos.

Segundo Pereira *et al.* (2017) o PH é um indicativo de qualidade e rendimento do trigo, o qual apresenta elevada importância para efeito de comercialização. No

Brasil, o PH igual ou superior a 78 kg hL⁻¹ para o grão limpo a 13% de umidade é considerado o valor de referência para o trigo de alta qualidade industrial.

Neste experimento, os valores de PH variaram de 75 a 76 kg hL⁻¹, não atingindo o valor de referência citado acima. Mumbach *et al.* (2017) avaliaram componentes de rendimento de trigo submetidos a diferentes doses de nitrogênio combinado a inoculação das sementes e encontraram valores de PH variando de 68,32 a 71,28 kg hL⁻¹.

Tabela 6 – Produtividade de grãos e componentes de rendimento da cultura do trigo.

| | Tratamentos | PH kg hL ⁻¹ | PMG g | Produtividade kg ha ⁻¹ |
|----|--------------------------------|----------------------------------|-----------------|---|
| 1 | 0 kg ha ⁻¹ N | 75,00 | 28,38 | 1.147,64 |
| 2 | 50 kg/ha N | 75,83 | 29,91 | 1.478,19 |
| 3 | 100 kg/ha N | 75,00 | 29,94 | 1.179,08 |
| 4 | <i>A. brasilense</i> Abv5/Abv6 | 76,00 | 30,02 | 1.565,44 |
| 5 | <i>A. brasilense</i> HM053 | 75,50 | 29,26 | 1.387,52 |
| 6 | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 | 75,16 | 28,47 | 1.124,34 |
| 7 | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D | 75,16 | 28,67 | 1.352,40 |
| 8 | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D | 75,50 | 29,42 | 1.317,76 |
| 9 | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 | 75,16 | 28,57 | 1.236,22 |
| 10 | 5V3 + H2D + C7D + 10N6 | 75,50 | 28,83 | 1.172,38 |

De acordo com Guarienti (1996), valores muito baixos de PH podem indicar problemas na lavoura, os quais podem ter afetado o enchimento de grãos e sua qualidade. Os valores baixos de PH apresentados neste estudo, podem ser justificados pelas altas temperaturas que ocorreram durante o ciclo da cultura combinado à ocorrência de chuva na fase de enchimento de grãos e maturação fisiológica (Figura 2).

No estágio de antese, a incidência de altas temperaturas resulta em menor rendimento de grãos, não pela redução no número de grãos por unidade de área, mas sim pela variação no peso dos grãos (RODRIGUES *et al.*, 2011). Neste experimento, a antese foi verificada no final de setembro e início de outubro, onde a temperatura máxima neste período variou de 30,9°C e 32°C respectivamente.

De acordo com Guarienti *et al.* (2005) o déficit hídrico do solo influenciou de forma negativa o peso do hectolitro nos períodos de 41 a 60 dias anteriores à colheita e o excesso hídrico do solo afetou negativamente o peso do hectolitro nos períodos de 1 a 20 dias antes da colheita.

Cunha *et al.* (2002) relata que o período antes da antese é responsável por determinar o número de grãos e após esse estágio os grãos são de fato enchidos e então é estabelecido a sua massa seca final no momento da maturação fisiológica. A compreensão desses aspectos relacionados com o desenvolvimento da planta de trigo é fundamental para o entendimento da formação do rendimento de grãos e das possíveis limitações causadas pelo ambiente.

A inoculação das sementes com *A. brasilense* Abv5 e Abv6 foi responsável pelo maior valor de PMG, sendo superior ao encontrado nos tratamentos que receberam apenas nitrogênio, sem inoculação. Guimarães; Vila e Santos (2015) avaliaram a inoculação de bactérias diazotróficas em trigo e não encontraram diferença significativa para o peso de mil grãos, porém, o maior valor encontrado também foi em plantas inoculadas.

Mumbach *et al.* (2017) também não encontraram diferença significativa para a massa de mil grãos de trigo, neste experimento a maior média encontrada foi de 28,86 g utilizando a inoculação de sementes combinada a adubação nitrogenada de base (20 kg de N) e adubação nitrogenada em cobertura com a meia dose de nitrogênio mineral (35 kg de N).

Quanto a produtividade dos grãos de trigo, não houve diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) entre os tratamentos. Di Salvo *et al.* (2018) avaliaram os valores médios de rendimento de grãos e biomassa aérea em três estádios fenológicos da cultura do trigo e não encontraram nenhuma diferença significativa entre os tratamentos que receberam inoculação, em nenhum dos estádios fenológicos observados.

Devido as condições climáticas em que o experimento foi conduzido, com período de déficit hídrico e altas temperaturas durante a fase vegetativa e excesso de precipitação na fase final do ciclo, a média geral da produtividade de grãos foi de 1.296,09 kg ha⁻¹. Conforme Guarienti *et al.* (2005) o déficit hídrico do solo afetou

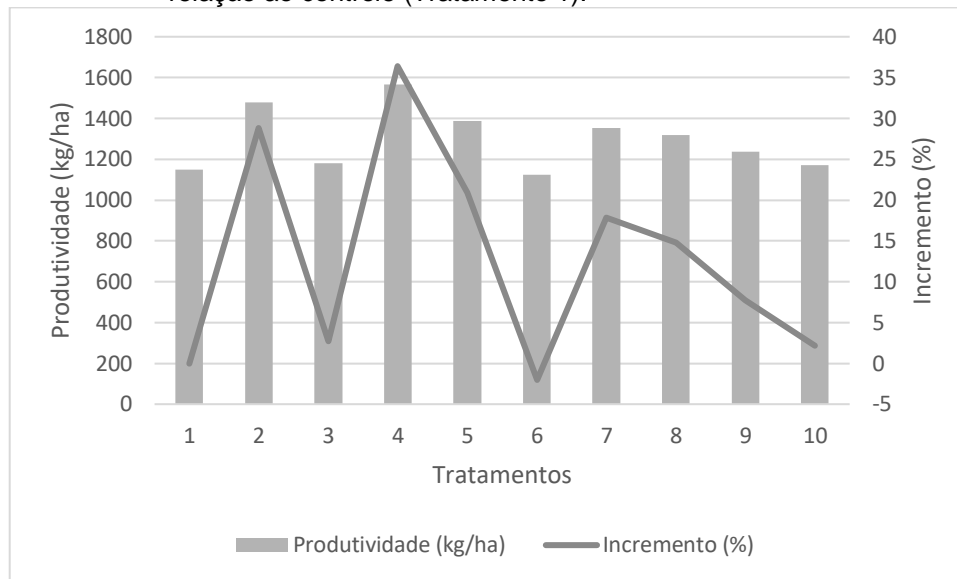
negativamente o rendimento de grãos no período compreendido entre 41 e 50 dias anteriores à colheita e o excesso hídrico do solo influenciou negativamente o rendimento no período de 11 a 20 e 61 a 70 dias antes da colheita. Wendling *et al.* (2007) afirmam que o déficit hídrico prejudicou o rendimento de grãos de trigo, resultando em uma média de produtividade de 1.701 kg ha⁻¹.

De acordo com Kiliç e Yagbasanlar (2010), para a cultura do trigo, os caracteres morfológicos mais afetados pela falta de água são: comprimento de raiz, perfilhamento, número de espigas, número de grãos por espiga, número de perfilhos férteis, peso de mil grãos, taxa fotossintética, produção de biomassa, entre outros.

Segundo o Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos (CONAB, 2018a), após o plantio de trigo da safra 2017 ser concluído no Paraná, a maior preocupação para a cultura foi o clima, o qual comprometia significativamente toda a safra e os efeitos da estiagem eram visíveis, onde as lavouras estavam pouco desenvolvidas. A estimativa de produtividade de trigo, na safra 2017, no Paraná se consolidou em 2.308 kg ha⁻¹, o que correspondeu a 26,5% menor que o obtido na safra 2016 e 18,6% menor do que as expectativas iniciais para a safra de 2017 (CONAB, 2018a).

Apesar dos baixos níveis de produtividade, é possível observar que a inoculação das sementes com *A. brasilense* Abv5/Abv6 foi o tratamento numericamente mais expressivo (1.565,44 kg ha⁻¹), com um incremento de produtividade de 36,4% em relação ao controle (Tratamento 1), e também superou as médias de produtividade dos tratamentos que receberam apenas adubação nitrogenada em cobertura (Tabela 6, Figura 5).

Figura 5 – Produtividade de grãos de trigo e incremento de produtividade em relação ao controle (Tratamento 1).



Fonte: A autora.

Hungria *et al.* (2010) relataram aumento de 18% no rendimento de grãos de trigo quando a inoculação das sementes com *A. brasilense* foi realizada. Kasim *et al.* (2013) relataram uma redução significativa nos pesos frescos e secos quando o trigo foi submetido a condições de estresse hídrico, sendo estes superados pela inoculação das sementes com *Bacillus amyloliquefaciens* 5113 e *Azospirillum brasilense* NO40.

Kasim *et al.* (2013) concluíram que o uso de bactérias benéficas é uma estratégia promissora para controlar o estresse hídrico em trigo através de uma combinação de efeitos morfológicos, fisiológicos e metabólicos na planta hospedeira. Há relatos na literatura de que o efeito de microrganismos e/ou substâncias promotoras do crescimento são mais proeminentes em condições ambientais mais restritivas ao crescimento das plantas, principalmente sob estresses hídricos e nutricionais (SILVA; PIRES, 2017).

É possível perceber que o Tratamento 3 ($100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) apresentou produtividade inferior ao Tratamento 2 ($50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) (Tabela 6, Figura 5). Nunes *et al.* (2011) relatam que as leguminosas proporcionam uma taxa considerável de N residual no solo devido principalmente à menor relação C/N da palha e maiores taxas de decomposição e mineralização do N, as quais podem ser recicladas e recuperadas pela cultura em sucessão. De acordo com Galetto *et al.* (2017), isso poderia explicar a diminuição na produtividade de grãos de trigo, cultivado após soja, quando a maior dose de N foi

aplicada. Além disso, o solo da área experimental apresentava níveis de médio a alto dos principais nutrientes requeridos pelas culturas. Isto também pode ter influenciado para que as respostas não apresentassem diferença estatística significativa.

Ao observar a Figura 5, é possível perceber que outras BPCV também se destacaram quanto a produtividade dos grãos, como a inoculação com *A. brasilense* HM053, *Pseudomonas* sp. H2D e *Agrobacterium* sp. C7D, as quais apresentaram incremento de produtividade de 20,9%, 17,8% e 14,8% respectivamente, em relação ao controle. Segundo a Tabela 4, essas BPCV apresentam algumas atividades positivas, como solubilização de fosfato, produção de ácido indol acético (AIA) e FBN, as quais podem ter auxiliado no desenvolvimento das plantas e na absorção de nutrientes, contribuindo para que níveis mais altos de produtividade fossem alcançados. Para a cultura do feijão, a inoculação com *Burkholderia* sp. 10N6 induziu um aumento significativo do número de vagens por planta e a inoculação com *Pseudomonas* sp. H2D proporcionou um aumento no número de grãos por vagens (MORAES *et al.*, 2016).

De acordo com Santos *et al.* (2017a), *A. brasilense* HM053 foi capaz de colonizar a superfície das raízes de trigo e aumentar em 30 e 49% o peso seco da parte aérea e da raiz, respectivamente. Tien; Gaskins e Hubbell (1979) foram os primeiros a descrever que *Azospirillum* sp. poderia aumentar o crescimento das plantas através da produção de auxinas, especialmente AIA. Outros mecanismos de promoção do crescimento também foram propostos para *Azospirillum*, como produção de fitohormônio, sideróforo, solubilização de fosfato e biocontrole de fitopatógenos (PUENTE, LI, BASHAN, 2004; BASHAN, De-BASHAN, 2010).

Pérez-Jaramillo; Mendes e Raaijmakers (2016) afirmam que cultivares modernas podem ter perdido algumas características necessárias ao recrutamento de microbiota nas raízes com especificidade ao hospedeiro, porém, Rubin; Van Groenigen e Hungate (2017) demonstram que cultivares de alta produtividade podem se beneficiar da inoculação com BPCV.

De acordo com Salamone (2012) é importante distinguir entre a falta de resposta estatística e a vantagem econômica em aumentar o rendimento de grãos através da inoculação. Embora o uso de inoculantes contribua com uma pequena parcela para o

custo da produção, qualquer aumento benéfico no rendimento de grãos é aceito com gratidão pelos agricultores (DI SALVO *et al.*, 2018).

6.3 TEOR DE NITROGÊNIO EM FOLHAS E GRÃOS DE TRIGO

O teor de nitrogênio nas folhas e grãos de trigo não apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) entre os tratamentos (Tabela 7). Lemos *et al.* (2013), analisando a inoculação das sementes com *A. brasilense*, adubação nitrogenada em cobertura e a associação destas, não encontrou diferença significativa para o teor de nitrogênio na parte aérea de três cultivares de trigo testadas.

Nas folhas, a média geral encontrada para o teor de nitrogênio foi de 36,59 g kg⁻¹. De acordo com Malavolta; Vitti e Oliveira (1997), valores entre 30 a 33 g kg⁻¹ de matéria seca são considerados adequados para a cultura. Segundo Ali; Darwish e Mansour (2002) a transferência de nitrogênio atmosférico para as plantas através da FBN e o crescimento promovido pelas substâncias oriundas de BCPV, melhoram o desenvolvimento radicular e conseqüentemente aumentam a absorção de nutrientes pelas plantas de trigo.

Tabela 7 – Teor de nitrogênio em folhas e grãos de trigo.

| | Tratamentos | N folha g kg ⁻¹ | N grão g kg ⁻¹ |
|----|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 1 | 0 kg ha ⁻¹ N | 35,09 a | 26,46 a |
| 2 | 50 kg ha ⁻¹ N | 36,17 a | 26,76 a |
| 3 | 100 kg ha ⁻¹ N | 38,03 a | 25,81 a |
| 4 | <i>A. brasilense</i> Abv5/Abv6 | 36,77 a | 25,88 a |
| 5 | <i>A. brasilense</i> HM053 | 36,31 a | 26,69 a |
| 6 | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 | 37,85 a | 25,95 a |
| 7 | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D | 36,07 a | 25,85 a |
| 8 | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D | 35,51 a | 26,37 a |
| 9 | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 | 38,03 a | 26,41 a |
| 10 | 5V3 + H2D + C7D + 10N6 | 36,12 a | 26,53 a |

A adubação nitrogenada em cobertura apresentou incrementos lineares no teor de nitrogênio nas folhas de trigo, corroborando com os dados de Galetto *et al.* (2017), os quais também relatam resposta linear de doses de nitrogênio na concentração de nitrogênio em folhas de trigo.

O valor mais alto de teor de nitrogênio na folha (38,03 g kg⁻¹) foi igual, numericamente, quando se utilizou a maior dose de adubação nitrogenada em cobertura (100 kg ha⁻¹) e a inoculação com *Burkholderia* sp. 10N6. Além disso, a inoculação com *Burkholderia* sp. 10N6 apresentou incremento de 8,3% de nitrogênio nas folhas de trigo em relação ao controle, o que pode estar associado a atividade positiva deste isolado em fixar nitrogênio atmosférico (Tabela 4). Hungria *et al.* (2010) observaram incremento nos teores de nitrogênio, potássio e enxofre com a inoculação de *A. brasilense* Abv5 em trigo. Lemos *et al.* (2013), encontrou incremento de 6,6% quando utilizou a inoculação com *A. brasilense* em relação ao tratamento que recebeu inoculação acrescido da adubação nitrogenada em cobertura. Milléo e Cristófoli (2016) verificaram que o teor de nitrogênio total na massa seca de folhas apresentou resultados promissores e superiores numericamente a testemunha quando se utilizou inoculação com *A. brasilense* na cultura do milho.

O teor de nitrogênio nos grãos variou de 25,81 g kg⁻¹ a 26,76 g kg⁻¹, nos tratamentos 3 e 2 respectivamente. Galetto *et al.* (2017) avaliando doses de nitrogênio, descreveram que quanto maior a dose de nitrogênio aplicada, maior a concentração de nitrogênio nos grãos de trigo. Isso não aconteceu neste caso, visto que a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura (Tratamento 3) não apresentou teor de nitrogênio superior a aplicação de 50 kg ha⁻¹ (Tratamento 2).

Dentre os tratamentos que receberam inoculação, merece destaque a BPCV *A. brasilense* HM053, a qual apresentou 26,69 g kg⁻¹ de nitrogênio nos grãos, sendo numericamente superior ao tratamento com a maior dose de nitrogênio em cobertura (Tratamento 3) e apresentou um incremento de nitrogênio de 3,13% em relação à inoculação com *A. brasilense* Abv5/Abv6. Esse incremento pode estar relacionado à atividade de FBN e sua eficiência em fixar N mesmo em altas concentrações de NH₄⁺.

Pankievicz *et al.* (2015) relataram que, sob condições adequadas, *Setaria viridis*, pode obter nitrogênio suficiente para suprir sua demanda diária de nitrogênio através da FBN e promover o crescimento da planta. A estirpe HM053 expressou o gene *nifH* em um nível 278 vezes maior do que a estirpe parental em trigo (Santos *et al.*, 2017a). Santos *et al.* (2017b) descreveram que a estirpe *A. brasilense* HM053 é

capaz de colonizar e expressar genes *nif* na superfície radicular e no interior dos pelos radiculares de cevada.

Breda; Alves e Reis (2016) afirmam que a inoculação de milho com *Herbaspirillum seropedicae* foi capaz de aumentar o acúmulo de nitrogênio nos grãos e igualou o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação ao 100 kg ha⁻¹ de N. Milléo e Cristófoli (2016) analisando o teor de nitrogênio nos grãos de milho relataram que todos os tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* diferiram da testemunha e afirmam que a inoculação proporciona maior acúmulo de nitrogênio nos grãos de milho.

6.4 QUANTIFICAÇÃO DE DIAZOTRÓFICOS

Na Tabela 8, observa-se que a análise quantitativa de bactérias diazotróficas na rizosfera de trigo não apresentou diferença estatística significativa ($p \leq 0,10$) entre os tratamentos. Di Salvo *et al.* (2018) não encontraram diferença significativa no NMP de bactérias diazotróficas na rizosfera do trigo quando submetido a inoculação e a fertilização.

O NMP de bactérias diazotróficas presentes na rizosfera de trigo variou entre 1.266,67 a 25.783,33 células/grama de solo. A menor população microbiana foi encontrada no Tratamento 2, onde não houve inoculação das sementes. Portanto as bactérias diazotróficas encontradas neste tratamento referem-se à população nativa do solo. As maiores populações microbianas foram resultado da inoculação com *Burkholderia* sp. 10N6 e 5V3, com 25.783,33 e 25.383,33 células/grama de solo respectivamente. Além disso, é possível observar que existe uma correlação positiva entre os tratamentos que apresentaram maior NMP e os maiores valores de teor de nitrogênio nas folhas (Tabela 7), ambos relacionados à inoculação das sementes de trigo com *Burkholderia* sp., sugerindo que este gênero bacteriano pode contribuir com o fornecimento de nitrogênio para a cultura através da FBN, como descrito na Tabela 4.

Tabela 8 – Quantificação de bactérias diazotróficas pelo método do Número Mais Provável (NMP) em solo rizosférico de plantas de trigo submetidas a diversos tratamentos.

| Tratamentos | | NMP |
|-------------|--------------------------------|----------------------------|
| | | nº células g ⁻¹ |
| 1 | 0 kg ha ⁻¹ N | 2.216,67 a |
| 2 | 50 kg ha ⁻¹ N | 1.266,67 a |
| 3 | 100 kg ha ⁻¹ N | 2.550,00 a |
| 4 | <i>A. brasilense</i> Abv5/Abv6 | 3.833,33 a |
| 5 | <i>A. brasilense</i> HM053 | 1.283,33 a |
| 6 | <i>Burkholderia</i> sp. 5V3 | 25.383,33 a |
| 7 | <i>Pseudomonas</i> sp. H2D | 4.250,00 a |
| 8 | <i>Agrobacterium</i> sp. C7D | 3.200,00 a |
| 9 | <i>Burkholderia</i> sp. 10N6 | 25.783,33 a |
| 10 | 5V3 + H2D + C7D + 10N6 | 1.500,00 a |

Segundo Baldani; Baldani e Dobereiner (2000), a inoculação de *Burkholderia brasilensis* em arroz, contribuiu com 31% do total de nitrogênio da planta, além de aumentar a biomassa das plantas em 69%. Alves (2007) verificou que a inoculação de *Burkholderia* contribuiu com até 34% do nitrogênio absorvido em plantas de milho.

A média de bactérias diazotróficas entre os tratamentos que não receberam inoculação foi de 2.011,11 células/grama de solo, enquanto a média dos tratamentos que receberam inoculação com BPCV foi de 9.319,05 células/grama de solo. Quadros *et al.* (2014) relata que a inoculação de plantas de milho manteve o número de células de bactérias fixadoras de nitrogênio significativamente maior quando comparada ao tratamento controle, comprovando a sobrevivência das bactérias inoculadas no ambiente rizosférico das plantas de milho.

Segundo Quadros (2009), o NMP de bactérias presentes nas raízes frescas das plantas de milho foi superior nos tratamentos inoculados, na ordem de dois logaritmos (Log) em relação ao tratamento controle, porém, aumentos de ordem menor que estes podem estar relacionados a variações no comportamento fisiológico das células e não devido ao evento da inoculação.

Cassán e Díaz-Zorita (2016) afirmam que a inconsistência nas respostas à inoculação com *A. brasilense* é devida as interações inoculante-planta-ambiente e Nadeem *et al.* (2014) relatam que o estresse hídrico possui influência direta sobre a

quantidade de fixação de nitrogênio nas plantas. No geral, observa-se que a biomassa bacteriana total diminui com a seca, como consequência da limitação de recursos (ALSTER *et al.*, 2013).

Porém, em certos casos, a biomassa bacteriana do solo permanece estável sob a seca (HARTMANN *et al.*, 2017) ou é capaz de aumentar, possivelmente devido a atenuação de bactérias à exposição repetida à seca (HUESO; HERNÁNDEZ; GARCÍA, 2011) e/ou potencial funcional alterado para auxiliar na resiliência (BOUSKILL *et al.*, 2016), uma possível explicação para o comportamento do gênero *Burkholderia* sp. demonstrado nesta avaliação.

É comum esperar que alterações na composição química do solo e na composição e atividade da microbiota do solo alterem o pool de bactérias disponíveis, das quais as plantas recrutam comunidades endofíticas, porém, as mudanças induzidas pela seca na fisiologia e bioquímica da planta podem influenciar ainda mais a dinâmica da microbiota radicular (NAYLOR, 2017). Portanto, mais estudos são necessários para entendermos a dinâmica da comunidade microbiana do solo, a influência da interação planta-bactéria e principalmente a relação entre a eficiência da inoculação sob diferentes condições climáticas às quais as plantas estão inseridas.

7 CONCLUSÕES

A inoculação com *Pseudomonas* sp. H2D auxiliou de forma benéfica o estabelecimento das plantas de trigo sob condição de déficit hídrico na fase de perfilhamento da cultura, apresentando aproximadamente 148 plantas/m, o maior valor encontrado entre os tratamentos.

Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferença estatística significativa. No entanto, os valores absolutos encontrados neste experimento mostraram o grande potencial que essas BPCV possuem para exploração e uso na agricultura. Portanto, novos testes devem ser realizados, para buscar entender o comportamento desses microrganismos em condições adversas de cultivo.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, o uso de BPCV apresentou benefícios para a cultura do trigo, visto que o experimento foi afetado pela condição climática local, mostrando o efeito promissor dessas bactérias. Além disso, vale ressaltar que a área experimental em que o estudo foi realizado apresenta um histórico de baixas produtividades devido à natureza granulométrica do solo.

Outro fator que merece destaque é o fato de que as BPCV testadas não apresentavam uma formulação para o inoculante, diferente do que encontramos no inoculante comercial, o qual já possui veículos para melhorar a sobrevivência dos microrganismos.

É importante que novos testes sejam realizados, em diferentes locais e com diferentes culturas para podermos tirar conclusões mais precisas, podendo assim contribuir com uma agricultura mais sustentável.

REFERÊNCIAS

- ALI, N. A.; DARWISH, S. D.; MANSOUR, S. M. Effect of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* inoculation an anhydrous ammonia on root colonization, plant growth and yield of wheat plant under saline alkaline cognition. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, n. 27, p. 5575–5591, 2002.
- ALSTER, C. J. *et al.* Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. **Soil Biol. Biochem.**, v. 64, p. 68–79, 2013.
- ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* em genótipos de milho.** 2007, 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 30, p. 485-491, 2000.
- BASHAN, Y. *et al.* Environmental uses of plant growth-promoting bacteria. In: BARKA, E. A., CLEMENT, C. (eds). **Plant-microbe interactions**. Kerala, India: Research Signpost, 2008. p. 69–93.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth. A critical assessment. **Advances in Agronomy**, v.108, p. 77-136, 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521–577, 2004.
- BAUMGRATZ, E. I. *et al.* Produção de trigo: A decisão por análise econômico-financeira. **Revista de Política Agrícola**, n. 3, p. 8-21, 2017.
- BAZZAN, R. D. **Efeito de bioestimulantes no rendimento de grãos na cultura do trigo (*Triticum aestivum*).** 2013, 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2013.
- BENETT, C. G. S. *et al.* Aplicação foliar e em cobertura de nitrogênio na cultura do trigo no cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 829-838, 2011.
- BHATTACHARJEE, R. B.; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S. N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, p. 199-209, 2008.
- BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformatis. **Jornal of the Royal Statistical Society**, Series B, v. 26, p. 211-243, 1964.

BOUSKILL, N. J. *et al.* Belowground Response to Drought in a Tropical Forest Soil. II. Change in Microbial Function Impacts Carbon Composition. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016.

BREDA, F. A. F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 45-52, 2016.

BRUM, A. L.; MÜLLER, P. K. A realidade da cadeia do trigo no Brasil: o elo produtores/cooperativas. **Revista de Economia Rural**, v. 46, n. 1, p. 145-169, 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-20032008000100007. Acesso em: 21 dez. 2018.

CASSÁN, F.; DÍAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117–130, 2016.

CHHAOU, S. A. *et al.* Inoculation of *Phaseolus vulgaris* with the nodule-endophyte *Agrobacterium* sp. 10C2 affects richness and structure of rhizosphere bacterial communities and enhances nodulation and growth. **Archives of Microbiology**, v. 197, p. 805-813, 2015.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669–678, 2010.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **A cultura do trigo**. Brasília, 2017a. 218 p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, v.5, p. 108-109, Safra 2017/18, n. 3 – Terceiro Levantamento, dezembro, 2017b.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, v.5, p. 100-126, Safra 2017/18, n. 4 – Quarto Levantamento, janeiro, 2018a.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, v.6, p. 98-101, Safra 2018/19, n. 3 – Terceiro Levantamento, dezembro, 2018b.

CONTESTO, C. *et al.* The auxin-signaling pathway is required for the lateral root response of Arabidopsis to the rhizobacterium *Phyllobacterium brassicacearum*. *Planta* 232, 1455–1470, 2010.

CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations and yield in *Azospirillum* - inoculated wheat exposed to drought in the field. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, p. 228-273, 2004.

CUNHA, G. R. *et al.* **Regionalização climática e suas implicações para o potencial de rendimento de grãos de trigo no Rio Grande do Sul.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 23 p. (Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Online, 11). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_bp11.htm>. Acesso em: 14 jan. 2019.

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

DELSHADI, S.; EBRAHIMI, M.; SHIRMOHAMMADI, E. Effectiveness of plant growth promoting rhizobacteria on *Bromus tomentellus* Boiss seed germination, growth and nutrients uptake under drought stress. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 11-18, 2017.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNÁNDEZ-CANIGIA, M. V. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 3–11, 2009.

DI SALVO, L. P. *et al.* Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. **Plant Soil**, v. 424, p. 405-417, 2018.

DOBBELAERE, S. *et al.* Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Aust. J. Plant Physiol.**, v. 28, p. 871–879, 2001.

DOBBELAERE, S. *et al.* Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v. 36, n. 4, p. 284–297, 2002.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. **Estudos Avançados**, v. 4, n. 8, p. 144–152, 1989.

DÖBEREINER, J.; ANDRADE V. de O.; BALDANI, V. L. D. **Protocolos para Preparo de Meios de Cultura da Embrapa Agrobiologia.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 1999. 38p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 110).

DÖBEREINER, J.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas.** Brasília: EMBRAPA – SPI: Itaguaí, RJ: EMBRAPA - CNPAB, 1995. 60p.

Dos SANTOS, P. C. *et al.* Distribution of nitrogen fixation and nitrogenase-like sequences amongst microbial genomes. **BMC Genomics**, v. 13:162, 2012.

EMBRAPA. **Trigo: o produtor pergunta, a Embrapa responde.** Brasília, 2016. 314 p. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1040211/trigo-o-produtor-pergunta-a-embrapa-responde>>. Acesso em: 27 dez. 2018.

EMBRAPA. **Um pouco de história e política do trigo e Triticultura no Brasil.** Disponível em <<http://www.cnpt.embrapa.br>>. Acesso em 30 julho 2017.

FARTRIGO. **Trigo e seus aspectos.** Disponível em: <<http://www.fartrigo.com.br/fartrigo/trigo/trigo-e-seus-aspectos>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

FERREIRA, J. P. *et al.* *Azospirillum brasilense* via foliar e doses de nitrogênio em cobertura na cultura do trigo na região de Itapeva-SP. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 11, n. 2, p. 154-163, 2017.

FUKAMI, J. *et al.* Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

GALETTO, S. L. *et al.* Nitrogen fertilization in top dressing for wheat crop in succession to soybean under a no-till system. **Bragantia**, Campinas, v. 76, n. 2, p. 282-291, 2017.

GALINDO, F. S. **Desempenho agrônômico do milho e do trigo em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses e fontes de nitrogênio.** 2015, 153 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2015.

GARCIA, F. P. *et al.* Role of bacterial bio fertilizers in agriculture and forestry. **AIMS Bioeng.**, v. 2, p. 183–205, 2015.

GEORGIN, J. *et al.* Desenvolvimento inicial de trigo (*Triticum aestivum*) com uso de fitohormônios, zinco e inoculante no tratamento de sementes. **REGET**, v. 18, p. 1318-1325, 2014.

GEWIN, V. An underground revolution. **Nature**, v. 466, p. 552–553, 2010.

GHOLAMI, A.; SHAHSAVANI, S.; NEZARAT, S. The effect of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v.49, p.19-24, 2009.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial de trigo.** 2 ed. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1996. 36 p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 27). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/849741/1/CNPTDOC.2796.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2019.

GUARIENTI, E. M. *et al.* Efeitos da precipitação pluvial, da umidade relativa do ar e de excesso e déficit hídrico do solo no peso do hectolitro, no peso de mil grãos e no rendimento de grãos de trigo. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25 (3), p. 412-418, 2005.

GUIMARÃES, S. L.; VILA, T. A.; SANTOS, M. S. Inoculação de bactérias diazotróficas e plantas de trigo cultivado no sul de Mato Grosso. **Cerrado Agrociências**, n. 6, p. 45-54, 2015.

HARTMANN, M. *et al.* A decade of irrigation transforms the soil microbiome of a semi-arid pine forest. **Molecular Ecology**, v. 26, p. 1190–1206, 2017.

HUANG, B.; DACOSTA, M.; JIANG, Y. Research advances in mechanisms of turfgrass tolerance to abiotic stresses: from physiology to molecular biology. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 33, p. 141–189, 2014.

HUESO, S.; HERNÁNDEZ, T.; GARCÍA, C. Resistance and resilience of the soil microbial biomass to severe drought in semiarid soils: The importance of organic amendments. **Applied Soil Ecology**, v. 50, p. 27-36, 2011.

HUNGRIA, M. *et al.* 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, p. 413–425, 2010.

IAPAR. **Cartas climáticas do Paraná**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/pagina-863.html>>. Acesso em: 20 nov. 2018.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS PARA TRIGO E TRITICALE – Safra 2017 / X Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale. Sergio Ricardo Silva, Manoel Carlos Basso, José Salvador Simoneti Foloni, editores técnicos - Brasília, DF: Embrapa, 2017.

INSTITUTO DAS ÁGUAS DO PARANÁ. **Sistemas de informações hidrológicas**. Disponível em: <<http://www.sih-web.aguasparana.pr.gov.br/sih-web/gerarRelatorioTotaisMensaisPrecipitacao.do?action=carregarInterfacelncial>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

JOSHI, A. K. *et al.* Stay green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). **Euphytica**, Dordrecht, v.153, n. 1, p. 59- 71, 2007.

KASIM, W. A. *et al.* Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, p. 122-130, 2013.

KENNEDY, I. R.; CHOUDHURY, A. T. M. A.; KECSKÉS, M. L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p. 1229-1244, 2004.

KILIÇ, H.; YAGBASANLAR, T. The Effect of Drought Stress on Grain Yield, Yield Components and some Quality Traits of Durum Wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) Cultivars. **Not. Bot. Hort. Agrobot.**, v. 38 (1), p. 164-170, 2010.

KUMMU, M. *et al.* Lost food, wasted resources: Global food supply chain losses and their impacts on freshwater, cropland, and fertiliser use. **Science of the Total Environment**, v. 438, p. 477–489, 2012.

LARGE, E. C. Growth stages in cereals. Illustration of the Feekes Scale. **Plant Pathology**, London, v. 3, p. 128-129, 1954.

LEON, A. E.; ROSELL, C. M. **De tales harinas, tales panes**: granos, harinas e productos de panificação en Iberoamerica. Córdoba: Hugo Baez, 2007. 480 p. Disponível em: <https://www.iseki-food.net/webfm_send/1729>. Acesso em: 20 dez. 2018.

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

LESK, C.; ROWHANI, P.; RAMANKUTTY, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature**, v. 529, p. 84–87, 2016.

LI, J. H. *et al.* Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, p. 238-246, 2008.

LIM, J. H., KIM, S. D. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in pepper. **Plant Pathology Journal**, v. 29, p. 201–208, 2013.

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

MACHADO, H. B. *et al.* Excretion of ammonium by *Azospirillum brasilense* mutants resistant to ethylenediamine. **Can. J. Microbiol.** v. 37, p. 549–553, 1991.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.

MANCOSU, N. *et al.* Water scarcity and future challenges for food production. **Water**, v. 7, p. 975–992, 2015.

MAPA – **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa nº 30. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 01 ago. 2017.

MARIN, V. A. *et al.* **Fixação biológica de nitrogênio**: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 1999. 34 p.

MELLO, N. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas de milho e trigo**. 2012, 98 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2012.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Avaliação da eficiência agrônômica da inoculação de *Azospirillum* sp. na cultura do milho. **Revista Scientia Agraria**, v. 17, n. 3, p. 14-23, 2016.

MORAES, B. A. *et al.* **Avaliação de novos isolados bacterianos como biofertilizantes em leguminosas.** XXV Encontro Anual de Iniciação Científica - 2016. Disponível em: <<http://apps.uepg.br/propesp/pesquisa/eaic/public/landing/artigosAprovados>>. Acesso em: 25 jan. 2019.

MORAES, B. A. *et al.* **Avaliação de biofertilizantes no aumento da produtividade na cultura do trigo (*Triticum aestivum*).** XXVI Encontro Anual de Iniciação Científica – 2017. Disponível em: <<https://siseve.apps.uepg.br/eaic2017/resumos>>. Acesso em: 25 jan. 2019.

MUMBACH, G. L. *et al.* Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e milho safrinha. **Revista Scientia Agraria**, v. 18, n. 2, p. 97-103, 2017.

NADEEM, S. M. *et al.* The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 429–448, 2014.

NAYLOR, D. T. **The role of drought on root-associated bacterial communities across diverse cereal grass species and over a developmental gradient.** 2017, 156 p. Dissertation (Doctor of Philosophy in Plant Biology) - University of California, Berkeley, 2017.

NUNES, R. S. *et al.* Sistemas de manejo e os estoques de carbono e nitrogênio em Latossolo de Cerrado com a sucessão soja-milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1407-1419, 2011.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1591-1601, 1994.

PANKIEVICZ, V. C. S. *et al.* Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **Plant Journal**, v. 81, p. 907–919, 2015.

PEREIRA, L. C. *et al.* Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40 (1), p. 105-113, 2017.

PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J.M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, p. 635–644, 2016.

PÉREZ-MONTAÑO, F. *et al.* Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**, v. 169, p. 325-336, 2014.

PUENTE, M.; LI, C.; BASHAN, Y. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. **Plant Biology**, v. 6, p. 643-650, 2004.

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

QUADROS, P. D. *et al.* Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

R Core Team, 2018. **R: a Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: < <https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

REIS, V. M. *et al.* Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19, p. 227-247, 2000.

RODRIGUES, O. *et al.* Ecofisiologia do trigo: bases para elevado rendimento de grãos. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da (Ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. Cap. 5, p. 115-134.

ROSÁRIO, J. G. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à redução na adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de trigo**. 2013, 85 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

RUBIN, R. L.; Van GROENIGEN, K. J.; HUNGATE, B. A. Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. **Plant Soil**, v. 416, p. 309-323, 2017.

SÁ, M. F. M. Os solos dos Campos Gerais. In: MELO, M. S.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Org.). **Patrimônio natural dos Campos Gerais do Paraná**. 1. Ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2014. cap. 6. p. 73-83.

SALA, V. M. R. *et al.* 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.

SALAMONE, I. E. G. 2012. Use of soil microorganisms to improve plant growth and ecosystem sustainability. In: CALISKAN, M. (ed) **The molecular basis of plant genetic diversity**. INTECH, Rijeka, Croatia, p. 233–258. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/articles/show/title/use-of-soilmicroorganisms-to->

improve-plant-growth-and-ecosystemsustainability>. Acesso em: 17 jan. 2019.

SANTOS, K.F.D.N. *et al.* Wheat colonization by an *Azospirillum brasilense* ammonium-excreting strain reveals upregulation of nitrogenase and superior plant growth promotion. **Plant and Soil**, v. 415, p. 245-255, 2017a.

SANTOS, A. R. S. *et al.* Labeled *Azospirillum brasilense* wild type and excretion-ammonium strains in association with barley roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 422-426, 2017b.

SILVA, F. C. *et al.* Characterization of putative plant growth promoting bacteria isolated from the maize rhizosphere. **Anais do 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Florianópolis, 2015.

SILVA, S. R.; PIRES, J. L. F. Resposta do trigo BRS Guamirim à aplicação de *Azospirillum*, nitrogênio e substâncias promotoras do crescimento. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, p. 631-638, 2017.

SOUZA, A. M. **Isolamento e caracterização de bactérias diazotróficas de campos de milho**. 2013, 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2013.

TAKEITI, C. Y. **Trigo**. Brasília: Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2015. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000girlwnqt02wx5ok05vadr1qrnof0m.html>. Acesso em: 21 dez. 2018.

TEIXEIRA, M. F. *et al.* Linhagens de *Burkholderia* sp., promotoras de crescimento vegetal, submetidas a estresse hídrico e salino. **Ciência & Tecnologia - FATEC-JB**, v. 8, 10 p., 2016.

TIEN, T.; GASKINS, M.; HUBBELL, D. 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.

TIMMUSK, S. *et al.* Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. **PLoS One**, v. 9, p. e96086, 2014.

VACHERON, J. *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1–19, 2013.

VICKI L. T. Resistance to biotic and abiotic stress in triticeae. **Hereditas**, v. 135, p. 239–242, 2001.

VERESOGLOU, S. D.; MENEXES, G. Impact of inoculation with *Azospirillum* spp. on growth properties and seed yield of wheat: A meta-analysis of studies in the ISI Web of Science from 1981 to 2008. **Plant and Soil**, v. 337, n. 1, p. 469–480, 2010.

VURUKONDA, S. S. K. *et al.* Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

WASSON, A. P. *et al.* Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. **Journal of Experimental Botany**, 63, 3485–3498, 2012.

WENDLING, A. *et al.* Recomendação de adubação nitrogenada para trigo em sucessão ao milho e soja sob sistema plantio direto no Paraguai. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 985-994, 2007.

YANG, J. *et al.* Reconstruction and minimal gene requirements for the alternative iron-only nitrogenase in *Escherichia coli*. **PNAS**, v. 111 (35), E3718–E3725, 2014.

YANG, J., KLOEPPER, J. W., MIN RYU, C. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 1–4, 2009.