

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

**NEIDSON DIAS DA MOTA**

**ESTUDO A CAMPO DO EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM  
INSETICIDA E FUNGICIDA NA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO DO TRIGO INDUZIDO POR *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6**

**PONTA GROSSA**

**2020**

**NEIDSON DIAS DA MOTA**

**ESTUDO A CAMPO DO EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM  
INSETICIDA E FUNGICIDA NA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DO  
CRESCIMENTO DO TRIGO INDUZIDO POR *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6**

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

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Mazer  
Etto

**PONTA GROSSA**

**2020**

M917 Mota, Neidson Dias da  
Estudo a campo do efeito do tratamento de sementes com inseticida e fungicida na capacidade de promoção do crescimento do trigo induzido por *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6. / Neidson Dias da Mota. Ponta Grossa, 2020.  
49 f.  
  
Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura), Universidade Estadual de Ponta Grossa.  
  
Orientadora: Profa. Dra. Carolina Weigert Galvão.  
Coorientador: Prof. Dr. Rafael Mazer Etto.  
  
1. BPCV. 2. Triticum aestivum. 3. Imidacloprid + tiodicarb. 4. Triadimenol. I. Galvão, Carolina Weigert. II. Etto, Rafael Mazer. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Agricultura. IV.T.

CDD: 633



Universidade  
Estadual de  
Ponta Grossa

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Titulo da Dissertação: Estudo a Campo do Efeito do Tratamento de Sementes com Inseticida e Fungicida na Capacidade de Promoção do Crescimento do Trigo Induzido por *Azospirillum brasilense* Ab- V5 e Ab- V6.

Nome: Neidson Dias da Mota

Orientador: Carolina Weigert Galvão

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Profª Drª Carolina Weigert Galvão

Prof. Dr. Eduardo Favero Caires

Dr. Raul Santin Almeida

Data da Realização: 28 de fevereiro de 2020.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da existência, companhia e proteção em todos os momentos.

A minha noiva Andressa Dranski pelo companheirismo, amor e dedicação.

A minha família pelo apoio e incentivo.

A Prof.<sup>a</sup> Dra. Carolina Weigert Galvão e o Prof.<sup>o</sup> Dr. Rafael Mazer Etto pela orientação, ensinamentos e suporte em todas as atividades realizadas e no desenvolvimento desta dissertação.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr. Eduardo Fávero Caires por toda a contribuição e ensinamentos durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEPG, pela oportunidade da realização deste mestrado e pelo crescimento proporcionado na minha formação profissional.

Às empresas que forneceram os insumos fundamentais para a realização dos experimentos (sementes, agrotóxicos, inoculante e protetor celular).

Ao Eng. Agr.<sup>o</sup> Willian Yuiti Takahashi pela contribuição em todas as fases do experimento bem como demais colegas, funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação e Laboratório de Biologia Molecular e Microbiana que participaram ao longo do mestrado.

Aos funcionários da Fazenda Escola Capão da Onça (Fescon/UEPG), especialmente Marcio Kudrik, por toda a ajuda na condução do experimento de campo.

Aos funcionários da Mini Farm BASF/SA, pelo fornecimento dos dados climáticos.

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

Ao Dr. Ângelo Rafael Bini, pelo auxílio nas análises laboratoriais.

Ao Eng. Agr.<sup>o</sup> Luiz Cesar Baptista Scheffer, pela amizade e incentivo.

A todos que participaram da minha formação profissional, direta ou indiretamente, pelo esforço, dedicação, paciência e compreensão.

MOTA, N. D. **Estudo a campo do efeito do tratamento de sementes com inseticida e fungicida na capacidade de promoção do crescimento do trigo induzido por *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6**. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

## RESUMO

*Azospirillum brasilense* é a bactéria promotora de crescimento vegetal (BPCV) mais estudada para uso em cultivos de gramíneas. Experimentos de campo com linhagens selecionadas resultaram nas primeiras estirpes autorizadas para produção de inoculantes no Brasil. Entre essas estirpes, Ab-V5 e AbV6 são as mais recomendadas para a cultura do trigo. No entanto, em muitos casos não tem sido observado no campo os mesmo resultados de promoção de crescimento obtidos em condição controlada. Os inseticidas e fungicidas aplicados nas sementes podem reduzir o número de células bacterianas viáveis e causar uma má colonização das bactérias. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 em sementes previamente tratadas com inseticida (Imidacloprid + Tiodicarb) e fungicida (Triadimenol), no desenvolvimento e produtividade da cultura do trigo a campo, cultivar TBIO Sossego. Foi empregado o delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial (3x3), representado pelas combinações de tratamento de sementes e com inoculação de *Azospirillum brasilense*. Não houve diferença para emergência de plântulas e número de perfilhos entre os tratamentos testados. A inoculação de *A. brasilense* pouco antes de semeadura combinada com tratamento de sementes e protetor celular proporcionou melhores índices de clorofila foliar medidos no florescimento. A inoculação das sementes com *A. brasilense* 24 h antes da semeadura foi equivalente a não realizar a inoculação para os parâmetros: índice de clorofila foliar, grãos por espiga, peso de mil grãos. Os maiores rendimentos de grãos de trigo foram obtidos quando as tecnologias tratamento de sementes, protetor celular e inoculação de *A. brasilense* (pouco antes da semeadura) foram combinadas. O incremento de produtividade de trigo com o uso combinado dessas tecnologias foi de até 16 % ou 671,82 kg ha<sup>-1</sup> em relação ao tratamento controle (sem inoculação e sem tratamento de sementes). A produtividade máxima alcançada foi de 4.771 kg ha<sup>-1</sup>, superando a expectativa de rendimento de grãos baseado na recomendação de fertilizantes adotada. Não houve efeitos dos tratamentos para teor de N nos grãos e acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>).

Palavras-chave: BPCV, *Triticum aestivum*, Imidacloprid + Tiodicarb, Triadimenol.

MOTA, N. D. **Field study of the effect of seed treatment with insecticide and fungicide on the ability to promote wheat growth induced by *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6**. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

## ABSTRACT

*Azospirillum brasilense* is the most studied plant growth promoting bacterium (PGPB) for use in grass crops. Field experiments with selected strains resulted in the first strains authorized for the production of inoculants in Brazil. Among these strains, Ab-V5 and AbV6 are the most recommended for the cultivation of wheat. However, in many cases the same growth promotion results obtained under controlled conditions have not been observed in the field. Insecticides and fungicides applied to seeds can reduce the number of viable bacterial cells and cause poor bacteria colonization. The objective of this work was to evaluate the effect of the inoculation of *Azospirillum brasilense* strains AbV5 and AbV6 in seeds previously treated with insecticide (Imidacloprid + Tiodicarb) and fungicide (Triadimenol), in the development and productivity of the wheat crop, cultivate TBIO Sossego. The experimental design was randomized blocks, with three replications, in a factorial scheme (3x3), represented by combinations of seed treatment and inoculation of *Azospirillum brasilense*. There was no difference for seedling emergence and number of tillers between the treatments tested. The inoculation of *A. brasilense* shortly before sowing combined with seed treatment and cell protector provided better levels of leaf chlorophyll measured at flowering. The inoculation of the seeds with *A. brasilense* 24 h before sowing was equivalent to not carrying out the inoculation for the parameters: leaf chlorophyll index, grains per ear, weight of a thousand grains. The highest yields of wheat grains were obtained when the seed treatment, cell protector and inoculation technologies of *A. brasilense* (shortly before sowing) were combined. The increase in wheat productivity with the combined use of these technologies was up to 16% or 671.82 kg ha<sup>-1</sup> in relation to the control treatment (without inoculation and without seed treatment). The maximum yield reached was 4,771 kg ha<sup>-1</sup>, exceeding the grain yield expectations based on the fertilizer recommendation adopted. There were no effects of treatments for N content in the grains and N accumulation (kg ha<sup>-1</sup>).

Key-words: PGPB, *Triticum aestivum*, Imidacloprid + Tiodicarb, Triadimenol.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Precipitação (mm) acumulada semanalmente após a semeadura (A) e temperatura média, máxima e mínima diárias após a semeadura (B). Fonte: Mini Farm - BASF/SA ..... 22
- Figura 2 - Produtividade dos tratamentos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) e incremento de produção em relação ao tratamento controle (em porcentagem - %). ..... 33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características químicas e granulométricas do solo antes da instalação do experimento.....	21
Tabela 2 - Características químicas do solo após o ciclo da cultura .....	21
Tabela 3 - Esquema dos tratamentos com níveis de tratamento de sementes associados à níveis de inoculação das sementes com <i>Azospirillum brasilense</i> (Ponta Grossa-PR, 2019) .....	23
Tabela 4 - Avaliação do número de plântulas emergidas, altura de plantas em centímetros (cm), e número de perfilhos, influenciados pelos níveis de <i>A. brasilense</i> : sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h); e níveis de tratamento de sementes: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor celular (TS + PC) .....	26
Tabela 5 - Avaliação do Índice de Clorofila Foliar (ICF) influenciado pelos níveis de <i>A. brasilense</i> : sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e níveis de tratamento de sementes: sem tratamento de sementes (Sem T.S), tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).....	28
Tabela 6 - Avaliação do peso hectolítrico ( $\text{kg hL}^{-1}$ ), peso de mil grãos (g), e número de grãos por espiga, influenciados pelos níveis de <i>A. brasilense</i> : sem inoculação (Sem I.), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e níveis de tratamento de sementes: sem tratamento de sementes (Sem T.S), tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).....	30
Tabela 6 - Teor de nitrogênio nos grãos e acúmulo de N ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) influenciados pelos tratamentos de <i>A. brasilense</i> : sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e agroquímicos: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).....	37

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3 HIPÓTESES .....</b>	<b>11</b>
<b>4 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
4.1 A CULTURA DO TRIGO .....	12
4.2 INSUMOS AGROQUÍMICOS NA PRODUÇÃO VEGETAL.....	13
4.3 BPCVS COMO INOCULANTES DE CULTURAS AGRÍCOLAS .....	14
4.4 REVESTIMENTO DE SEMENTES PARA PROTEÇÃO DE BPCVS.....	16
4.5 TRATAMENTOS DE SEMENTES DE TRIGO COM FUNGICIDAS E INSETICIDAS .....	17
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
5.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO.....	21
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA .....	22
5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	22
5.4 MATERIAIS .....	23
5.5 AVALIAÇÕES.....	24
5.5.1 Emergência e Crescimento Inicial.....	24
5.5.2 Índice de Clorofila Foliar .....	24
5.5.3 Componentes de Produção e Produtividade .....	24
5.5.4 Teor de Nitrogênio nos Grãos e Acúmulo de N ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) .....	25
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
6.1 EFEITOS NA EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO INICIAL.....	26
6.2 EFEITOS NO ÍNDICE DE CLOROFILA FOLIAR.....	27
6.3 EFEITOS NOS COMPONENTES DE PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE .....	30
6.4 EFEITOS NO CONTEÚDO DE N NOS GRÃOS E ACÚMULO DE N ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) ....	37
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos desempenham papel fundamental no ciclo dos nutrientes, com impactos na agricultura, saúde e cadeia alimentar global. Há um interesse crescente em usar microrganismos associados a plantas para aumentar a sustentabilidade agrícola e mitigar os efeitos das mudanças climáticas na produção de alimentos (CAVICCHIOLI et al., 2019). Dentre esses microrganismos, bactérias associativas como *Azospirillum brasilense* têm sido extensivamente estudadas para promoção do crescimento de plantas, especialmente em gramíneas.

Após muitas décadas de pesquisa, estirpes de *Azospirillum brasilense* foram selecionadas e testadas em campo, tornando-se as primeiras estirpes recomendadas para utilização em cultivos de milho e trigo no Brasil (HUNGRIA et al., 2010). Além da fixação biológica de nitrogênio, outros mecanismos atribuídos à *A. brasilense* somam-se na promoção do crescimento de plantas. Entre eles, a regulação da produção de hormônios na planta hospedeira, como ácido 3-indolacético (AIA) e mitigação de estresses ambientais (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016). O AIA favorece o crescimento das raízes permitindo que a planta explore maior volume de solo na busca por água e nutrientes (CASSÁN; OKON; CREUS, 2015).

Apesar da expectativa de redução de doses fertilização nitrogenada em cultivos de gramíneas não ser confirmada quando se buscam altos rendimentos, *A. brasilense* claramente contribui para a sustentabilidade dos cultivos agrícolas em um cenário de mudanças climáticas e necessidade de aumento da produção de alimentos. Para o sucesso da inoculação, a sobrevivência e a colonização de *Azospirillum* no campo dependem de múltiplos fatores. Ao ser introduzido no ambiente agrícola, a bactéria promotora de crescimento vegetal precisa superar desafios como a população de microrganismos presente no solo, a temperatura, a presença de agroquímicos, entre outros.

O uso de inseticidas e fungicidas nos cultivos agrícolas é essencial para manter ou aumentar a produção de alimentos, fibras e biocombustíveis. Inicialmente desenvolvidos para pulverizações foliares, muitos desses produtos mostraram aplicabilidade para utilização em tratamento de sementes. Dessa forma, esses agroquímicos protegem as plantas nas fases iniciais contra o ataque de insetos e doenças presentes no solo, e também daquelas transmitidas pelas sementes como mancha-marrom, mancha-amarela e ferrugem na cultura do trigo. Nesse contexto, incluir a inoculação de *Azospirillum brasilense* como componente bem sucedido é um dos desafios da pesquisa agrícola atual.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 em sementes tratadas com inseticida e fungicida no desenvolvimento e produtividade do trigo.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Analisar o efeito promotor de crescimento de *Azospirillum brasilense* inoculado pouco antes da semeadura;
- ii. Verificar se quando a semeadura ocorre 24 h após a inoculação são observados efeitos promotores de crescimento de *A. brasilense*.
- iii. Analisar os efeitos de tratamento de sementes combinado com a inoculação de *A. brasilense* e o potencial do protetor celular em contribuir para a promoção do crescimento e produção de trigo.
- iv. Verificar a emergência e o desenvolvimento inicial da cultura do trigo em dois intervalos de tempo (0 e 24 h) entre a inoculação e a semeadura;
- v. Analisar indiretamente o índice de clorofila foliar na fase de florescimento das plantas de trigo;
- vi. Avaliar componentes de produção e a produtividade de grãos de trigo.

### **3 HIPÓTESES**

Ao realizar a semeadura 24 h após a inoculação de *A. brasilense* (AbV5 e AbV6) em sementes tratadas com inseticida e fungicida ocorre redução dos efeitos promotores de crescimento nas plantas de trigo.

A combinação de sementes previamente tratadas e inoculadas com *A. brasilense* (AbV5 e AbV6) pouco antes da semeadura aumenta a produtividade de grãos de trigo.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 A CULTURA DO TRIGO

O trigo é uma cultura vital para alimentação humana, contribuindo com aproximadamente 20% das necessidades de energia (calorias) e 25% da necessidade de proteína dietética. É utilizado na produção de pão, bolos, biscoitos e macarrão, assim como para uma variedade de ingredientes funcionais (PANHWAR et al., 2019). Para alimentar a crescente população humana, a produção global de trigo deve aumentar para aproximadamente 5 t ha<sup>-1</sup>, a partir das atuais 3,3 t ha<sup>-1</sup>, até 2050, mantendo ou melhorando suas características nutricionais (BORISJUK et al., 2019).

Segundo Pan et al. (2006), o nitrogênio é o nutriente mais limitante para a produção de trigo. Na segunda metade do século XX, os rendimentos do trigo, aumentaram em todo o mundo, de 1 para 3 t ha<sup>-1</sup> (FISCHER; EDMEADES, 2010). No Reino Unido, esse aumento foi mais expressivo, partindo de menos de 3 t ha<sup>-1</sup> e atingindo cerca de 8 t ha<sup>-1</sup>. Esses aumentos foram sustentados pelo melhoramento genético e aumento no uso de fertilizantes nitrogenados, sendo que no Reino Unido as taxas de aplicação se estabilizaram próximas de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N (HAWKESFORD, 2014). No Brasil a produtividade média é de 3 t ha<sup>-1</sup> e as doses de aplicação de N variam de 60 a 140 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2017; EMBRAPA, 2019).

No Brasil a produtividade do trigo varia anualmente e nas diferentes regiões produtoras, devido às condições climáticas, deficiências nutricionais e ocorrências de insetos e doenças (TAVARES et al., 2013). Em relação à nutrição, a adubação nitrogenada mineral constitui-se em alto custo das lavouras com perdas expressivas para o ambiente através da lixiviação e volatilização (CUI et al., 2014). A demanda de fertilizantes nitrogenados aumenta a cada ano, e observa-se redução da eficiência do uso de nitrogênio. Estima-se que 50% a 70% do nitrogênio aplicado não são absorvidos pelas culturas (WEEKLEY; GABBARD; NOWAK, 2012).

O trigo é o principal cereal de inverno cultivado no sul do Brasil. Em 2019 foram produzidas 4.881.300 toneladas e o estado do Paraná contribuiu com 47% da produção nacional (CONAB, 2019). O impacto econômico das pragas no trigo é muito alto, portanto, o uso de inseticidas e fungicidas é essencial para evitar perdas em produtividade e qualidade do trigo (LEADBEATER, 2014). No entanto, os agrotóxicos não são apenas prejudiciais aos organismos alvo, mas também aos organismos não-alvo, como as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCVs) (SRUTHI et al., 2017).

## 4.2 INSUMOS AGROQUÍMICOS NA PRODUÇÃO VEGETAL

O aumento da população mundial tem sido observado com taxas de crescimento variáveis entre as regiões do mundo. Estima-se que a população mundial, de 7,7 em 2019, deverá atingir 9,8 bilhões em 2050 e 10,9 bilhões em 2100. A crescente população mundial exerce uma pressão para aumento da produção agrícola (PRASAD et al., 2019). Em 2009 a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) emitiu uma previsão de que a produção mundial de alimentos precisaria aumentar em 70% para alimentar a população mundial em 2050 (LINEHAN et al., 2012).

No entanto, a produção de alimentos enfrenta desafios cada vez maiores, associados à insetos e doenças, e especialmente à limitação das áreas de cultivo. No processo de aumento da produção agrícola, herbicidas, inseticidas, fungicidas, nematicidas e fertilizantes passaram a ser cada vez mais utilizados. Esses produtos químicos entraram em cena na agricultura a partir da introdução dos inseticidas sintéticos em 1940, quando os inseticidas organoclorados foram utilizados pela primeira vez no manejo de insetos-pragas (BEGUM; ALAM; JALAL UDDIN, 2017).

A utilização em massa de agrotóxicos na agricultura ocorreu na década de 1950, nos Estados Unidos da América, com a chamada ‘Revolução Verde’, a qual tinha o intuito de modernizar a agricultura e aumentar a produtividade. No Brasil, esse movimento chegou na década de 1960 e, com a implantação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA), ganhou impulso na década de 1970 (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). O tratamento de sementes apresentou-se como outra forma de uso dos inseticidas e fungicidas nos cultivos agrícolas. Anteriormente desenvolvidos para aplicação foliar, a utilização desses produtos aplicados nas sementes reduziram a quantidade utilizada por unidade de área cultivada (MUNKVOLD, 2009).

A “Revolução Verde” do século XX possibilitou ganhos sem precedentes na produção global de alimentos. Foi composta basicamente por dois avanços principais; insumos sintéticos (inseticidas, fungicidas, herbicidas e fertilizantes minerais) e cultivares melhoradas através de manipulações genéticas. Entretanto, os ganhos associados ao maior consumo de fertilizantes podem acarretar altos custos econômicos e ambientais (TIMMUSK et al., 2017). Segundo Backer et al. (2018), uma nova revolução agrícola será necessária para sustentar as necessidades de alimentos, fibra e combustível de uma população global em crescimento e um clima em mudança ao longo do século XXI.

Atender às necessidades humanas dentro dos limites ecológicos do planeta exige uma reflexão contínua das tecnologias e práticas agrícolas adotadas. Tais tecnologias incluem os

fertilizantes, cuja descoberta e uso têm sido um dos fatores-chave para aumentar produção agrícola global necessária para alimentar a crescente população humana (BINDRABAN et al., 2015). Estima-se que os fertilizantes nitrogenados sintéticos sejam responsáveis pela produção de aproximadamente metade da produção atual de alimentos no mundo (ERISMAN et al., 2008). Segundo Heffer e Prud'homme (2008), o consumo de fertilizantes nitrogenados pode passar dos 105 milhões de toneladas (Mt) em 2010 para até 180 Mt em 2050.

Existem alternativas para nutrição de plantas que podem ser adotadas para buscar a segurança alimentar de forma mais sustentável, como o uso de inoculantes microbianos (STAMENKOVIĆ et al., 2018). Esses inoculantes incluem fungos micorrízicos arbusculares, rizóbios simbióticos fixadores de nitrogênio e bactérias associativas e endofíticas (HASSEN; BOPAPE; SANGER, 2016). Algumas bactérias associativas melhoram a absorção de nitrogênio pelas gramíneas, possivelmente devido ao aumento do crescimento das raízes, permitindo que as plantas explorem maior volume de solo (BEATTIE, 2015).

#### 4.3 BPCVS COMO INOCULANTES DE CULTURAS AGRÍCOLAS

O emprego de inoculantes microbianos surgiu como uma prática alinhada aos princípios da agricultura sustentável (BASHAN, 1998). Inoculantes para uso agrícola também são conhecidos como BPCVs. As BPCVs promovem o crescimento através de mecanismos diretos e indiretos. A promoção indireta do crescimento ocorre quando essas bactérias diminuem ou previnem efeitos deletérios de patógenos sobre as plantas. Na promoção direta do crescimento de plantas essas bactérias facilitam a aquisição de nutrientes do ambiente, incluindo nitrogênio, fósforo, ferro e manganês, ou modulam o crescimento de plantas alterando os níveis de hormônios vegetais como auxina, citocinina e etileno (GLICK, 2012).

A baixa disponibilidade de nutrientes em ambientes agrícolas é uma das principais restrições ao crescimento das plantas, especialmente em regiões tropicais (ETESAMI; MAHESHWARI, 2018). Bactérias associadas às raízes de plantas têm sido estudadas para melhorar a nutrição de plantas, e possivelmente, reduzir a necessidade de fertilizantes químicos e de agrotóxicos nos cultivos agrícolas (ADAIME et al., 2014).

O nitrogênio é um dos nutrientes que mais limita o crescimento de organismos vivos, incluindo plantas e bactérias. Grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados são aplicadas anualmente nos solo agrícolas (ZHANG et al., 2015). Apesar da abundância de nitrogênio na atmosfera da Terra, cerca de 78% deste se encontra na forma de nitrogênio gasoso ( $N_2$ ) e para ser assimilado pelas plantas, precisa ser convertido em amônio. Essa conversão requer grande quantidade de energia devido à estabilidade da ligação tripla do  $N_2$  (BAAS et al., 2014).

Diversas bactérias presentes nos ecossistemas, simbióticas, endofíticas ou associativas realizam a fixação do  $N_2$  e disponibiliza o nitrogênio para as plantas à custa de ATP, no processo de fixação biológica de nitrogênio (OLANREWaju; GLICK; BABALOLA, 2017). Uma gama de bactérias fixadoras de nitrogênio foi identificada, incluindo aquelas que fixam nitrogênio simbioticamente com plantas leguminosas específicas. Exemplos de simbiontes são: *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Burkholderia* e *Herbaspirillum* (PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014).

Inoculantes comerciais contendo BPCVs estão disponíveis em formulações sólidas ou líquidas. Os inoculantes líquidos simplificaram a produção industrial e a aplicação em campo em comparação às formulações sólidas como à base de turfa ou polímero. Por outro lado, as bactérias em inoculantes líquidos parecem ser mais sensíveis às condições estressantes e podem exibir menor viabilidade quando aplicadas em sementes ou no solo (HERRMANN; LESUEUR, 2013).

O interesse pelo desenvolvimento de inoculantes comerciais de bactérias fixadoras de vida livre e associativas, como *Azoarcus* sp., *Burkholderia* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Diazotrophicus* sp., *Herbaspirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Bacillus polymyxa* e, principalmente, *Azospirillum* sp. começou a partir do início do século XXI (VESSEY, 2003). De acordo com Bashan e de-Bashan (2015), inoculantes comerciais contendo *Azospirillum*, produzidos em diversos países têm sido eficazes em aumentar o rendimento de várias gramíneas.

*Azospirillum* é um gênero de BPCV com ampla ocorrência natural em solos de diversas partes do mundo (DÖBEREINER; PEDROSA 1987; HUERGO et al., 2008). Foi descrito pela primeira vez como *Spirillum lipoferum* por Beijerinck em 1925, sendo reclassificado em *Azospirillum* pelo grupo de pesquisadores da Dra. Johanna Döbereiner no Brasil, na década de 1970. Posteriormente, foram descritas as espécies *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (BALDANI; BALDANI, 2005).

O desafio das pesquisas pioneiras sobre diazotrofos endofíticos e outras bactérias promotoras do crescimento de plantas não foi apenas entender os processos bioquímicos e genéticos que caracterizam a base da promoção do crescimento vegetal, mas também a ecologia da interação com suas plantas hospedeiras. O objetivo final foi utilizar essas bactérias como "biofertilizantes" ou "bioestimulantes" para o estabelecimento de um manejo agrícola sustentável (HARTMANN et al., 2019).

Experimentos em campo de Hungria et al. (2010) avaliando o desempenho de linhagens selecionadas de *Azospirillum* resultaram na autorização das primeiras estirpes para

produção e uso de inoculantes comerciais no Brasil para trigo e milho. Entre as estirpes de *A. brasilense*, AbV5 e AbV6 - derivadas da estirpe Sp7 (TARRAND; KRIEG; DÖBEREINER, 1978) tem sido as mais utilizadas para a formulação de inoculantes. Embora o benefício mais citado de *Azospirillum* para as plantas seja a capacidade de fixar N<sub>2</sub>, vários estudos descrevem outras formas de promoção do crescimento das plantas (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018). Segundo Cassán e Diaz-Zorita (2016) além de fixar nitrogênio, *Azospirillum* tem forte efeito na produção de fitohormônios, especialmente ácido 3-indolacético (AIA). O *Azospirillum* melhora o suprimento de AIA às plantas o que favorece o crescimento das raízes e melhora a absorção de água e nutrientes (CASSÁN; OKON; CREUS, 2015).

Entretanto, os inoculantes contendo bactérias associativas e endofíticas não possuem adoção generalizada devido à dificuldade de reproduzir em campo os resultados obtidos em condições controladas segundo (MISHRA; ARORA, 2016). Para Bashan et al. (2014) o uso inadequado desses produtos representa a principal razão pela falta de sucesso desses inoculantes no campo. Os agroquímicos aplicados nas sementes podem reduzir o número de células bacterianas viáveis e causar uma má colonização radicular das bactérias no campo (HARTLEY; GEMELL; DEAKER, 2012).

#### 4.4 REVESTIMENTO DE SEMENTES PARA PROTEÇÃO DE BPCVS

Revestimento de sementes é uma tecnologia usada globalmente na indústria de sementes para melhorar o desempenho de sementes e plantas no campo (HU; GUAN, 2018). O revestimento de sementes de culturas com BPCVs permite uma aplicação precisa de pequenas quantidades de inóculos bacterianos na interface semente-solo, possibilitando a colonização das raízes nos estágios de germinação e desenvolvimento inicial das plantas, estimulando o estabelecimento saudável e rápido e, consequentemente, maximizando a produção agrícola (COLLA et al., 2015).

O revestimento de sementes com polímeros é a prática de cobrir as sementes com materiais externos para melhorar o manuseio, a proteção de BPCVs e, bem como favorecer a germinação e o estabelecimento das plantas. Com um valor anual superior a US \$ 1 bilhão de dólares, estima-se que o mercado de revestimento de sementes com polímeros chegue a US \$ 1,63 bilhão/ano até 2020. Essa tecnologia é principalmente desenvolvida pelo setor de pesquisa privado, com poucos vínculos com a comunidade científica pública (PEDRINI et al., 2017).

As formulações sintéticas baseadas em uma grande variedade de polímeros são testadas há décadas para a produção industrial de inoculantes (BASHAN; DE-BASHAN;

PRABHU, 2016). O uso de polímeros na formulação de inoculantes a base de BPCVs nas sementes podem ser um melhor veículo em relação à turfa, proporcionando vida útil mais longa do inoculante, melhor sobrevivência bacteriana no campo e densidade celular suficiente para colonização radicular (JOHN et al., 2011). Esses polímeros incluem alginato, ágar, kappa carragenina, pectina, quitosana (BASHAN et al., 2014). Além de revestimentos biodegradáveis desenvolvidos a partir da combinação de ingredientes como amido, gelatina e álcool polivinílico (VERCELHEZE et al., 2019).

O uso de protetores de inoculantes aplicados nas sementes contribui para a liberação controlada de microrganismos benéficos às plantas no solo. As propriedades dos polímeros são alteradas quando aplicados na semente, afetando positivamente sua capacidade de manter e proteger os microrganismos inoculados. Em muitos casos, os polímeros promovem o crescimento e a saúde das plantas e, simultaneamente induzem os microrganismos a liberar metabólitos secundários, provocando alterações na estrutura e integridade típicas dos polímeros de revestimento. Os metabólitos microbianos secundários combinados com os polímeros podem estimular o crescimento das plantas e exercer atividade de biocontrole (VASSILEV et al., 2020).

#### 4.5 TRATAMENTOS DE SEMENTES DE TRIGO COM FUNGICIDAS E INSETICIDAS

A semente é um insumo estratégico no controle de insetos e doenças (MUNKVOLD, 2009), inclusive na cultura do trigo, em que a maioria das doenças da parte aérea é transmitida pelas sementes (REIS; CASA, 2005). Nos últimos anos, o tratamento de sementes que entrega ao agricultor a proteção contra insetos e doenças junto com inoculantes tem sido cada vez mais difundido (ARAUJO et al., 2017). Incluir a inoculação de *Azospirillum* como componente bem sucedido no tratamento de sementes é um dos desafios da agricultura atual (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016).

Muitos dos fungos veiculados pelas sementes de trigo são os mesmos que causam as manchas foliares e atacam as espigas. Quando aplicados via tratamento de sementes, os fungicidas são absorvidos pelo sistema radicular e translocados via xilema para os órgãos aéreos (REIS; ZANATTA; BRUSTOLIN, 2011). O oídio (*Blumeria graminis* f. sp. tritici), mancha amarela (*Drechslera* spp.), mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana*), ferrugem das folhas (*Puccinia recondita* f.sp. tritici), giberela (*Gibberella zeae*) e brusone (*Pyricularia grisea*) estão entre as doenças mais importantes da cultura do trigo no Brasil (PICININI; FERNANDES, 2000).

O oídio ocorre de forma endêmica em áreas tritícolas na região Sul do Brasil (REIS; CASA, 2007). Os fungicidas com maior fungitoxicidade para *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera* spp., em ordem decrescente, são Triadimenol, Difenconazol, e Carboxina + Tiram. Embora não seja veiculado pela semente, o oídio pode ser controlado pelo tratamento de sementes com o triadimenol. Esse fungicida também controla a doença carvão (*Ustilago tritici*) (EMBRAPA, 2018).

Pulgões, percevejos, lagartas desfolhadoras e corós são os insetos que ocorrem com maior frequência na cultura do trigo (SÁ, 2006). Entre os afídeos associados ao trigo, *Rhopalosiphum padi* (L.) é a espécie mais relatada. Os danos causados por este pulgão ocorrem por alimentação direta e/ou pela transmissão de vírus patogênicos, como o BYDV (Barley yellow dwarf virus) (SAVARIS et al., 2013). Neonicotinóides são inseticidas sistêmicos, sendo absorvidos por todas as partes das plantas, portanto, são eficazes no controle de insetos sugadores e mastigadores (HUSSAIN et al., 2016).

Os neonicotinóides foram desenvolvidos na década de 1980, e o primeiro composto comercialmente disponível, o imidacloprid, destaca-se como o inseticida mais utilizado em todo o mundo (GOULSON, 2013). Os neonicotinóides são uma das principais classes de inseticidas representando quase 25% do comércio global. O uso de neonicotinóides está aumentando continuamente, especialmente para o tratamento de sementes, devido ao seu modo de ação sistêmico, aplicação contra um amplo espectro de praga e (KOHL et al., 2019).

O uso de tratamentos de sementes é comum em quase todos os cultivos, uma vez que a semente é o órgão mais utilizado para multiplicação das espécies agrícolas. São utilizados no tratamento de sementes fungicidas de diversas classes químicas, entre elas, triazóis, fenilpirróis, fenilamidas, benzimidazóis e estrobilurinas (ZEUN; SCALLIET; OOSTENDORP, 2013). Esses produtos visam combater os fitopatógenos que se alojam nas sementes e habitam o solo.

Em 2009, os triazóis ocupavam 20,3% do mercado global de fungicidas para tratamento de sementes, seguidos dos fungicidas à base de estrobilurinas, com 15,3%. Em 2011, os triazóis representaram 24,5% das vendas globais de fungicidas (LEADBEATER, 2014). Nas últimas décadas, os fungicidas triazólicos (Triadimenol, Difenconazol, Tebuconazol e Triticonazol) passaram a ser amplamente utilizados no tratamento de sementes de cereais, devido à ação sistêmica na planta e amplo espectro de ação contra fungos fitopatogênicos (MUNKVOLD, 2009).

O uso do tratamento de sementes tornou-se uma prática indispensável, pois além de garantir o estabelecimento da cultura através do controle de patógenos por ela transmitidos,

reduziu-se ou impediu sua introdução e disseminação na lavoura (LUDWIG et al., 2018). No entanto, fungicidas e inseticidas podem afetar negativamente a colonização de microrganismos do solo e reduzir a viabilidade de células bacterianas inoculadas em sementes (CAMPO; ARAUJO; HUNGRIA, 2009), devido aos potenciais efeitos tóxicos dos seus ingredientes ativos.

Há pouca informação disponível sobre a toxicidade dos agroquímicos empregados no tratamento de sementes para microrganismos não alvos, incluindo BPCVs. Como os modos de ação desses produtos são variados, eles podem afetar diferentes aspectos dos microrganismos benéficos, dificultando inferir sobre a compatibilidade entre esses produtos e os inoculantes microbianos (YANG et al., 2011). Alguns agroquímicos favorecem o crescimento de microrganismos, enquanto outros têm efeitos nocivos ou nenhum efeito quando aplicados nas doses adequadas (LO, 2010). Bashan e Holguin (1998) citam que, em condições de laboratório, os fungicidas Captan e Thiram foram muito tóxicos para *Azospirillum brasilense*. Em baixas concentrações de ambos os fungicidas, o crescimento celular e a fixação de N<sub>2</sub> foram inibidos.

Munareto et al. (2018) avaliaram características fisiológicas de sementes de trigo tratadas com o inseticida Thiamethoxam e o fungicida Difenconazol associado com *Azospirillum brasilense*. Avaliaram-se a germinação e vigor das sementes, o comprimento da parte aérea e da raiz, e a massa seca das plântulas nas cultivares de trigo TBIO Mestre, TBIO Itaipu e TBIO Sinuelo. As sementes de trigo mantiveram a sua qualidade fisiológica para as três cultivares independentemente da utilização ou não de fungicida, inseticida e *A. brasilense*. Na presença do inseticida Thiamethoxam e da inoculação com *A. brasilense* observaram-se os maiores comprimentos da parte aérea e raiz, enquanto na presença do Difenconazol esses parâmetros foram reduzidos.

A compatibilidade entre inoculantes agrícolas com produtos empregados no tratamento de sementes e sua especificidade em relação a cada cultura inoculada precisa ser melhor compreendida para evitar perda da qualidade de sementes (FIPKE et al., 2019) e viabilidade de células de BPCVs inoculadas em sementes (BERNABEU et al., 2018). Em poáceas, *Azospirillum brasilense* se caracteriza como a espécie mais estudada e recomendada para o uso de inoculantes comerciais devido à sua capacidade de fixação biológica de nitrogênio e de estimular a produção de hormônios vegetais (BASHAN; DE-BASHAN, 2010).

Experimento de campo avaliando os efeitos de inseticidas e fungicidas aplicados no tratamento de sementes combinados com inoculação de *Azospirillum brasilense*, no desenvolvimento e produtividade do trigo são escassos. Esse trabalho foi realizado em continuidade aos estudos conduzidos por Takahashi et al. (2020) em condições controladas.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O experimento campo foi conduzido na Fazenda Escola “Capão da Onça” da Universidade Estadual de Ponta Grossa (FESCON/ UEPG), localizada no município de Ponta Grossa, Estado do Paraná, Brasil (25°05'32"S; 50°03'45"W), e altitude média de 1.002 metros. O solo do experimento é um Latossolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA, 2018) e textura areno-argilosa. Durante a safra de inverno de 2018 a área do experimento foi cultivada com canola e, na safra de verão 2018/19, ficou em pousio.

Antes do início do experimento, para dessecação da área foram aplicados 3,0 L ha<sup>-1</sup> do herbicida Glifosato. A seguir, as plantas espontâneas foram roçadas mecanicamente. Antes da semeadura foi aplicado 1 L ha<sup>-1</sup> do herbicida 2,4-D-dimetilamina. Para controlar as plantas daninhas durante o cultivo do trigo, capina manual e aplicação dos herbicidas Metsulfurometílico e Clodinafope-propargil foram realizadas. O inseticida Permetrina foi aplicado para controlar grilos e pulgões, assim como o fungicida Epoxiconazol para controle de oídio e ferrugem da folha, quando estes atingiram o nível de dano econômico.

Amostras de solo foram coletadas para análises químicas e físicas. O solo apresentou densidade de 1,28 kg dm<sup>-3</sup>. As características químicas e granulométricas do solo antes do início do experimento são mostradas na Tabela 1. A partir dos resultados da análise de solo, no dia 10 de maio de 2019 foi realizada calagem para elevar a saturação por bases para 70%. Utilizou-se o hidróxido de cálcio e magnésio, contendo 40% de CaO e 27% de MgO, e Poder Relativo de Neutralização Total (PRNT) de 137% aplicado em superfície.

A semeadura foi realizada no dia 19 de junho de 2019. A fertilização (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O) foi realizada de acordo com SCSB/NEPAR (2017) para uma expectativa de produtividade de 4.500 kg ha<sup>-1</sup> de grãos. A dose de nitrogênio foi de 120 kg ha<sup>-1</sup>, sendo 30 kg ha<sup>-1</sup> na semeadura e 90 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura, 35 dias após a emergência, na forma de uréia (45% N). Ao final do ciclo da cultura foi realizada nova análise química do solo (tabela 2).

**Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo antes da instalação do experimento.**

Prof.	pH	H + Al	Al	Ca	Mg	K	P	S	C	V	Argila	Silte	Areia
(cm)	CaCl <sub>2</sub>	mm <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					mg dm <sup>-3</sup>		g dm <sup>-3</sup>	%	g kg <sup>-1</sup>		
0-20	4,4	9,2	1,2	2,3	0,3	0,3	21,4	14,0	2,8	24,0	333	72	595

**Tabela 2. Características químicas do solo após o ciclo da cultura.**

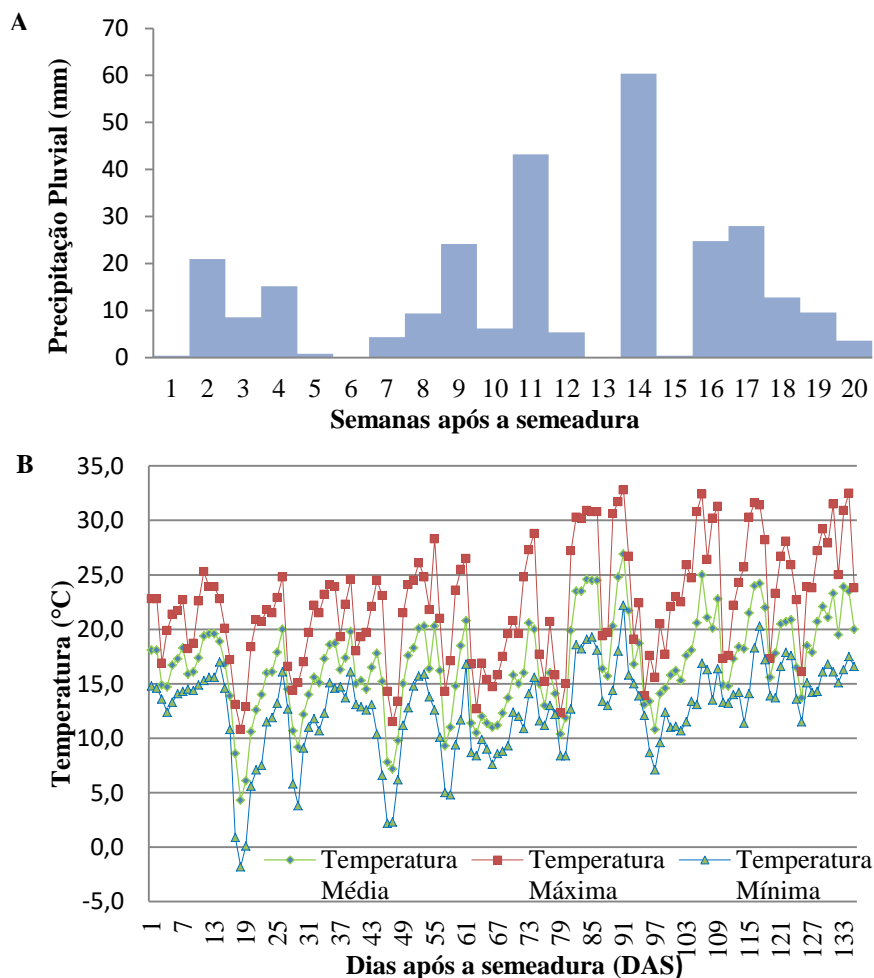
Prof.	pH	H + Al	Al	Ca	Mg	K	P	S	C	V
(cm)	CaCl <sub>2</sub>	mm <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					mg dm <sup>-3</sup>		g dm <sup>-3</sup>	%
0-20	5,4	5,55	0,0	4,2	3,0	0,4	21,4	-	26	57,6

Prof. = profundidade. <sup>1</sup>P extraído com solução de Mehlich 1. <sup>2</sup>V= Saturação por bases.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DO CLIMA

Conforme a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo subtropical úmido (Cfb). A precipitação pluvial ocorrida durante o ciclo da cultura do trigo foi de 278,4 mm. Os dados de precipitação pluvial, umidade e temperatura registrados durante a condução do experimento encontram-se na Figura 1.

**Figura 1.** Precipitação (mm) acumulada semanalmente após a semeadura (A) e temperatura média, máxima e mínima diárias após a semeadura (B). Fonte: Mini Farm - BASF/AS.



## 5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial 3x3, representado pelas combinações dos fatores de tratamento de sementes e inoculação de *Azospirillum brasilense*. Os tratamentos das sementes foram: sem tratamento; tratamento das sementes com inseticidas e fungicidas; e tratamento com inseticida e fungicida + protetor celular. Os tratamentos com inoculação das sementes com *A. brasilense* foram: sem inoculante; inoculação pouco antes da semeadura (0 h) e inoculação 24 horas antes da semeadura. Os esquemas detalhados dos tratamentos são mostrados na Tabela 3.

**Tabela 3 Esquema dos tratamentos de sementes associados aos inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* (Ponta Grossa-PR, 2019).**

Tratamentos	Tratamento de Semente	Inoculação com <i>A. brasilense</i>
1	Sem tratamento de semente	Sem Inoculação
2		Inoculação 24 horas antes da semeadura
3		Inoculação pouco antes da semeadura
4	Tratamento de semente	Sem Inoculação
5		Inoculação 24 horas antes da semeadura
5		Inoculação pouco antes da semeadura
7	Tratamento de semente + protetor celular	Sem Inoculação
8		Inoculação 24 horas antes da semeadura
9		Inoculação pouco antes da semeadura

#### 5.4 MATERIAIS

Foram utilizadas sementes de trigo (*Triticum aestivum*) cultivar TBIO Sossego. Preliminarmente, as sementes foram submetidas ao tratamento com o fungicida Triadimenol e o inseticida Imidacloprid + Tiodicarbe. O inseticida foi aplicado na dose de 350 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes e o fungicida na dose 270 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, conforme recomendação do fabricante.

Na inoculação das sementes foi utilizado um inoculante comercial contendo *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 e o protetor celular da mesma empresa fabricante do inoculante. Nos respectivos tempos antes da semeadura (0 e 24 h) o inoculante foi misturado com o protetor celular em tubos de vidro de 10 mL e inoculado nas sementes em sacos de polipropileno. Para realizar a inoculação, as sementes foram acondicionadas nos sacos de polipropileno, e a mistura do inoculante e protetor celular, adicionada sobre as sementes.

O inoculante líquido contendo  $2,0 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC) mL<sup>-1</sup> foi utilizado na dose de 2,5 mL kg<sup>-1</sup> de sementes, dosado com o auxílio de pipetas. Em seguida, os sacos de polipropileno foram agitados manualmente até a completa cobertura das sementes. Os sacos de polipropileno foram amarrados de maneira que restasse no seu interior ar suficiente para que permanecesse na forma de “balões” e acondicionados na sombra até o momento de semeadura.

A semeadura foi realizada mecanicamente, utilizando-se a densidade de 80 sementes m<sup>-1</sup>, visando obter uma população final de cerca de 300 plantas m<sup>-2</sup>. A profundidade de semeadura ficou entre 2 e 5 centímetros (cm). As parcelas experimentais consistiram de 9 linhas com 8 metros de comprimento, espaçadas entre si de 20 cm. Cada parcela recebeu 200 gramas de sementes de trigo. A área útil de cada parcela foi considerada eliminando-se duas linhas em cada lateral e pelo menos um metro no início e fim da parcela, resultando em seis metros quadrados (m<sup>2</sup>).

## 5.5 AVALIAÇÕES

### 5.5.1 Emergência e Crescimento Inicial

A emergência de plântulas de trigo foi avaliada aos 15 dias após a semeadura (DAS) quando as plantas se encontrava no estágio 1 (afilhamento) da escala fenológica de Feeks e Large (LARGE, 1954). O número de plântulas emergidas foi contabilizado em um metro linear, em seis repetições dentro da área útil de cada parcela. No estágio 6 da escala de Feeks e Large (alongamento do colmo), aos 36 DAS, foi avaliada a altura de plantas, considerada a partir da superfície do solo até o ponto mais alto da folha superior. Foram medidas 10 plantas por parcela com régua graduada em milímetros. Aos 38 DAS o número de perfilhos foi contado em 10 plantas de cada parcela.

### 5.5.2 Índice de Clorofila Foliar

O índice de clorofila foliar (ICF) foi medido indiretamente no terço médio da folha da bandeira em seis plantas por parcela no período de florescimento (73 DAS), estágio 10.5.1 da escala de Feeks e Large. Foi utilizado o medidor digital modelo CFL 1030 (Falker Automação Agrícola Ltda., Porto Alegre, RS, Brasil). O medidor de clorofila Falker ClorofiLOG<sup>®</sup> 1030 emite luz em três comprimentos de onda ( $\lambda$ ), 635 e 660 nm (vermelho) e 880 nm (infravermelho), e indica o índice de clorofila foliar.

### 5.5.3 Componentes de Produção e Produtividade

Na fase de maturação, 10 espigas foram coletadas aleatoriamente na área útil da parcela, acondicionadas em sacos de papel Kraft, devidamente identificadas e submetidas à contagem para quantificar o número de sementes por espiga. No final do ciclo, as parcelas foram colhidas mecanicamente, limpas com a ajuda de peneiras, secas em condições naturais e acondicionada em sacos de papel Kraft. A partir da massa de grãos obtida da área útil da parcela, e a pesagem dos mesmos em uma balança analítica, foi obtida a produtividade. O teor de umidade dos grãos foi determinado pelo método do forno de secagem a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  por 24 h, utilizando duas subamostras de 5,0 g de grãos para cada parcela (BRASIL, 2009). A umidade do grão foi corrigida para 13% e, em seguida, foi calculado o rendimento em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

O peso do hectolitro de grãos foi determinado por pesagem em balança eletrônica com volume conhecido (225 mL), utilizando duas repetições por parcela, obtidas no dispositivo Dalle Molle<sup>®</sup> e expressando resultados em  $\text{kg hL}^{-1}$  (BRASIL, 2009). A massa de mil sementes foi determinada por pesagem de 6 subamostras de 100 sementes para cada repetição

de campo, com auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,001 g e os resultados foram multiplicados por 10 (BRASIL, 2009).

#### 5.5.4 Teor de Nitrogênio nos Grãos e Acúmulo de N ( $\text{kg ha}^{-1}$ )

Após a determinação da produtividade, amostras dos grãos foram submetidas a moagem e seguindo a metodologia proposta por Malavolta et al. (1997) foi determinado do Teor do Nitrogênio. Posteriormente, o acúmulo de N foi calculado em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

#### 5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro-Wilk. Após verificar que os dados se encontravam dentro da distribuição de normal foi realizada análise de variância, e nos casos em que houve efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Foi utilizado o software R versão 3.5.1.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo dos 4 meses de cultivo do trigo no campo foi avaliado o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 em sementes tratadas com inseticida e fungicida, a partir da avaliação da emergência, número de perfilhos por planta, altura das plantas, ICF, produtividade, teor de nitrogênio nos grãos e acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>).

### 6.1 EFEITOS NA EMERGÊNCIA E CRESCIMENTO INICIAL

Apesar de não terem sido observadas diferenças significativas entre os tratamentos nos parâmetros emergência de plântulas e número de perfilhos por planta, houve diferença para o parâmetro altura de plantas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4). O tratamento de sementes associado à inoculação com *A. brasilense* combinando com o protetor de inoculação promoveu acréscimo de até 19,53% na altura de plantas em relação à testemunha sem tratamento de sementes e inoculação.

As plantas mais altas foram observadas quando *A. brasilense* foi inoculado pouco antes da semeadura combinado com o tratamento de sementes + protetor celular (22,83 cm). A menor altura de, 19,10 cm, foi observada na ausência de tratamento de sementes e inoculação com *A. brasilense*. Aos 16, 17 e 18 DAS (05, 06 e 07/07/2019), foram registradas, respectivamente temperaturas mínimas de 0,9, -1,8 e 0,1°C ocorrência de geada severa que afetou todas as parcelas experimentais e reduziu a altura das plantas.

**Tabela 4. Avaliação do número de plântulas emergidas, altura de plantas em centímetros (cm), e número de perfilhos, influenciados pelos níveis de *A. brasilense* : sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h); e níveis de tratamento de sementes: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor celular (TS + PC).**

Emergência			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	56,56 ± 5,48 Aa	52,33 ± 11,74 Aa	46,17 ± 5,77Aa
T.S	57,61 ± 9,48 Aa	54,28 ± 2,98 Aa	64,45 ± 3,07Aa
T.S+P.C	55,06 ± 10,57 Aa	62,22 ± 2,94 Aa	57,00 ± 6,86 Aa
Altura de Plantas (cm)			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	19,10 ± 1,21 Bb	20,13 ± 0,91 Ba	20,27 ± 0,31 Ba
T.S	21,72 ± 0,63 Ab	22,20 ± 0,98 Aa	22,22 ± 0,73 Aa
T.S+P.C	21,53 ± 0,41 Ab	22,33 ± 0,62 Aa	22,83 ± 0,27 Aa
Número de Perfilhos			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	2,00 ± 0,20 Aa	2,40 ± 0,26 Aa	2,57 ± 0,12 Aa
T.S	2,17 ± 0,32 Aa	2,47 ± 0,31 Aa	2,67 ± 0,15 Aa
T.S+P.C	2,27 ± 0,15 Aa	2,60 ± 0,36 Aa	2,70 ± 0,30 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A emergência, altura de plantas e número de perfilhos foram avaliados, respectivamente aos 15, 36 e 38 DAS (dias após semeadura).

Embora não seja uma característica desejável ao selecionar plantas na maioria dos sistemas de cultivo, a altura de plantas é o atributo mais comumente associado à competitividade do trigo em relação às plantas daninhas. Outras características como vigor precoce, número de perfilhos e área foliar também influenciam a capacidade competitiva (LEMERLE et al., 2001). As plantas mais altas possuem a maioria de suas folhas posicionadas no dossel superior e, portanto, são capazes de interceptar mais luz e restringir o crescimento de plantas menores por sombreamento (WALSH et al., 2018).

Ao testar genótipos de trigo com diferentes alturas, Zerner et al. (2008) observaram que o aumento da altura das plantas de *Triticum aestivum* melhorou sua capacidade de tolerar e suprimir a aveia, reduzindo a produção de sementes das plantas daninhas em até 41%. A altura de plantas medida aos 21 DAS variou entre 32,6 cm e 30,4 cm, e 27,5 cm a 25,1 cm, no primeiro e segundo ano, respectivamente. Entretanto, a altura de plantas não influenciou a produtividade do trigo em ambas as safras.

Os efeitos da inoculação de *Azospirillum brasilense* FP2 no crescimento de plantas de trigo (cv. TBIO Sossego) foram estudados anteriormente por Takahashi et al. (2020) em casa de vegetação. Aos 28 DAS, a inoculação proporcionou aumento de 33% no comprimento da parte aérea e, de 53% na biomassa da parte aérea, em relação ao tratamento sem inoculação. Ao inocular *A. brasilense* FP2 em sementes tratadas com o inseticida Imidacloprid + Tiodicarb e o fungicida Triadimenol houve redução de 20-40% do potencial de *A. brasilense* promover o crescimento da parte aérea. A adição de protetor celular aliviou os efeitos negativos dos agroquímicos utilizados no tratamento de sementes, com valores biométricos próximos ao controle (sem tratamento de sementes).

## 6.2 EFEITOS NO ÍNDICE DE CLOROFILA FOLIAR

Os medidores de clorofila fornecem uma leitura que está fortemente relacionada ao conteúdo real de clorofila (PADILLA et al., 2018) e é um indicador do teor de proteína nos grãos e produtividade (RAVIER; QUEMADA; JEUFFROY, 2017). Entre os medidores portáteis, Minolta SPAD<sup>®</sup> 502 e Falker ClorofiLOG<sup>®</sup> 1030 são amplamente utilizados nos trabalhos de pesquisas em campo. Na presença do tratamento de sementes e a inoculação com *A. brasilense* combinada com o protetor influenciou positivamente o índice de clorofila (ICF) na fase de florescimento (Tabela 5).

**Tabela 5. Índice de Clorofila Foliar (ICF) influenciado pelos tratamentos de *A. brasilense*: sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e agroquímicos: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).**

<b>Índice de Clorofila Foliar (ICF)</b>			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	40,05 ± 0,13 Bc	40,30 ± 0,31 Bb	40,64 ± 0,29 Ba
T.S	40,41 ± 0,26 Ac	40,92 ± 0,13 Ab	41,52 ± 0,59 Aa
T.S+P.C	40,24 ± 0,42 Ac	41,21 ± 0,32 Ab	41,68 ± 0,55 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p < 0,05). Índice de Clorofila Foliar avaliado aos 73 DAS.

Avaliando a eficiência dos medidores portáteis, Schlichting et al., (SCHLICHTING et al., 2015) mostraram que apenas o ICF obtido com o medidor Falker ClorofiLOG® 1030 foi equivalente aos valores de clorofila determinados em laboratório (p < 0,01). As avaliações de clorofila foram realizadas nas mesmas folhas (+1 e +2 abaixo da folha bandeira) aos 47 DAS em plantas de trigo cultivadas em casa de vegetação. Os valores de ICF dos medidores Minolta SPAD® 502 e Falker ClorofiLOG® 1030 foram, respectivamente de 38,48 e 40,94, e o teor de clorofila determinado em laboratório foi de 42,49 µg mL<sup>-1</sup>.

A inoculação de *A. brasilense* pouco antes da semeadura resultou em ICF superior a inoculação 24 h antes da semeadura em todos os tratamento de sementes. Na presença do TS (inseticida e fungicida) e TS + PC os valores de ICF (41,52 e 41,68) situaram-se acima do nível crítico indicado por Fox et al. (1994) que foi de 41, quando utilizou a leitura do medidor portátil para prever a necessidade de N em plantas de trigo. Este nível crítico de nitrogênio está relacionado ao valor de índice de nutrição de nitrogênio (INN) que indica se o estado nutricional de N da cultura é limitante para sua produção máxima (MISTELE; SCHMIDHALTER, 2008).

A determinação de INN requer a medição do conteúdo de N na planta e sua biomassa (JUSTES, 1994). Nas folhas, a maior parte do N está contida no aparelho fotossintético e nas enzimas envolvidas na fotossíntese (TAIZ et al 2017). A análise de tecido vegetal (digestão de Kjeldahl e combustão de Dumas) tem sido usada como técnica de referência para estimar o status de N da planta. No entanto, essas análises envolvem tempo e custo, enquanto os medidores portáteis de clorofila podem fornecer resultados rápidos para fins de diagnóstico do N na planta (MUÑOZ-HUERTA et al., 2013).

Quando a inoculação não foi realizada, o ICF foi inferior em relação à inoculação de *Azospirillum* 24 h antes da semeadura. Contudo, mesmo no tratamento controle (sem inoculação e sem TS) o ICF foi superior a 40. Nesse tratamento, a produtividade foi de 4.084 kg ha<sup>-1</sup>. Em outros trabalhos, o valor crítico de ICF medido na folha bandeira de trigo obtido por Follet et al. (1992) foi de 42, e para Reeves et al. (1993) variou entre 37 e 42. O ICF

obtido pelos medidores portáteis pode ser influenciado por fatores como pragas e doenças, espessura da folha, irradiância solar, (SAMBORSKI; TREMBLAY; FALLON, 2009), disponibilidade de água e nutrientes (FIORENTINI et al., 2019), cultivar e fase de desenvolvimento (PARRY; BLONQUIST; BUGBEE, 2014).

Em relação aos efeitos tratamentos dos agroquímicos, na presença ou ausência de protetor de inoculação não houve diferença significativa. Os tratamentos de sementes (TS e TS + PC) apresentaram ICF superior à condição sem TS. Ao inocular *A. brasilense* pouco antes da semeadura combinado com TS e TS + PC foram obtidos os maiores valores de ICF, assim como as maiores produtividades entre os tratamentos. Conforme Ravier et al (2017), o ICF é um indicador relevante de conteúdo de proteína de grãos e produtividade. Quando a inoculação foi realizada 24 h antes da semeadura associado ao TS + PC, o ICF foi 41,21 e a produtividade 4.620 kg ha<sup>-1</sup>.

Em um experimento de campo com trigo irrigado no Cerrado Brasileiro, Galindo et al (2017) constataram efeito significativo da inoculação de *A. brasilense* e adubação nitrogenada para o ICF no ano de 2014. Ao aplicar 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, o ICF com inoculação de *A. brasilense* foi 61,41, e sem inoculação 54,42. Foi observada interação significativa ajustada em modelo de função linear entre as doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>) e o ICF medido pelo ClorofiLOG<sup>®</sup> 1030 na folha bandeira, no período do florescimento. Esta interação foi atribuída ao aumento da concentração de clorofila promovido pelo acúmulo crescente de N total na parte vegetativa do trigo. Entretanto, a produtividade máxima obtida foi de 3,54 t ha<sup>-1</sup>, com a dose de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Ao avaliar a reposta de cinco genótipos de trigo (*Triticum aestivum*) à inoculação isolada de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (Sp7 e Sp7-S), Kazi et al. (2016) observaram valores de ICF de 40,4 a 43,8 aos 43 DAS em experimento de campo na Austrália. Foi utilizado o medidor de clorofila SPAD 502 e aplicadas doses de até 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Para ICF, o efeito da inoculação em relação ao controle foi observado apenas para a estirpe Sp7-S, e em uma só cultivar ( $p \leq 0,05$ ). Quando inoculada a estirpe Sp-7S, o valor médio do ICF foi 43,7, e no tratamento controle sem inoculação, 40,4. No entanto, ambos os tratamentos registraram a produtividade de 4,46 t ha<sup>-1</sup>.

Inoculantes contendo apenas uma cepa bacteriana podem não ser efetivos em condições de campo (GOVINDARAJAN et al., 2008). Dal Cortivo et al. (2017) estudaram o efeito do inoculante comercial TripleN<sup>®</sup> contendo *Azorhizobium* spp., *Azoarcus* spp. e *Azospirillum* spp. em duas cultivares de trigo na Itália. Na safra 2014/2015 o ICF médio de 42,9 obtido com inoculação das BPCV's foi superior ao ICF de 41,5, observado quando não

houve a inoculação, e manteve-se a dose de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N ( $p \leq 0,05$ ). A inoculação proporcionou aumento de 141 kg ha<sup>-1</sup> no rendimento de grãos, registrando valores, respectivamente de 5.745 e 5.604 kg ha<sup>-1</sup>.

### 6.3 EFEITOS NOS COMPONENTES DE PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE

Foram observadas diferentes interações entre os tratamentos de sementes e com inoculação de *A. brasilense* para os resultados obtidos dos componentes de produção: peso de mil grãos (PMG); número de grãos por espiga; e peso do hectolitro (PH) (Tabela 6). O PH, também referido em alguns países como bushel, teste específico ou massa do hectolitro (HOOK, 1984), é o peso de um volume padrão de grão (1 hL = 10<sup>2</sup> L) e também considerada uma medida da densidade aparente (DONELSON et al., 2002). Apenas quando a semeadura foi realizada logo após a inoculação, e aplicado o TS e TS + PC foram obtidos valores de PH acima de 78 kg hL<sup>-1</sup>. Esses valores classificam o trigo no tipo 1, agregando mais valor na comercialização da produção (BRASIL, 2011). O peso do hectolitro é um importante indicador da qualidade física do trigo e há muito tempo é reconhecido como um indicador do potencial rendimento da farinha (MANLEY et al., 2009). Fatores como doenças, déficit hídrico, tombamento, colheita prematura ou má limpeza após a colheita reduzem o peso do hectolitro do grão (CLARKE et al., 2018).

**Tabela 6. Peso hectolítico (kg hL<sup>-1</sup>), peso de mil grãos (g), e número de grãos por espiga, influenciados pelos tratamentos de *A. brasilense*: sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e agroquímicos: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).**

Peso hectolítico (kg hL <sup>-1</sup> )			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	75,90 ± 0,10 ABb	75,43 ± 0,40 Bb	76,57 ± 0,98 Ba
T.S	74,83 ± 0,92 Bb	77,77 ± 0,12 Aa	78,52 ± 0,33 Aa
T.S+P.C	77,02 ± 0,83 Aab	76,95 ± 0,69 Ab	78,30 ± 0,26 Aa
Peso de mil grãos (g)			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	39,60 ± 0,13Bc	39,85 ± 0,31 Bb	40,19 ± 0,29 Ba
T.S	39,95 ± 0,42 Ac	40,50 ± 0,13 Ab	41,07 ± 0,59 Aa
T.S+P.C	39,79 ± 0,26 Ac	40,76 ± 0,32 Ab	41,23 ± 0,55 Aa
Grãos por espiga			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	39,87 ± 0,97 Bb	40,57 ± 1,23 Bb	42,80 ± 0,78 Ba
T.S	41,03 ± 0,92 Bb	41,13 ± 1,10 Bb	43,83 ± 0,81 Ba
T.S+P.C	42,73 Ab	42,17 ± 1,09 Ab	44,47 ± 1,72 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Respostas do PH à inoculação com *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) também foram observadas por Piccini et al. (2013). Valores de PH de 78,33 kg hL<sup>-1</sup> e 78,50 kg hL<sup>-1</sup> foram obtidos utilizando inoculante líquido e dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N nos anos de 2010 e 2011,

respectivamente. Quando não utilizou inoculante e manteve-se a mesma dose de N os valores de PH foram 76,41 kg hL<sup>-1</sup> e 77,75 hL<sup>-1</sup> nas respectivas safras. Todavia, não é mencionado se foi empregado o tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas.

A inoculação com *Azospirillum* 0 h antes da semeadura promoveu PMG maior que a inoculação com *Azospirillum* 24 h antes da semeadura, que por sua vez foi superior ao tratamento sem inoculação de *Azospirillum* ( $p < 0,05$ ), nos três níveis de TS. Quando aplicado TS + PC associado à inoculação com *Azospirillum* o aumento no PMG foi de até 4,12 % em relação ao tratamento controle, sem TS e sem inoculação. Nessa condição foi observado o menor valor para PMG (39,56 g) entre todos os tratamentos.

Em relação ao efeito do tratamento de semente sobre o PMG, entre TS e TS + PC não houve diferença significativa, porém, ambos foram superiores à condição sem TS ( $p < 0,05$ ). O peso de mil grãos pode se relacionar negativamente com o peso do grão por m<sup>2</sup> (produtividade) e é influenciado pelo genótipo (SADRAS; SLAFER, 2012). No presente estudo, esse componente de produção se comportou de maneira semelhante às demais variáveis estudadas, convergindo com as produtividades obtidas.

Utilizando a cultivar de trigo CD 150, Piccini et al. (2013) obtiveram média de 31,50 g para peso médio de mil grãos utilizando inoculante líquido contendo *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6 e dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Enquanto sem inoculação e mesma dose de nitrogênio, o peso de mil grãos foi de 28,16 g, condição em que foram relatados sintomas leves de deficiência de N. Conforme Feng et al (2018), a maioria dos estudos de melhoramento genético atribui o aumento da produção de trigo nas últimas décadas a aumentos no número de grãos por espiga e peso de mil grãos.

Assim como para PMG, a semeadura logo após a inoculação de *Azospirillum* promoveu maior número de grãos por espiga em relação à inoculação 24 h antes da semeadura, e sem inoculação, para todos os tratamentos de sementes. Entre esses dois últimos tratamentos de *Azospirillum* não houve diferença significativa. Para efeito de TS, quando o fungicida + inseticida foi aplicado em conjunto com o protetor celular, a média de grãos por espiga foi superior aos demais níveis (TS e sem TS).

A inoculação de *A. brasilense* pouco antes da semeadura com TS promoveu incremento de grãos por espiga de 9,93%, e com TS + PC, de 11,54%, ambos em relação ao tratamento controle. O tratamento controle produziu 39,87 grãos por espiga. Quando a inoculação foi 24 h antes da semeadura, a combinação de TS + PC proporcionou aumento de

5,77%. Comparando entre os tratamentos de sementes, a adição do protetor celular resultou em maior número de grãos por espiga em todos os tratamentos de *A. brasilense*.

O protetor celular alivia as condições estressantes encontradas pelas células bacterianas, principalmente a presença de inseticida e fungicida nas sementes (BASHAN; DE-BASHAN; PRABHU, 2016). Takahashi et al. (2020) observaram que o número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *A. brasilense* em sementes de trigo tratadas com Imidacloprid + Tiodicarbe e Triadimenol decresce significativamente 24h após a inoculação em relação à contagem 4 h após inoculação. Apesar da redução, quando o protetor celular foi adicionado observou-se que ainda havia cerca de  $10^5$  UFC/sementes. Esse é um valor considerado mínimo de células bacterianas viáveis nas sementes para se obter uma boa produção da cultura inoculada (BHARTI et al., 2017).

Entre os componentes de produção avaliados neste trabalho, o número de grãos por espiga foi o que mais regulou o rendimento do trigo (SLAFER; SAVIN; SADRAS, 2014). A inoculação com *Azospirillum brasilense* melhora o suprimento de água e N das plantas (CASSÁN; OKON; CREUS, 2015) e promove a produção de mais grãos por espiga, pois a produção de grãos está intimamente ligada à disponibilidade e absorção de água e N (BARRACLOUGH et al., 2010).

Durante o crescimento do trigo, a absorção de nutrientes pelas raízes diminui e inicia-se a remobilização do N acumulado nas partes vegetativas para os grãos (MAILLARD et al., 2015). O N acumulado antes do florescimento é responsável por até 90% do N remobilizado (KONG et al., 2016). Conforme Robertson e Vitousek (2009), as plantas de trigo requerem 20-25 kg de N para cada 1.000 kg de grãos produzidos. Contudo, o rendimento de grãos é afetado por todos os eventos que ocorrem durante o ciclo da cultura. Na Figura 2 são mostradas as produtividades obtidas no experimento.

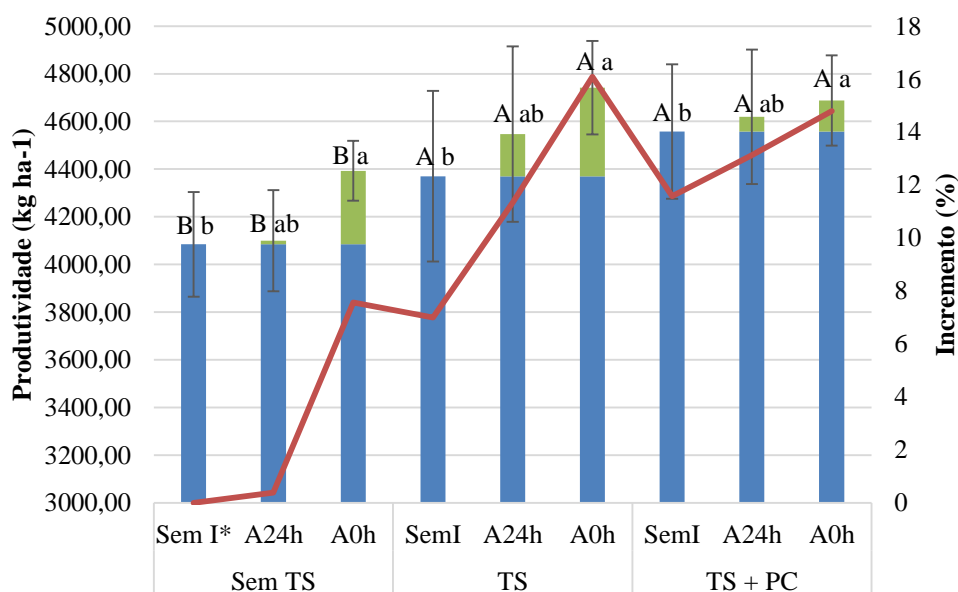
A inoculação de *A. brasilense* pouco antes da semeadura combinada com TS, e TS + PC apresentaram, respectivamente os melhores rendimentos médios ( $4.771,27 \text{ kg ha}^{-1}$  e  $4.688,36 \text{ kg ha}^{-1}$ ). Esses valores representam aumentos de produtividade de 16,09% ( $671,82 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e 14,79% ( $604,23 \text{ kg ha}^{-1}$ ) em relação ao tratamento controle. Hungria et al (2010) obtiveram incremento de 31% na produtividade de trigo em relação ao tratamento controle sem inoculação, alcançando produtividades de  $2,7 \text{ t ha}^{-1}$  de trigo, aplicando o *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6 nas sementes e utilizando a dose de  $20 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na semeadura.

Em outro experimento de campo, Fukami et al. (2016) testaram diferentes métodos de aplicação de *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6, incluindo a inoculação nas sementes na cultura do trigo. A inoculação de *A. brasilense* associada à adubação de  $24 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na

semeadura, mais 90 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura proporcionou incremento de 14,28% (400 kg ha<sup>-1</sup>) na produtividade comparado ao tratamento sem inoculação e com a mesma dose de N, atingindo rendimento de 3,2 t ha<sup>-1</sup>. No tratamento de sementes utilizou-se o fungicida Metalaxil + Fludioxonil e os inseticidas Pirimifós-metílico e Deltametrina, embora não tenha sido avaliado o efeito desses agroquímicos, uma vez que foram aplicados em todos os tratamentos desse experimento.

O fungicida Metalaxil pertence ao grupo químico das fenilamidas e o Fludioxonil ao grupo químico dos fenilpirróis. Pirimifós-metílico é um inseticida organofosforado e Deltametrina, um piretróide, ambos possuem modo de ação de contato/ingestão. Os neonicotinóides são inseticidas sistêmicos, e o uso destes nos tratamentos de sementes está ganhando popularidade devido a seletividade para certas pragas, proteção por um período maior e uso reduzido de ingrediente ativo (KOHL et al., 2019).

**Figura 2. Produtividade dos tratamentos (kg ha<sup>-1</sup>) e incremento no rendimento de grãos em relação ao tratamento controle (em porcentagem - %).**



Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas entre tratamentos de sementes, e minúsculas entre tratamentos de *A. brasilense*, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* Tratamento Controle: Sem Tratamento das Sementes com Inseticida e Fungicida e sem Inoculação com *Azospirillum brasilense*

Analisando 297 experimentos de campo na região dos pampas da Argentina com inoculação de *A. brasilense* INTA Az-39 na cultura do trigo, Díaz-Zorita e Fernández-Canigia (2009) observaram um aumento médio de 6% no rendimento de grãos em relação ao controle sem inoculação em 70% dos casos. Segundo os autores, cada experimento foi manejado de acordo com as recomendações locais para alcançar altos rendimentos. Em quase todos os locais, as sementes foram tratadas com fungicidas contendo os ingredientes ativos:

Carbendazim e Thiram, Tebucanazol ou Triticanazole. No entanto, não foi informado se foram utilizados inseticidas no tratamento de sementes.

O fungicida Carbendazim é do grupo químico dos Benzimidzóis e o Thiram, do grupo Dimetilditiocarbamato. Esse último, e o Captan (outro fungicida de tratamento de sementes) são conhecidos como fungicidas multissítios, agindo em diversos pontos do metabolismo do fungo simultaneamente (YANG et al., 2011). Tebucanazol e Triticanazole são fungicidas triazóis, mesmo grupo químico do Triadimenol, utilizado neste experimento de campo. Os fungicidas triazóis atuam inibindo a biossíntese de esteróis de membranas celulares de fungos (LUCAS; HAWKINS; FRAAIJE, 2015).

Em experimento de cultivo hidropônico, Pereyra et al (2009) observaram que o fungicida Tebuconazol aplicado na semente de trigo não afetou a colonização de *Azospirillum brasilense* Sp245 em plântulas de trigo. A contagem de células bacterianas foi realizada 48 e 72 h após a inoculação. Após 72 h o número de células de *A. brasilense* foi  $6 \times 10^7$ /g de raiz, muito próximo da contagem às 48 h ( $3 \times 10^7$ /g de raiz). A inoculação de *Azospirillum* na ausência do Tebuconazol promoveu maior comprimento do coleótilo em plântulas irrigadas 48 h após a inoculação. No entanto, 72 h após a inoculação, o comprimento do coleótilo não se alterou na presença do Tebuconazol, e também quando este foi aplicado sozinho, sugerindo que o fungicida também exerceu efeito promotor de crescimento.

Araújo e Araújo (2006) avaliaram o efeito de fungicidas na sobrevivência e nodulação de *Rhizobium tropici* no feijão (*Phaseolus vulgaris*) em laboratório e em casa de vegetação. Foram empregados os fungicidas Captan, Carboxina e Carboxina + Thiram e semeadura 0 e 24 h após o tratamento da semente e inoculação. A sobrevivência de *Rhizobium tropici* na semente foi reduzida pelos fungicidas Carboxina e Carboxina + Thiram tanto no tempo zero como após 24 h o contato do inoculante com os fungicidas. Na nodulação não houve diferença significativa dos tratamentos combinando fungicida e inoculação em relação ao controle (sem tratamento de semente e sem inoculação), sugerindo que a nodulação foi devida ao *Rhizobium* nativo do solo.

Sangoi et al (2015) avaliaram o efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* em dois níveis de manejo na cultura do milho com doses de N de acordo com a expectativa de produtividade (8.000 e 18.000 kg ha<sup>-1</sup>). No nível de manejo médio, utilizou-se a variedade SCS 155 Catarina, e no nível alto, o híbrido simples P30R50H. Em ambos os manejos, aplicou-se o Imidacloprid + Tiodicarbe e Fludioxonil + Metalaxyl no tratamento de sementes. No manejo médio, *A. brasilense* aumentou a produção em 338,33 kg ha<sup>-1</sup> para doses de N entre 65 a 195 kg ha<sup>-1</sup>, com produtividade média de 9.574 kg ha<sup>-1</sup>. No alto nível de manejo, na

dose de 140 kg ha<sup>-1</sup> de N, *Azospirillum* promoveu aumento de 144 kg ha<sup>-1</sup>, alcançando produtividade de 13.335 kg ha<sup>-1</sup>. No entanto, não foi observado efeito da inoculação com as doses de 280 e 420 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Ferreira et al. (2013) avaliaram o efeito da inoculação de *A. brasilense* na cultura do milho em dois tipos de solo do cerrado brasileiro. Em casa de vegetação, no solo argiloso verificou-se que a inoculação de *A. brasilense* aumentou o peso seco da parte aérea, volume da raiz e peso seco da raiz, não sendo observados esses efeitos em solo arenoso. No experimento de campo, foi utilizado o mesmo solo argiloso e duas doses de N (100 e 200 kg ha<sup>-1</sup>). Os tratamentos com *Azospirillum* e N apresentaram os maiores rendimento de grãos, com produtividade de até 9.410 kg ha<sup>-1</sup>. A produtividade do milho aumentou em 29% com a inoculação de *A. brasilense* e aplicação de nitrogênio comparado ao tratamento que recebeu somente a adubação nitrogenada.

Assim como Ferreira et al. (2013), Piccini et al. (2013) não mencionam se realizaram o tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas ao avaliar o efeito de inoculantes líquido e turfoso contendo *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6) na cultura do trigo. Foram aplicadas as doses 0, 50 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Na ausência de inoculação e para os dois tipos de inoculante, a maior dose de N resultou em maiores produtividades atingindo 3.178 kg ha<sup>-1</sup> com o inoculante turfoso. Aplicando-se a dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, o inoculante líquido aumentou a produtividade em 420 kg ha<sup>-1</sup>, e o inoculante turfoso em 607 kg ha<sup>-1</sup>, ambos em relação ao tratamento sem inoculação.

Na ausência de TS (inseticida + fungicida) a semeadura logo após a inoculação proporcionou produtividade 4.392,83 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a semeadura 24 h após a inoculação resultou em produtividade de 4.099,45 kg ha<sup>-1</sup>. Inocular pouco antes da semeadura sem TS proporcionou aumento de 7,56 % (308,70 kg ha<sup>-1</sup>) na produção em relação ao tratamento controle. Ao inocular *A. brasilense* 24 h antes da semeadura sem aplicação do inseticida + fungicida, a produtividade foi equivalente a não realizar a inoculação, quando foi obtida a produtividade de 4.084,13 kg ha<sup>-1</sup>.

Os demais tratamentos de sementes (TS e TS + PC) registraram produtividades significativamente superiores à condição sem tratamento de sementes. Quando a inoculação de *A. brasilense* 24 horas antes da semeadura foi combinada com TS, a produção aumentou em 11,33% (462,70 kg ha<sup>-1</sup>) e, quando combinado com TS + PC, o acréscimo foi 13,12 % (535,71 kg ha<sup>-1</sup>), ambos em relação ao tratamento controle. É difícil dissociar a contribuição de cada um dos fatores (TS e *A. brasilense*) e é provável que o efeito do aumento na produção tenha grande contribuição do TS.

No processo de intensificação da agricultura, inseticidas e fungicidas têm sido amplamente utilizados para manter ou aumentar a produtividade das culturas. O inseticida Imidacloprid e fungicida Triadimenol aplicados no tratamento de sementes são fundamentais para proteger as plantas nas fases iniciais da cultura no campo, conferindo proteção para o crescimento das raízes, caules e folhas (LUCAS; HAWKINS; FRAAIJE, 2015; GE et al., 2017). Considerando todo o ciclo da cultura, o potencial de perda de produção por danos de patógenos na cultura do trigo é de cerca de 20% (LEADBEATER, 2014) e, quando são incluídos os danos por insetos-pragas, pode chegar a 30% da produção (MONDAL et al., 2016).

O ataque de patógenos e insetos reduz o potencial produtivo comprometendo a população da cultura no campo, ou danificando a estrutura física das plantas (raíz, caule, folha ou espiga) ao mesmo tempo em que a planta mobiliza parte das reservas para sua defesa (HARTMAN et al., 2016). As reservas armazenadas pelas plantas trigo na forma de aminoácidos, amidas e proteínas solúveis em vários órgãos, tecidos e organelas contribuem para manter o aparelho fotossintético ativo, e assim obter maior rendimento de grãos (BARRACLOUGH; LOPEZ-BELLIDO; HAWKESFORD, 2014). Conforme Lawson et al. (2012), o principal determinante do rendimento da colheita é a taxa cumulativa de fotossíntese ao longo do crescimento da cultura.

Os resultados obtidos com a inoculação de *Azospirillum* na cultura de trigo e em outras culturas são variáveis. Densidade populacional bacteriana do inoculante, capacidade de competição com os microrganismos nativos do solo, interação com o genótipo da planta, são fatores importantes para uma inoculação bem-sucedida (KAZI et al., 2016); (BASHAN et al., 2014). Os fungicidas aplicados nas sementes podem matar rapidamente as bactérias inoculadas (CAMPO; ARAUJO; HUNGRIA, 2009). Protetores com ingredientes destinados a proteger bactérias inoculadas nas sementes tem sido alvos de pesquisas recentes para melhorar a capacidade de promoção de crescimento nas culturas inoculadas (PEDRINI et al., 2017).

Utilizando diferentes proporções de amido, gelatina e álcool polivinílico, Vercelheze et al. (2019) desenvolveram revestimentos biodegradáveis para sementes de espécies agrícolas com a finalidade de melhorar a viabilidade da bactéria inoculadas na sementes ao longo do tempo. Um dos revestimentos obtido foi utilizado em conjunto com a BPCV *A. brasilense* Ab-V5 e manteve o número de células viáveis em  $7,68 \text{ UFC mL}^{-1}$  após 15 dias em sementes de milho, no início da contagem esse número era de  $8 \text{ UFC mL}^{-1}$ .

Na cultura da soja, Araújo et al. (2017) testaram protetores de inoculação para melhorar a aderência e a sobrevivência de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* inoculadas em sementes tratadas com agrotóxicos. Foram utilizados os fungicidas Piraclostrobina + Tiofanato de Metila e o inseticida Fipronil. Segundo os autores, um dos protetores testados (CronosTSI) manteve bactérias vivas e funcionais na superfície das sementes tratadas por até 35 dias. No campo foram testados mais outros dois protetores (Cronos e CronosNod), e pré-inoculação das sementes de soja de 2, 4, 7 e 30 dias. Nesses tratamentos foram obtidas produtividades similares à inoculação com inoculante turfoso pouco antes da semeadura, cerca de 3.000 kg ha<sup>-1</sup>.

No presente estudo, o uso do protetor celular composto por um dissacarídeo e um polímero, contribuiu para melhorar o desempenho agrônômico das plantas de trigo. Esses efeitos foram mais evidentes quando o protetor foi adicionado à inoculação de *Azospirillum brasilense* pouco antes da semeadura, nas sementes tratadas com agroquímicos. Entretanto, mesmo na ausência de inoculação o protetor combinado com o tratamento das sementes de inseticida e fungicida aumentou a produtividade em até 11,58% em relação ao tratamento controle (sem *A. brasilense* e sem TS).

#### 6.4 EFEITOS NO CONTEÚDO DE N NOS GRÃOS E ACÚMULO DE N (kg ha<sup>-1</sup>)

Não foi observado efeito significativo dos tratamentos de sementes e com inoculação com *A. brasilense* para conteúdo de nitrogênio nos grãos e acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>) (Tabela 7). Os teores de N nos grãos neste estudo variaram de 24,51 até 26,27 g kg<sup>-1</sup>. Conforme Wiethölter (2011) grãos de trigo contêm, em geral, de 20 a 25 kg de N/t, perfazendo de 12% a 14% de proteína bruta (N x 6,25). Logo, os teores de N nos grãos observados neste trabalho situaram próximos do limite superior dos valores de referência para a cultura do trigo.

**Tabela 7. Teor de nitrogênio nos grãos e acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>) influenciados pelos tratamentos de *A. brasilense*: sem inoculação (Sem I), inoculação pouco antes da semeadura (Azo0h) e inoculação 24 horas antes da semeadura (Azo24h), e agroquímicos: sem tratamento de sementes (Sem T.S), com tratamento de sementes (TS) e tratamento de sementes + protetor de celular (TS + PC).**

<b>Teor de Nitrogênio nos Grãos (g kg<sup>-1</sup>)</b>			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	25,28 ± 1,93 Aa	24,87 ± 1,63 Aa	25,94 ± 1,60 Aa
T.S	26,27 ± 1,00 Aa	24,51 ± 1,58 Aa	24,83 ± 1,52 Aa
T.S+P.C	25,16 ± 1,97 Aa	24,59 ± 0,38 Aa	24,74 ± 0,64 Aa
<b>Acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>)</b>			
	Sem I.	Azo24 horas	Azo0 hora
Sem T.S	103,02 ± 4,65 Aa	101,85 ± 6,15 Aa	114,01 ± 9,17 Aa
T.S	114,36 ± 10,44 Aa	111,09 ± 2,18 Aa	117,85 ± 11,01 Aa
T.S+P.C	114,37 ± 5,30 Aa	113,59 ± 6,51 Aa	115,97 ± 4,51 Aa

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

O acúmulo de N nos grãos variou de 101,85 a 117,85 kg ha<sup>-1</sup> entre os tratamentos testados, correspondendo a 2,5% da produtividade em grãos. Segundo Robertson e Vitousek (2009) as taxas de extração de nitrogênio pelos grãos de trigo é em média 2% da produtividade o que corresponderia a 89,11 kg ha<sup>-1</sup> em relação a produtividade média obtida neste experimento. No trigo (*Triticum aestivum*) o rendimento de grãos e o teor de N de grãos estão correlacionados negativamente, tornando desafiador o aumento simultâneo das duas características (GROOS et al., 2003).

No presente estudo não houve correlação negativa entre as produtividades obtidas nos tratamentos e respectivos teores de N nos grãos e acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>). A produtividade do trigo e a qualidade do grão são resultados do genótipo, ambiente e sua interação. Dentre os fatores ambientais o suprimento de nitrogênio é o principal fator que afeta o conteúdo e na composição da proteína (ROZBICKI et al., 2015). A fertilização com nitrogênio aumenta o conteúdo de proteínas e glúten e o valor da sedimentação da farinha de trigo (JASKULSKA et al., 2018).

A concentração e composição das proteínas dos grãos também é uma importante medida de qualidade que define as propriedades nutricionais e de uso final da mistura e características reológicas da massa, incluindo resistência da massa, tempo de desenvolvimento, extensibilidade, quebra e volume do pão, que afetam a eficiência do processo de panificação e qualidade do produto (NUTTALL et al., 2017).

Em estudo de campo de Hungria et al. (2010) verificaram efeito significativo de diferentes estirpes de *A. brasilense* nos teores de N em grãos de trigo, cv. Embrapa 16. A BPCV foi inoculada nas sementes e foi utilizada a dose de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N. Entre as estirpes, AbV5 e AbV6 proporcionaram os teores de N nos grãos de 25,2 e 25,1 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Esses valores foram superiores aos obtidos com a inoculação das demais estirpes (AbV1, AbV2, AbV3 e AbV8) em que os teores variaram de 19,2 a 20,4 g kg<sup>-1</sup>.

Avaliando a produtividade e o estado nutricional de N no cultivo do trigo (cv. BRS 264) irrigado em resposta às doses de N e à inoculação com *A. brasilense*, Nunes et al. (2015) não observaram diferença significativa entre os tratamentos com presença e ausência de inoculação. O experimento foi conduzido em dois ambientes, de baixa e alta disponibilidade de N. A dose mínima de N foi 20 kg ha<sup>-1</sup> e a máxima de 180 kg ha<sup>-1</sup>. Os teores de nitrogênio nos grãos variaram de 17,4 a 24,1 g ha<sup>-1</sup> e a produtividade de 3.636 a 5.269 kg ha<sup>-1</sup>. A quantidade de N exportado pelos grãos oscilou entre 56,2 a 107,2 kg ha<sup>-1</sup>. Não informa se foi aplicado inseticida e fungicida no tratamento de sementes.

## 7 CONCLUSÕES

A inoculação de *A. brasilense* Ab-V5 e AbV6 em sementes tratadas com o inseticida Imidacloprid + Tiodicarb e o fungicida Triadimenol resultou em plantas mais altas nas fases iniciais do desenvolvimento da cultura no campo. Não foram observadas diferenças entre os tratamentos em relação a emergência de plântulas e número de perfilhos também avaliados na fase inicial. Essa observação indica que os revestimentos (tratamento químico e inoculação) nas sementes não comprometeram o estabelecimento das plantas no campo.

A inoculação de *A. brasilense* pouco antes de semeadura combinada com tratamento de sementes e protetor celular proporcionou melhores índices de clorofila foliar medidos no florescimento das plantas de trigo. Inocular *A. brasilense* 24 horas antes da semeadura foi equivalente a não realizar a inoculação para os parâmetros: índice de clorofila foliar, grãos por espiga, peso de mil grãos e produtividade (na ausência de tratamento de sementes).

Os maiores rendimentos de grãos de trigo foram obtidos quando as tecnologias tratamento de sementes, protetor celular e inoculação de *A. brasilense* (pouco antes da semeadura) foram combinadas. O incremento de produtividade foi de até 16,09% ou 671,82 kg ha<sup>-1</sup> em relação ao tratamento controle (sem inoculação e sem tratamento de sementes). A produtividade máxima atingiu 4.771,27 kg ha<sup>-1</sup>, superando a expectativa de produção baseada na recomendação de fertilizantes adotada.

Para os teores de N grãos, bem como acúmulo de N (kg ha<sup>-1</sup>) não foram observados efeitos dos tratamentos testados, embora os resultados obtidos nesses parâmetros fossem, respectivamente, iguais e superiores aos valores de referência para a cultura do trigo. Essa informação reforça a importância da aplicação de inseticida e fungicida nas sementes, inoculantes contendo BPCVs e protetores de inoculantes para o manejo sustentável de lavouras de trigo quando se busca altos rendimentos de grãos de qualidade.

## REFERÊNCIAS

- ADAIME, M. B. et al. Agrochemicals and environment. **Ciência e Natura** v. 36, n. 2, p. 250-257, 2004.
- ALTIERI, M. A. Linking ecologists and traditional farmers in the search for sustainable agriculture. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 2, n. 1, p. 35–42, fev. 2004.
- ARAÚJO, A. S. F. DE; ARAÚJO, R. S. Sobrevivência e nodulação do *Rhizobium tropici* em sementes de feijão tratadas com fungicidas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 973–976, jun. 2006.
- ARAUJO, R. S. et al. Preinoculation of Soybean Seeds Treated with Agrichemicals up to 30 Days before Sowing: Technological Innovation for Large-Scale Agriculture. **International Journal of Microbiology**, v. 2017, p. 1–11, 2017.
- BAAS, P. et al. Assessing Heterogeneity in Soil Nitrogen Cycling: A Plot-Scale Approach. **Soil Science Society of America Journal**, v. 78, n. S1, p. S237–S247, 2014.
- BACKER, R. et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1473, 23 out. 2018.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549–579, set. 2005.
- BARRACLOUGH, P. B. et al. Nitrogen efficiency of wheat: Genotypic and environmental variation and prospects for improvement. **European Journal of Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 1–11, jul. 2010.
- BARRACLOUGH, P. B.; LOPEZ-BELLIDO, R.; HAWKESFORD, M. J. Genotypic variation in the uptake, partitioning and remobilisation of nitrogen during grain-filling in wheat. **Field Crops Research**, v. 156, p. 242–248, fev. 2014.
- BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 4, p. 729–770, jul. 1998.
- BASHAN, Y. et al. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, v. 378, n. 1–2, p. 1–33, maio 2014.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. In: **Advances in Agronomy**. [s.l.] Elsevier, 2010. v. 108p. 77–136.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Inoculant Preparation and Formulations for *Azospirillum* spp. In: CASSÁN, F. D.; OKON, Y.; CREUS, C. M. (Eds.). . **Handbook for Azospirillum**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 469–485.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R. Superior Polymeric Formulations and Emerging Innovative Products of Bacterial Inoculants for Sustainable Agriculture and the

Environment. In: SINGH, H. B.; SARMA, B. K.; KESWANI, C. (Eds.). . **Agriculturally Important Microorganisms**. Singapore: Springer Singapore, 2016. p. 15–46.

BEATTIE, G. A. Curating communities from plants. **Nature**, v. 528, n. 7582, p. 340–341, dez. 2015.

BEGUM, A.; ALAM, S. N.; JALAL UDDIN, M. Management of Pesticides: Purposes, Uses, and Concerns. In: KHAN, M. S.; RAHMAN, M. S. (Eds.). . **Pesticide Residue in Foods**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 53–86.

BERNABEU, P. R. et al. Assessment of bacterial inoculant formulated with *Paraburkholderia tropica* to enhance wheat productivity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 6, jun. 2018.

BHARTI, N. et al. Microbial Plant Probiotics: Problems in Application and Formulation. In: KUMAR, V. et al. (Eds.). . **Probiotics and Plant Health**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 317–335.

BINDRABAN, P. S. et al. Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 8, p. 897–911, nov. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, publicada em 01 de dezembro de 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E ABASTECIMENTO. S. DE D. A. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: 2009.

BORISJUK, N. et al. Genetic Modification for Wheat Improvement: From Transgenesis to Genome Editing. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–18, 10 mar. 2019.

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, n. 1–3, p. 154–163, fev. 2009.

CASSÁN, F. D.; OKON, Y.; CREUS, C. M. (EDS.). **Handbook for Azospirillum**. Cham: Springer International Publishing, 2015.

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

CAVICCHIOLI, R. et al. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 9, p. 569–586, set. 2019.

CLARKE, L. C. et al. The variation in hectolitre weight of wheat grain fed with or without enzyme supplementation influences nutrient digestibility and subsequently affects performance in pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, p. jpn.13038, 14 dez. 2018.

COLLA, G. et al. Coating seeds with endophytic fungi enhances growth, nutrient uptake, yield and grain quality of winter wheat. **International Journal of Plant Production**, v. 9, n. 2, fev. 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Conab. **A cultura do trigo**. Brasília, 2017. 218 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Indicadores da Agropecuária, 2019.

CUI, Z. et al. Closing the N-Use Efficiency Gap to Achieve Food and Environmental Security. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 10, p. 5780–5787, 20 maio 2014.

DAL CORTIVO, C. et al. Increased root growth and nitrogen accumulation in common wheat following PGPR inoculation: Assessment of plant-microbe interactions by ESEM. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 247, p. 396–408, set. 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, jan. 2009.

DÖBEREINER J; PEDROSA FO. 1987. Nitrogen-fixing bacteria in Nonleguminous crop plants. **Brock/Springer Series in Contemporary/Bioscience**, 155 p.

DONELSON, J. R. et al. Prediction of Test Weight from a Small Volume Specific Gravity Measurement. **Cereal Chemistry Journal**, v. 79, n. 2, p. 227–229, mar. 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Trigo, 2019. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/index.html>>. Acesso em: 14/10/2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Embrapa Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. rev. e ampl. Embrapa, 2018.

ERISMAN, J. W. et al. How a century of ammonia synthesis changed the world. **Nature Geoscience**, v. 1, n. 10, p. 636–639, out. 2008.

ETESAMI, H.; MAHESHWARI, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, p. 225–246, jul. 2018.

FENG, F. et al. The Effect of Grain Position on Genetic Improvement of Grain Number and Thousand Grain Weight in Winter Wheat in North China. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 129, 7 fev. 2018.

FERREIRA, A. S. et al. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103–108, out. 2013.

FIORENTINI, M. et al. Nitrogen and chlorophyll status determination in durum wheat as influenced by fertilization and soil management: Preliminary results. **PLOS ONE**, v. 14, n. 11, p. e0225126, 14 nov. 2019.

FIPKE, G. M. et al. Protetor, inoculação e tratamento fitossanitário na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v. 14, n. 1, p. 1–6, 30 mar. 2019.

FISCHER, R. A. T.; EDMEADES, G. O. Breeding and Cereal Yield Progress. **Crop Science**, v. 50, p. S-85-S-98, mar. 2010.

FOLLETT, R. H.; FOLLETT, R. F.; HALVORSON, A. D. Use of a chlorophyll meter to evaluate the nitrogen status of dryland winter wheat. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 23, n. 7–8, p. 687–697, maio 1992.

FOX, R. H.; PIEKIELEK, W. P.; MACNEAL, K. M. Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 25, n. 3–4, p. 171–181, fev. 1994.

FUKAMI, J. et al. Assessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, dez. 2016.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, dez. 2018.

GALINDO, F. S. et al. Wheat yield in the Cerrado as affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 9, p. 794–805, set. 2017.

GE, J. et al. Uptake and translocation of imidacloprid, thiamethoxam and difenoconazole in rice plants. **Environmental Pollution**, v. 226, p. 479–485, jul. 2017.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v. 2012, p. 1–15, 2012.

GOULSON, D. REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology**, v. 50, n. 4, p. 977–987, ago. 2013.

GOVINDARAJAN, M. et al. Effects of the Inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and Related Endophytic Diazotrophic Bacteria on Grain Yield of Rice. **Microbial Ecology**, v. 55, n. 1, p. 21–37, jan. 2008.

GROOS, C. et al. Genetic analysis of grain protein-content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, n. 6, p. 1032–1040, abr. 2003.

HARTLEY, E. J.; GEMELL, L. G.; DEAKER, R. Some factors that contribute to poor survival of rhizobia on preinoculated legume seed. **Crop and Pasture Science**, v. 63, n. 9, p. 858, 2012.

HARTMAN, G. L. et al. Successful Technologies and Approaches Used to Develop and Manage Resistance against Crop Diseases and Pests. In: **Emerging Technologies for Promoting Food Security**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 43–66.

HARTMANN, A. et al. Assessment of the structural and functional diversities of plant microbiota: Achievements and challenges – A review. **Journal of Advanced Research**, v. 19, p. 3–13, set. 2019.

HASSEN, A. I.; BOPAPE, F. L.; SANGER, L. K. Microbial Inoculants as Agents of Growth Promotion and Abiotic Stress Tolerance in Plants. In: SINGH, D. P.; SINGH, H. B.; PRABHA, R. (Eds.). . **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**. New Delhi: Springer India, 2016. p. 23–36.

HAWKESFORD, M. J. Reducing the reliance on nitrogen fertilizer for wheat production. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 3, p. 276–283, maio 2014.

HERRMANN, L.; LESUEUR, D. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 20, p. 8859–8873, out. 2013.

HEFFER, P.; PRUD'HOMME, M. (2008) Outlook for world fertilizer demand, supply, and supply/demand balance. **Turkish J Agric Forest** 32: 159–164

HOOK, S. C. W. Specific weight and wheat quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 35, n. 10, p. 1136–1141, out. 1984.

HU, J.; GUAN, Y. The Application of High Polymer Materials in the Aspects of Seed Technology. In: THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K.; VOICU, S. I. (Eds.). . **Polymer Gels**. Gels Horizons: From Science to Smart Materials. Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 55–69.

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

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. 1–2, p. 413–425, jun. 2010.

HUSSAIN, S. et al. Bacterial biodegradation of neonicotinoid pesticides in soil and water systems. **FEMS Microbiology Letters**, v. 363, n. 23, p. fnw252, dez. 2016.

JASKULSKA, I. et al. Mineral Composition and Baking Value of the Winter Wheat Grain under Varied Environmental and Agronomic Conditions. **Journal of Chemistry**, v. 2018, p. 1–7, 27 ago. 2018.

JOHN, R. P. et al. Bio-encapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 211–226, set. 2011.

JUSTES, E. Determination of a Critical Nitrogen Dilution Curve for Winter Wheat Crops. **Annals of Botany**, v. 74, n. 4, p. 397–407, out. 1994.

KAZI, N. et al. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, v. 196, p. 368–378, set. 2016.

KOHL, K. L. et al. Tracking neonicotinoids following their use as cotton seed treatments. **PeerJ**, v. 7, p. e6805, 19 abr. 2019.

KONG, L. et al. Remobilization of vegetative nitrogen to developing grain in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Field Crops Research**, v. 196, p. 134–144, set. 2016.

LARGE, E.C. **Growth stages in cereals illustration of the Feeks scales**. Plant Pathology, v.4, p. 22-24, 1954.

LAWSON, T.; KRAMER, D. M.; RAINES, C. A. Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 215–220, abr. 2012.

LEADBEATER, A. J. Plant Health Management: Fungicides and Antibiotics. In: **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 408–424.

LEMERLE, D. et al. Genetic improvement and agronomy for enhanced wheat competitiveness with weeds. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 52, n. 5, p. 527, 2001.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, p. 518–534, jun. 2018.

LUCAS, J. A.; HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. The Evolution of Fungicide Resistance. In: **Advances in Applied Microbiology**. [s.l.] Elsevier, 2015. v. 90p. 29–92.

LUDWIG, R. L. et al. Action specificity of chemical treatment and inoculation with *Azospirillum brasilense* in wheat seed on the crop initial growth. **Revista Ceres**, v. 65, n. 5, p. 407–414, set. 2018.

MAILLARD, A. et al. Leaf mineral nutrient remobilization during leaf senescence and modulation by nutrient deficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 13 maio 2015.

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.

MANLEY, M. et al. Assessment of variance in the measurement of hectolitre mass of wheat, using equipment from different grain producing and exporting countries. **Biosystems Engineering**, v. 103, n. 2, p. 176–186, jun. 2009.

MARCHIOL, L. Nanotechnology in Agriculture: New Opportunities and Perspectives. In: ÇELIK, Ö. (Ed.). **New Visions in Plant Science**. [s.l.] InTech, 2018.

MISHRA, J.; ARORA, N. K. Bioformulations for Plant Growth Promotion and Combating Phytopathogens: A Sustainable Approach. In: ARORA, N. K.; MEHNAZ, S.; BALESTRINI, R. (Eds.). **Bioformulations: for Sustainable Agriculture**. New Delhi: Springer India, 2016. p. 3–33.

- MISTELE, B.; SCHMIDHALTER, U. Estimating the nitrogen nutrition index using spectral canopy reflectance measurements. **European Journal of Agronomy**, v. 29, n. 4, p. 184–190, nov. 2008.
- MONDAL, S. et al. Harnessing Diversity in Wheat to Enhance Grain Yield, Climate Resilience, Disease and Insect Pest Resistance and Nutrition Through Conventional and Modern Breeding Approaches. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 6 jul. 2016.
- MUNARETO, J. D. et al. Compatibility of *Azospirillum brasilense* with fungicide and insecticide and its effects on the physiological quality of wheat seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 855, 15 mar. 2018.
- MUNKVOLD, G. P. Seed Pathology Progress in Academia and Industry. **Annual Review of Phytopathology**, v. 47, n. 1, p. 285–311, set. 2009.
- MUÑOZ-HUERTA, R. et al. A Review of Methods for Sensing the Nitrogen Status in Plants: Advantages, Disadvantages and Recent Advances. **Sensors**, v. 13, n. 8, p. 10823–10843, 16 ago. 2013.
- NUNES, P. H. M. P. et al. PRODUTIVIDADE DO TRIGO IRRIGADO SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E À INOCULAÇÃO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 1, p. 174–182, fev. 2015.
- NUTTALL, J. G. et al. Models of grain quality in wheat—A review. **Field Crops Research**, v. 202, p. 136–145, fev. 2017.
- OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 11, nov. 2017.
- PADILLA, F. M. et al. Proximal Optical Sensors for Nitrogen Management of Vegetable Crops: A Review. **Sensors**, v. 18, n. 7, p. 2083, 28 jun. 2018.
- PAN, J. et al. Modeling plant nitrogen uptake and grain nitrogen accumulation in wheat. **Field Crops Research**, v. 97, n. 2–3, p. 322–336, jun. 2006.
- PANHWAR, Q. A. et al. Fertilizer Management Strategies for Enhancing Nutrient Use Efficiency and Sustainable Wheat Production. In: **Organic Farming**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 17–39.
- PARRY, C.; BLONQUIST, J. M.; BUGBEE, B. *In situ* measurement of leaf chlorophyll concentration: analysis of the optical/absolute relationship: The optical/absolute chlorophyll relationship. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 11, p. 2508–2520, nov. 2014.
- PEDRINI, S. et al. Seed Coating: Science or Marketing Spin? **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 2, p. 106–116, fev. 2017.
- PEREYRA, M. A. et al. Seedlings growth promotion by *Azospirillum brasilense* under normal and drought conditions remains unaltered in Tebuconazole-treated wheat seeds. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 20–27, jan. 2009.

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, n. 5–6, p. 325–336, maio 2014.

PICCININ, G. G. et al. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 393–397, maio 2013.

PRASAD, M. et al. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture. In: **PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 129–157.

RAVIER, C.; QUEMADA, M.; JEUFFROY, M.-H. Use of a chlorophyll meter to assess nitrogen nutrition index during the growth cycle in winter wheat. **Field Crops Research**, v. 214, p. 73–82, dez. 2017.

REEVES, D. W. et al. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: Influence of management practices<sup>1</sup>. **Journal of Plant Nutrition**, v. 16, n. 5, p. 781–796, maio 1993.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Doenças do trigo (*Triticum aestivum*). In: KIMATI, H., AMORIM, L., REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: doenças das grandes culturas**. Piracicaba: Ceres, 2005. v.1, p. 631-638.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Lages: Graphel, 2007. 176 p.

REIS, E. M.; ZANATTA, M.; BRUSTOLIN, F. Eficiência do tratamento de sementes com o fungicida triadimenol na intensidade da ferrugem da folha do trigo. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 145–148, set. 2011.

ROBERTSON, G. P.; VITOUSEK, P. M. Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 34, n. 1, p. 97–125, nov. 2009.

ROZBICKI, J. et al. Influence of the cultivar, environment and management on the grain yield and bread-making quality in winter wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 61, p. 126–132, jan. 2015.

SÁ, L. A. N. DE. Perspectivas do controle biológico de pragas no Brasil. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: Ed. CP2, 2006. p.255-287., 2006.

SADRAS, V. O.; SLAFER, G. A. Environmental modulation of yield components in cereals: Heritabilities reveal a hierarchy of phenotypic plasticities. **Field Crops Research**, v. 127, p. 215–224, fev. 2012.

SAMBORSKI, S. M.; TREMBLAY, N.; FALLON, E. Strategies to Make Use of Plant Sensors-Based Diagnostic Information for Nitrogen Recommendations. **Agronomy Journal**, v. 101, n. 4, p. 800–816, jul. 2009.

SANGOI, L. et al. DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM RAZÃO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM *AZOSPIRILLUM* SP. E DA APLICAÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 4, p. 1141–1150, ago. 2015.

SAVARIS, M. et al. Population Growth and Damage Caused by *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera, Aphididae) on Different Cultivars and Phenological Stages of Wheat. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 539–543, out. 2013.

SCHLICHTING, A. F. et al. Efficiency of portable chlorophyll meters in assessing the nutritional status of wheat plants. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 12, p. 1148–1151, dez. 2015.

SLAFER, G. A.; SAVIN, R.; SADRAS, V. O. Coarse and fine regulation of wheat yield components in response to genotype and environment. **Field Crops Research**, v. 157, p. 71–83, fev. 2014.

SRUTHI, S. N. et al. Contamination from organochlorine pesticides (OCPs) in agricultural soils of Kuttanad agroecosystem in India and related potential health risk. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 1, p. 969–978, jan. 2017.

STAMENKOVIĆ, S. et al. Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 1, p. e09R01, 26 abr. 2018.

TAKAHASHI, W.Y. et al. **Wheat seed dressing decreases plant growth promotion by *Azospirillum brasilense***. Submetido em 2020.

TARRANT, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 8, p. 967–980, 1 ago. 1978.

TAVARES, L. C. et al. Physiological performance of wheat seeds coated with micronutrients. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 1, p. 28–34, 2013.

TIMMUSK, S. et al. Perspectives and Challenges of Microbial Application for Crop Improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 9 fev. 2017.

VASSILEV, N. et al. Formulation of Microbial Inoculants by Encapsulation in Natural Polysaccharides: Focus on Beneficial Properties of Carrier Additives and Derivatives. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 270, 10 mar. 2020.

VERCELHEZE, A. E. S. et al. Development of biodegradable coatings for maize seeds and their application for *Azospirillum brasilense* immobilization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 5, p. 2193–2203, mar. 2019.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571–586, 2003.

WALSH, M. J. et al. Influence of Crop Competition and Harvest Weed Seed Control on Rigid Ryegrass ( *Lolium rigidum* ) Seed Retention Height in Wheat Crop Canopies. **Weed Science**, v. 66, n. 5, p. 627–633, set. 2018.

WEEKLEY, J.; GABBARD, J.; NOWAK, J. Micro-Level Management of Agricultural Inputs: Emerging Approaches. **Agronomy**, v. 2, n. 4, p. 321–357, 18 dez. 2012.

WIETHÖLTER, S. **Fertilidade do solo e a cultura do trigo no Brasil**, in: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável. Cap.6 p. 135-184, Passo Fundo, RS : Embrapa Trigo, 2011.

YANG, C. et al. Fungicide: Modes of Action and Possible Impact on Nontarget Microorganisms. **ISRN Ecology**, v. 2011, p. 1–8, 2011.

ZERNER, M. C.; GILL, G. S.; VANDELEUR, R. K. Effect of Height on the Competitive Ability of Wheat with Oats. **Agronomy Journal**, v. 100, n. 6, p. 1729–1734, nov. 2008.

ZEUN, R.; SCALLIET, G.; OOSTENDORP, M. Biological activity of sedaxane - a novel broad-spectrum fungicide for seed treatment: Biological activity of broad-spectrum fungicide sedaxane. **Pest Management Science**, v. 69, n. 4, p. 527–534, abr. 2013.

ZHANG, S. et al. Overcoming nitrogen fertilizer over-use through technical and advisory approaches: A case study from Shaanxi Province, northwest China. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 209, p. 89–99, nov. 2015.