

Resposta de cultivares de trigo à inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e à adubação nitrogenada em cobertura

Response of wheat cultivars to inoculation of seeds with *Azospirillum brasilense* and to nitrogenous fertilizer side dressed to the plants

Juliane Mendes LEMOS^{1,2}; Vandeir Francisco GUIMARÃES³; Eliane Cistina Gruska VENDRUSCOLO⁴; Marise Fonseca dos SANTOS⁵; Luiz Claudio OFFEMANN⁶

¹ Parte da Dissertação da primeira autora. Pesquisa financiada pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fixação Biológica e Nitrogênio – INCT.

² Autor para correspondência - Mestre em Agronomia, Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Rua Pernambuco, 1777. Marechal Candido Rondon, PR; juliane.lemos@yahoo.com.br.

³ Pós-doutor em Botânica. Professor Associado da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Rua Pernambuco, 1777. Marechal Candido Rondon, PR; vandeirfg@yahoo.com.br

⁴ Doutora em Agronomia. Professora da Universidade Federal do Paraná – UFPR, campus Palotina. Rua 24 de junho, 698. Palotina, PR; vendruscolo@ufpr.br

⁵ Doutora em Bioquímica. Professora da Universidade Federal do Paraná – UFPR, campus Palotina. Rua 24 de junho, 698. Palotina, PR; marise@ufpr.br

⁶ Engenheiro Agrônomo, Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Rua Pernambuco, 1777. Marechal Candido Rondon, PR; l.offemann@hotmail.com

Resumo

Os fertilizantes nitrogenados, além de onerosos, não oferecem nitrogênio suficiente às gramíneas; visto isto, a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio pode auxiliar a nutrição dessas plantas. Objetivou-se avaliar a eficiência agrônômica da bactéria diazotrófica (*Azospirillum brasilense*), comparada e associada à adubação nitrogenada em cultivares de trigo (*Triticum aestivum*). Foram utilizadas cinco cultivares de trigos cultivados na região (CD 104, CD 108, CD 119, CD 120 e CD 150). Os tratamentos foram: inoculação de sementes com *A. brasilense* (Ab-V₅); adubação nitrogenada em cobertura; inoculação de sementes com *A. brasilense* (Ab-V₅) associado à aplicação de nitrogênio em cobertura e um tratamento-testemunha, sem inoculação de sementes e aplicação de nitrogênio. Foi realizado delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Avaliaram-se a massa seca de raízes, o teor de nitrogênio total na parte aérea e o teor de amônio nas raízes, no estágio de início da antese. No final do ciclo da cultura, avaliaram-se o rendimento de grãos e o teor de proteínas nos grãos. Observaram-se diferenças de resposta entre as cultivares de trigo quando inoculadas com *A. brasilense* associado à adubação nitrogenada. A cultivar CD 150, no tratamento associado, foi o que apresentou os maiores teores de nitrogênio na parte aérea, massa de 1.000 grãos e teor de amônio nas raízes, em relação à adubação nitrogenada. Esses resultados mostram uma interação positiva da bactéria fixadora de nitrogênio e a adubação nitrogenada com a cultivar de trigo CD 150.

Palavras-chave adicionais: Bactéria diazotrófica; fixação biológica de nitrogênio; *Triticum aestivum*.

Abstract

Expensive nitrogen fertilizers as well as provide enough nitrogen not grasses, as this, the use of nitrogen-fixing bacteria can help the nutrition of these plants. The aims of this study were to evaluate the agronomic efficiency of nitrogen fixing bacteria (*Azospirillum brasilense*), compared and associated to nitrogen fertilization in wheat (*Triticum aestivum*), and set among commercial cultivars of wheat, which shows better performance in association with these bacteria. It was used a five wheat cultivars (CD 104, CD 108, CD 119, CD 120 and CD 150). The treatments were: inoculated with *A. brasilense* (Ab-V₅); application of nitrogen associated with inoculation of *A. brasilense* (Ab-V₅); application of nitrogen and a treatment without inoculation and nitrogen application. I was used a randomized design with four replications. It was made two assessments, the first assessment, made in the flowering stage, was evaluated the root dry weight and total nitrogen content. In the second assessment, made at the end of the cycle, was evaluated the following yield components: grain yield and protein content in grains. It was observed difference in response between wheat cultivars when inoculated with *A. brasilense*, and/or treatment associated with nitrogen. The CD 150 cultivar presented the highest content of nitrogen in shoots, mass of 1.000 grains and NH₄⁺ in roots inoculated with bacteria in combination with nitrogen fertilization, compared to nitrogen fertilization. These results showed a positive interaction of nitrogen fixing bacteria and nitrogen fertilization with the wheat cultivar CD 150.

Additional keywords: Biological nitrogen fixation; endophytic bacteria; *Triticum aestivum*.

Introdução

A estimativa de produção de trigo no Brasil é de 5,03 milhões de toneladas, enquanto a demanda interna é de 10,21 milhões, resultando em um déficit de 5,18 milhões de toneladas, que são supridas com importações – dados da Safra de 2009/2010 (CONAB, 2010). Para diminuir a dependência de outros países, além do direcionamento de políticas adequadas ao setor, investimentos em tecnologia de produção ainda são necessários.

O nitrogênio (N) constitui o macroelemento mais limitante na produtividade do trigo, pois participa de uma série de rotas metabólicas-chave em sua bioquímica, sendo constituinte de importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas de armazenamento, ácidos nucleicos e enzimas (HARPER, 1994).

Os fertilizantes nitrogenados aplicados em gramíneas, como o trigo, elevam significativamente o custo de produção do cereal (SALA et al., 2005), além de que, raramente, mais de 1/3 do fertilizante nitrogenado aplicado é aproveitado nas culturas, sendo perdido por desnitrificação, nitrificação e lixiviação, podendo causar a poluição de lagos e rios (ARAÚJO & HUNGRIA, 1994). Um dos objetivos para agricultura sustentável é o aproveitamento eficiente do nitrogênio atmosférico (N₂) (GRAHAM & VANCE, 2000).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) podem auxiliar por diversos mecanismos na nutrição nitrogenada das culturas (SALA et al., 2008). Segundo ALVAREZ et al. (1996), as bactérias do gênero *Azospirillum*, além de fixadoras assimióticas de N₂, também são consideradas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas comumente associadas com raízes de cereais.

No caso, a utilização do N₂ envolve a interação entre o processo de fixação e da rota assimilatória do N combinado. Assim, a bactéria reduz o N₂ a NH₄⁺ que, por sua vez, é transformada pela planta em produto orgânico aminado (CULLIMORE & BENNETT, 1992).

Sendo assim, mesmo que apenas uma parte do N₂ pudesse ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior àquela verificada com as leguminosas (DÖBEREINER, 1992). Em muitos casos, a ausência de resposta de gramíneas à inoculação de bactérias diazotróficas tem sido atribuída ao uso de linhagens inadequadas. Há consenso de que o genótipo da planta é o fator-chave para a obtenção dos benefícios oriundos da fixação biológica do N₂, aliado à seleção de estirpes eficientes (REIS et al., 2000).

O trabalho baseia-se na hipótese de que a inoculação de bactérias *Azospirillum brasilense* em cultivares de trigo que se adaptam a elas pode ajudar a suprir a demanda de nitrogênio, aumentando a produção deste cereal.

Neste contexto, objetivou-se avaliar a eficiência agrônômica da bactéria diazotrófica (*Azospirillum brasilense*), comparada e associada à adubação nitrogenada em cultivares de trigo (*Triticum aestivum*).

Material e métodos

O experimento foi conduzido sob cultivo protegido, no período de maio a setembro de 2010, na Estação de Horticultura e Cultivo Protegido “Prof. Dr. Mário César Lopes”, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Câmpus de Marechal Cândido Rondon – PR, localizado na longitude 54° 22' W e latitude 24° 46' S, com altitude média de 420 metros.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por cinco cultivares de trigo (CD 104, CD 108, CD 119, CD 120 e CD 150) submetidas à inoculação com *A. brasilense* (Ab-V₅), aplicação de N, inoculação com *A. brasilense* (Ab-V₅) associado à aplicação de N e um tratamento sem inoculação e sem aplicação de N, usado como testemunha.

O substrato utilizado para a condução do experimento foi terra proveniente do horizonte A de um Latossolo Vermelho eutrófico (LVef) (EMBRAPA, 1999), sendo este predominante na região de M.C.R., de textura muito argilosa, peneirado em malha de 5 mm. As características químicas do solo foram determinadas antes da instalação do experimento, cujos resultados foram: pH em CaCl₂ = 5,84; M.O. = 16,40 g dm⁻³; P (Melich-1) = 3,31 mg dm⁻³; K (Melich-1) = 0,33 cmol_c dm⁻³; Ca (KCl) = 3,44 cmol_c dm⁻³; Mg (KCl) = 1,65 cmol_c dm⁻³; H + Al = 2,71 cmol_c dm⁻³; Cu = 7,50 mg dm⁻³; Mn = 0,80 mg dm⁻³; Fe = 64,90 mg dm⁻³; Zn = 26,00 mg dm⁻³; SB = 5,42 cmol_c dm⁻³; CTC = 8,13 cmol_c dm⁻³; Al% = 0,00 e V% = 66,67.

Cada parcela experimental foi constituída por dois vasos plásticos com 30 cm de diâmetro por 22 cm de altura e capacidade total de 10 dm³, sendo preenchidos com volume de 8 dm³ de terra contendo quatro plantas cada, resultando em 160 vasos. Foram colocadas seis sementes por vaso e, após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas quatro plantas por vaso. Foi realizada adubação antes da semeadura, aplicando-se 300 mg dm⁻³ de fósforo e 150 mg dm⁻³ de

potássio sob forma de superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente.

Para a inoculação das sementes, foram utilizados 2 mL de inóculo de *A. brasilense* (Ab-V₅, estirpe FP2, propriedades Nal Sm Estirpe selvagem, SP7 Nif (PEDROSA & YATES, 1984)) para cada 1.000 sementes, o que correspondeu a 10⁸ UFC por semente. A inoculação foi realizada adicionando-se o inoculante diretamente sobre a massa de sementes, que, em sacos plásticos, foram agitadas por aproximadamente 1 minuto para uniformizar a distribuição do inoculante nas sementes. Logo após a inoculação, foi efetuada a semeadura. Nos tratamentos com aplicação de nitrogênio, ele foi aplicado em cobertura, na dose de 30 mg dm³ de ureia, equivalente à dose recomendada por EMBRAPA (2011) para a cultura do trigo (60 kg ha⁻¹ de N), 30 dias após a emergência.

Os vasos foram irrigados diariamente, mantendo a umidade da terra próxima à da capacidade de campo. O controle de pragas e doenças foi realizado de acordo com as necessidades da cultura.

Quando as plantas atingiram o estágio de início da antese (código 62 da escala de ZADOKS et al., 1974), coletaram-se as plantas de um dos dois vasos, as quais foram seccionadas na raiz e na parte aérea, e ambas colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, por 72 horas; então, determinou-se a massa seca de raiz. A parte aérea foi triturada em moinho tipo Wiley. Para a determinação do teor de N total, foram utilizadas amostras de tecido foliar (0,2 g) que foram submetidas à digestão sulfúrica. O teor de N total foi determinado por destilação, por arraste de vapores, em aparelho semimicro-kjeldahl, de acordo com TEDESCO et al. (1995).

Para determinar o teor de amônio (NH₄⁺) nos tecidos das raízes, as amostras de raízes foram maceradas em N₂ líquido em almofariz gelado e deixado evaporar. De cada amostra, 100 mg foram pesados para ensaio de conteúdo de NH₄⁺ (BRAUTIGAM et al., 2007). Brevemente, às amostras foram adicionados 500 µL de HCl 100 mM seguido de 250 µL de clorofórmio. As amostras foram homogeneizadas por 15 min, a 4 °C. As fases foram separadas por centrifugação (16.000 x g, 5 min 8 °C), e o sobrenadante foi transferido para outro tubo contendo 25 mg de carvão ativado e homogeneizado. Em seguida, foi centrifugada a 20.000 x g, por 5 min a 8 °C. Para a quantificação de NH₄⁺ 200 µL do sobrenadante obtido foram quantificados pelo método do Indofenol (BERTHELOT, 1859). Como padrão, foi utilizada uma solução de sulfato de amônio a 40 µg mL⁻¹.

Ao final do ciclo da cultura, as espigas das quatro plantas de cada vaso foram colhidas, sendo determinados os seguintes componentes

da produção: número de perfilhos por planta, número de grãos por espiga, número de espiguetas por espiga, comprimento médio da espiga, massa de mil grãos e a produção de grãos por vaso.

Os grãos obtidos foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C, por 72 horas, e trituradas em moinho tipo Wiley. Posteriormente, as amostras foram submetidas à digestão sulfúrica para a determinação do teor de proteínas totais nos grãos, segundo metodologia proposta por TEDESCO et al. (1995).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias relativas às cultivares e aos tratamentos (inoculação e adubação nitrogenada) foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05). As comparações entre os parâmetros de produção de trigo foram realizadas pela correlação classificatória de Spearman, segundo STEEL & TORRIE (1980).

Resultados e discussão

Na avaliação realizada no estágio de início da antese, foi verificada interação significativa entre as cultivares de trigo e os tratamentos aplicados para as variáveis massa seca de raiz e teor de N na parte aérea das plantas. As maiores médias de massa seca foram obtidas para a cultivar CD 104, independentemente dos tratamentos aplicados (Tabela 1). A superioridade observada para a cultivar CD 104, provavelmente, está relacionada à sua adaptação às características edafoclimáticas da região oeste do Paraná, e para o Estado seu cultivo é recomendado para todas as regiões, além de esta ser a cultivar mais utilizada no Brasil (COODETEC, 2010).

Verifica-se que os maiores teores de N na parte aérea das plantas foram observados para a cultivar CD 150, independentemente do tratamento aplicado. Os tratamentos aplicados não influenciaram o teor de N na parte aérea das cultivares CD 104, CD 119 e CD 120. Para a cultivar CD 108, houve aumento no teor de nitrogênio da parte aérea quando se utilizou adubação nitrogenada associada à inoculação das sementes com *A. brasilense*, onde se observou um incremento de 35,3% em relação à adubação nitrogenada. A cultivar CD 150 também se mostrou a mais responsiva à inoculação com *A. brasilense* quando associada à adubação com nitrogênio mineral, cerca de 22,4% de incremento em relação à adubação nitrogenada (Tabela 1).

Esses resultados concordam com os relatos de ALARIM & MOSTAFA (2009). A transferência de N atmosférico para as plantas através da fixação biológica de N e o crescimento promovido pelas substâncias produzidas por rizobactérias melhoram o desenvolvimento radicular e, posteriormente, aumentam a absorção de nutrientes pelas plantas de trigo (ALI et al., 2002).

Tabela 1 - Massa seca de raiz (g) e teor de nitrogênio na parte aérea (mg kg^{-1}) de cinco cultivares de trigo em função da testemunha, inoculação com *A. brasilense* (A), aplicação de nitrogênio (30 mg dm^{-3} de ureia em cobertura) (N) e com *A. brasilense* + nitrogênio (A + N). *Wheat cultivars response (root dry weight and nitrogen content of plant aerial part) to the check treatment, inoculation with A. brasilense (A), application in side dress of N (N), and the combination of inoculation with nitrogen fertilizer (A + N).*

Cultivar	Testemunha	A	N	A + N
	Massa seca de raiz (g)			
CD 104	50,53 Ba	48,54 Ba	63,40 Aa	67,02 Aa
CD 108	36,55 Ab	32,54 Bb	42,35 Ac	30,14 Bb
CD 119	18,36 Bc	33,10 Ab	27,59 Ad	32,40 Ab
CD 120	33,83 Ab	31,50 Ab	33,71 Ad	38,52 Ab
CD 150	40,38 Bb	50,05 Aa	53,81 Ab	38,42 Bb
C.V. (%)	15,34			
Teor de nitrogênio na parte aérea (mg kg^{-1})				
CD 104	18,38 Ab	14,85 Ab	19,52 Ac	20,74 Ac
CD 108	14,24 Db	23,10 Cb	35,68 Bb	48,29 Ab
CD 119	17,08 Ab	18,62 Ab	25,44 Ac	22,64 Ac
CD 120	25,93 Aa	30,80 Aa	33,42 Ab	28,89 Ac
CD 150	29,50 Ca	31,98 Ca	50,90 Ba	62,28 Aa
C.V. (%)	19,81			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação aos dados obtidos para o teor de amônio (NH_4^+) nas raízes, observa-se, na Tabela 2, que apesar de a cultivar CD 120 não diferir estatisticamente do CD 108 e CD119, esta apresentou um acréscimo considerado no teor de NH_4^+ quando cultivado apenas com o *A. brasilense* (cerca de 116,8% de incremento em relação à adubação nitrogenada), porém observou-se que o maior teor de NH_4^+ refletiu em plantas com mais massa seca de raiz ou teor de N na parte aérea. Outros genótipos que responderam à presença do *A. brasilense* com ou sem adubação nitrogenada foram o CD 108 [cerca de 170,4% e 104,5% (*A. brasilense*) com e sem adubação nitrogenada, respectivamente; em relação apenas à adubação nitrogenada]; o CD 150 [cerca de 116,8% e 115% (*A. brasilense*) com e sem adubação nitrogenada, respectivamente; em relação apenas à adubação nitrogenada], essas cultivares mostraram bom aproveitamento do N disponibilizado pela bactéria, e além de obterem maiores teores de NH_4^+ nas raízes, obtiveram acréscimos de nitrogênio na parte aérea, e no final do ciclo da cultura observou-se a transferência desse nutriente para os grãos, que apresentaram maior massa de 1.000 grãos. As demais cultivares não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Segundo LUDEWING (2002), evidências indicam que o NH_4^+ é a forma absorvida pelas plantas, e esta absorção é feita por sistema bifásico. Quando os níveis de NH_4^+ no meio externo

(solução nutritiva ou solução do solo) são baixos, opera o sistema de absorção de alta afinidade (HATS), mediado por uma proteína transportada do tipo uniporte e que mostra cinética de saturação. Isso pode explicar os valores para o tratamento-testemunha. Já em concentrações elevadas de NH_4^+ no meio externo, entra em funcionamento o sistema de baixa afinidade (LATS), sendo a concentração de 1 mmol L^{-1} de NH_4^+ o limite abaixo do qual opera o sistema de alta afinidade (HATS), e acima do qual opera o sistema de baixa afinidade (LATS) (SOUZA & FERNANDES, 2006).

Outra explicação para os baixos valores encontrados quando utilizada somente adubação nitrogenada é que a natureza prejudicial do NH_4^+ em excesso exige sua rápida assimilação, evitando seu acúmulo nos tecidos. Para esse fim, os tecidos possuem um eficiente sistema de assimilação que funciona em altas concentrações de NH_4^+ , a enzima glutamina sintetase (GS) incorpora NH_4^+ , formando glutamina, de formação de ligação amídica do NH_4^+ ao grupo α -carboxílico do glutamato, usando energia fornecida pelo ATP (SODEK, 2008).

O acúmulo de NH_4^+ em plantas pode ocorrer tanto devido ao aumento absoluto na disponibilidade de NH_4^+ quanto devido ao aumento relativo do NH_4^+ como consequência de um déficit de esqueleto de carbono, ou seja, a uma deficiência dos cetoácidos para síntese de N-amino e N-amida. É esta a síntese de N-livre nos tecidos (SOUZA & FERNANDES, 2006).

Tabela 2 - Teor de amônio ($\text{mmol NH}_4^+ \text{mg}^{-1}$ de raiz) de cinco cultivares de trigo em função da testemunha, inoculação com *A. brasilense* (A), aplicação de nitrogênio (30 mg dm^{-3} de ureia em cobertura) (N) e com *A. brasilense* + nitrogênio (A + N). *Wheat cultivars response (root ammonium content – $\text{mmol NH}_4^+ \text{g}^{-1}$) to the check treatment, inoculation with A. brasilense (A), application in side dress of N (N), and the combination of inoculation with nitrogen fertilizer (A + N).*

Cultivar	Testemunha	A	N	A + N
	Teor de amônio ($\text{mmol NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ de raiz)			
CD 104	6,85 Aa	4,14 Ab	4,26 Aa	6,47 Aab
CD 108	4,91 Ba	7,77 Aab	3,80 Ba	10,27 Aa
CD 119	5,56 Aa	6,12 Aab	5,56 Aa	5,92 Aab
CD 120	4,42 Ba	9,82 Aa	2,71 Ba	4,95 Bb
CD 150	3,35 Ba	4,60 Ab	2,14 Ba	4,64 Ab
C.V. (%)	40,77			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Na Tabela 3, são apresentados os dados relativos ao número de grãos por espiga e teor de proteínas nos grãos em função dos tratamentos de inoculação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada e a associação dessas e em função das cultivares de trigo em estudo. Os dados para estes parâmetros foram discutidos desta forma, pois não apresentaram interação entre os tratamentos e as cultivares.

As maiores médias de número de grãos por espiga e o teor de proteínas nos grãos foram obtidos com a aplicação de nitrogênio e com a

aplicação de nitrogênio associada à inoculação com *A. brasilense*.

SALA et al. (2007), avaliando isolados de bactérias endofíticas do gênero *A. brasilense* (IAC 8AT), inoculadas na cultura do trigo, verificaram que o teor de nitrogênio nos grãos só foi influenciado quando se aplicou nitrogênio, ou nitrogênio associado às bactérias diazotróficas, concordando com os resultados apresentados neste trabalho, quando se avaliou o teor de proteínas nos grãos, que tem relação direta com a disponibilidade de nitrogênio.

Tabela 3 - Número grãos por espiga e teor de proteínas nos grãos (%) de cinco cultivares de trigo, em função da testemunha, inoculação com *A. brasilense* (A), aplicação de nitrogênio (30 mg dm^{-3} de ureia em cobertura) (N) e com *A. brasilense* + nitrogênio (A + N). *Wheat cultivars response (number of grains per ear and grain protein content) to the check treatment, inoculation with A. brasilense (A), application in side dress of N (N), and the combination of inoculation with nitrogen fertilizer (A + N).*

Tratamento	Número de grãos por espiga	Teor de proteínas nos grãos (%)
Testemunha	9,25 B	8,39 B
A	9,85 B	8,09 B
N	14,75 A	9,74 A
A + N	15,15 A	10,00 A
C.V. (%)	12,38	12,16
Cultivar	Número de grão por espiga	Teor de proteínas nos grãos (%)
CD 104	9,25 C	8,18 B
CD 108	13,50 A	9,22 A
CD 119	12,94 A	9,16 A
CD 120	13,56 A	8,92 A
CD 150	12,00 B	9,81 A
C.V. (%)	12,38	12,16

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Em relação às cultivares, verificou-se que as cultivares CD 108, CD 119 e CD 120 apresentaram os maiores valores de número de grãos por espiga (Tabela 3). Quanto ao teor de protei-

nas nos grãos, a cultivar CD 104 apresentou resultado inferior as demais cultivares, que por sua vez não diferiram entre si. Considerando-se a comparação entre as cultivares, estas respos-

tas podem estar mais relacionadas a características genéticas, relacionadas à capacidade de absorção e eficiência do uso do N pelos genótipos em questão.

Tabela 4 - Número de perfilhos por planta, número de espiguetas por espiga, comprimento da espiga, massa de 1.000 grãos e produção por vaso de cinco cultivares de trigo em função da testemunha, inoculação com *A. brasilense* (A), aplicação de nitrogênio (30 mg dm⁻³ de ureia em cobertura) (N) e com *A. brasilense* + nitrogênio (A + N). *Wheat cultivars response (number of tillers per plant, number of spikelets per spike, spike length, 1,000 grain weight, and yield per vase) to the check treatment, inoculation with A. brasilense (A), application in side dress of N (N), and the combination of inoculation with nitrogen fertilizer (A + N).*

Cultivar	Testemunha	A	N	A + N
	Número de perfilhos por planta			
CD 104	7,00 Bb	7,25 Bb	12,00 Ab	13,50 Ab
CD 108	11,50 Ba	11,00 Ba	17,75 Aa	18,25 Aa
CD 119	12,00 Aa	11,75 Aa	12,50 Ab	12,75 Ab
CD 120	11,50 Ba	10,50 Ba	14,25 Ab	17,00 Aa
CD 150	8,25 Bb	11,25 Ba	14,75 Ab	13,00 Ab
C.V.(%)	18,58			
Número de espiguetas por espiga				
CD 104	16,50 Aa	15,50 Ba	16,50 Aa	17,50 Aa
CD 108	13,75 Ab	14,00 Ab	13,50 Ab	13,25 Ac
CD 119	14,00 Bb	14,50 Bb	16,00 Aa	15,50 Ab
CD 120	14,00 Bb	15,25 Aa	14,00 Bb	13,25 Bc
CD 150	16,00 Aa	15,50 Aa	15,75 Aa	15,75 Ab
C.V.(%)	5,48			
Comprimento de espiga (cm)				
CD 104	13,25 Ba	13,75 Ba	14,50 Aa	14,75 Aa
CD 108	11,25 Bb	11,75 Ab	12,25 Ab	11,00 Bc
CD 119	12,75 Ba	13,25 Ba	14,50 Aa	15,00 Aa
CD 120	12,75 Aa	12,25 Ab	13,25 Ab	13,25 Ab
CD 150	11,25 Bb	12,25 Ab	12,50 Ab	12,75 Ab
C.V.(%)	5,12			
Massa de 1.000 grãos (g)				
CD 104	34,86 Bb	38,45 Aa	38,65 Aa	37,23 Ab
CD 108	31,75 Bb	34,98 Ab	35,27 Ab	34,34 Ab
CD 119	37,91 Aa	35,35 Ab	37,04 Aa	35,93 Ab
CD 120	33,80 Ab	33,06 Ab	34,83 Ab	34,73 Ab
CD 150	38,29 Ba	36,40 Ba	38,31 Ba	42,34 Aa
C.V.(%)	5,08			
Produção por vaso (g/vaso)				
CD 104	10,35 Ba	9,66 Bb	20,60 Aa	20,68 Aa
CD 108	10,76 Da	13,15 Ca	18,32 Aa	15,78 Bb
CD 119	9,88 Ba	10,09 Bb	21,90 Aa	21,15 Aa
CD 120	11,18 Ba	11,97 Ba	19,77 Aa	17,84 Ab
CD 150	11,59 Ba	12,29 Ba	20,50 Aa	20,60 Aa
C.V.(%)	9,80			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para as variáveis número de perfilhos por plantas, número de espiguetas por espiga, comprimento de espiga, massa de 1.000 grãos e produção de grãos por vaso, houve a possibilidade do estudo da interação entre os fatores em questão (combinação de inoculação de bactérias

diazotróficas com adubação nitrogenada x cultivares de trigo), sendo a interação entre estes significativa pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 4).

Com exceção da cultivar CD 119, que não apresentou diferença no número de perfilhos por planta, nas demais cultivares os maiores números de perfilhos por planta foram obtidos quando da aplicação de N (Tabela 4). Ao se avaliar a cultivar CD 108, verificou-se que, independentemente do tratamento aplicado, esta apresentou o maior número de perfilhos por planta, quando comparada às demais cultivares.

Ainda na Tabela 4, pode-se verificar que o número de espiguetas por espiga das cultivares CD 108 e CD 150 não foi influenciado pelos tratamentos aplicados. A cultivar CD 104 apresentou número de espiguetas por espiga, em resposta à inoculação com *A. brasilense*, inferior aos demais tratamentos, que por sua vez não apresentaram diferença entre si. Por outro lado, a cultivar CD 120 apresentou número de espiguetas por espiga, quando inoculadas, superior aos demais tratamentos. Enquanto a cultivar CD 119 apresentou maior número de espiguetas por espiga em função dos tratamentos com aplicação de N.

Independentemente do tratamento aplicado, as cultivares CD 104 e CD 119 apresentaram as maiores médias de comprimento de espiga em relação às demais cultivares, e essas apresentaram maiores comprimentos de espiga com a aplicação de N. O comprimento de espiga da cultivar CD 120 não foi influenciado pelos tratamentos aplicados. Os maiores comprimentos de espiga para a cultivar CD 108 foram obtidos somente com a inoculação com a bactéria ou somente com a adubação nitrogenada. A cultivar CD 150 apresentou o menor comprimento de espiga no tratamento-testemunha, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 4).

A massa de 1.000 grãos das cultivares CD 119 e CD 120 não foi influenciada pelos tratamentos aplicados. O tratamento-testemunha, que não recebeu adubação nitrogenada e tampouco inoculação das sementes com *A. brasilense* (AbV5), foi o que apresentou a menor massa de 1.000 grãos para as cultivares CD 104, CD 108 e CD 120, quando comparado aos demais tratamentos, que por sua vez não diferiram entre si. A cultivar CD 150 apresentou maior massa de 1.000 grãos em resposta à inoculação das sementes associada à adubação nitrogenada, sendo cerca de 10,5% de incremento em relação à adubação nitrogenada. Entre as cultivares, o CD 150 apresentou uma das maiores massas de 1.000 grãos em todos os tratamentos aplicados. Diferenças apresentadas nas respostas das cultivares frente às avaliações poderiam ser

explicadas apenas pelo controle genético, mas segundo GUARIENTI (1996) e GUTDOSKI & SILVEIRA (1999), para avaliação de massa de 1.000 grãos, além dos fatores genéticos, as condições edafoclimáticas favoráveis durante a fase de maturação são essenciais.

Ainda na Tabela 4, verifica-se que, com exceção da cultivar CD 108, que apresentou maior produção de grãos por vaso, somente com a aplicação de N as demais cultivares apresentaram a maior produção de grãos em resposta aos dois tratamentos com adubação nitrogenada.

Uma possível explicação para estes resultados pode ser que, na utilização de apenas bactérias diazotróficas em plantas não leguminosas, não contribuem com quantidades suficientes de N_2 fixado para garantir a produtividade máxima destas culturas (BALDANI & BALDANI, 2005). Além disso, HALLMANN et al. (1997) relatam que condições de baixo nível de N no solo, com presença de bactérias diazotróficas, resultam em uma associação de alto custo energético para a planta, uma vez que essas bactérias são extremamente dependentes de fontes de carbono disponibilizadas pelas plantas, resultando em ausência de desempenhos satisfatórios quanto à produtividade.

Nas condições deste trabalho e para os parâmetros avaliados, detectaram-se resultados equivalentes para o tratamento com adubação nitrogenada e o associado com a bactéria. No entanto, para ALARIM & MOSTAFA (2009), trabalhando com a cultura do trigo, cujas sementes foram inoculadas com bactérias do gênero *Azospirillum*, combinado com variadas doses de N (40; 60 e 80 kg ha⁻¹), constataram que a maior produtividade do trigo foi obtida nas plantas tratadas com a inoculação de bactérias e adubação nitrogenada, particularmente em 60 kg ha⁻¹ de N. Outro dado que os autores relatam é que a produção de trigo tratado com 80 kg ha⁻¹ de N não diferiu estatisticamente quando comparada com a de 60 kg ha⁻¹ de N associado com a bactéria. Assim, a inoculação com bactérias economizou cerca de 20 kg ha⁻¹ de N-fertilizante, mostrando que é economicamente viável o uso dessas bactérias.

Verificou-se que, de maneira geral, existem correlações significativas entre a maioria dos componentes da produção da cultura do trigo (Tabela 5). Contudo em grande parte os valores do coeficiente, apesar de significativo são baixos, mostrando que existe uma interdependência entre os componentes que acabam influenciando na produção de grãos por vaso, para as cultivares de trigo em questão. Salienta-se que o estudo de correlação foi realizado considerando-se as médias das cinco cultivares de trigo e dos quatro tratamentos com fontes de N (Tabela 5).

O teor de N na parte aérea das plantas (TNPA) correlacionou-se positivamente, com o número de perfilhos por planta (NPP), número de grão por espiga (NGP), produção por vaso (PGV) e teor de proteína nos grãos (TPG), sendo os coeficientes de correlação 0,486; 0,477; 0,438 e 0,470, respectivamente. Verificou-se também correlação significativa e positiva entre o TPG e os componentes da produção NPP, NGP e PGV.

A partir destes resultados, pode-se inferir que o maior teor de nitrogênio na parte aérea das plantas resultou em plantas mais produtivas, com grãos de maior teor de proteínas. Estratégias para fornecimento de nitrogênio às plantas na fase vegetativa, seja por adubação nitrogenada, seja através da FBN, são importantes para obtenção de maiores produtividades e qualidade de grãos.

Tabela 5 - Coeficiente de correlação linear de Spearman entre as estimativas dos parâmetros de produção de trigo [(número de perfilhos por planta (NPP); massa seca de raízes (MSR); teor de NH₄⁺ na raiz (TNH₄R); teor de N na parte aérea (TNPA); número de grãos por espiga (NGP); comprimento de espiga (CE); número de espiguetas por espiga (NEE); número de espigas por planta (NEP); teor de proteínas nos grãos (TPG), e produção de grãos por vaso (PGV)]. Os valores relativos às médias de quatro repetições de cinco cultivares de trigo, submetidas à inoculação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada. *Spearman linear correlation coefficient between the wheat yield parameters number of tillers per plant (NPP), root dry weight (MSR), root ammonium content (TNH₄R), plant aerial part N content (TNPA), number of grains per spike (NGP), spike length (CE), number of spikelets per spike (NEE), number of ears per plant (NEP), grain protein content (TPG), and grain yield per vase (PGV).*

	MSR	TNH ₄ R	TNPA	NGP	CE	NEE	M1000	TPG	PGV
NPP	-0,049 ^{ns}	0,271**	0,486*	0,732*	-0,065*	-0,316*	-0,074 ^{ns}	0,441*	0,501*
MSR	-	-0,004 ^{ns}	-0,105 ^{ns}	-0,146 ^{ns}	0,126 ^{ns}	0,474*	0,236**	-0,052 ^{ns}	0,190 ^{ns}
TNH ₄ R		-	0,273**	0,202 ^{ns}	-0,142 ^{ns}	-0,098 ^{ns}	0,077 ^{ns}	0,213 ^{ns}	0,096 ^{ns}
TNPA			-	0,477*	-0,306**	-0,049 ^{ns}	0,076 ^{ns}	0,470*	0,438*
NGP				-	0,055 ^{ns}	-0,268**	-0,115 ^{ns}	0,531*	0,741*
CE					-	0,472**	0,223*	0,009 ^{ns}	0,291**
NEE						-	0,412*	-0,132 ^{ns}	0,275**
M1000							-	0,209 ^{ns}	0,244**
TPG								-	0,531*

* - significativo a 1% de probabilidade, pelo teste Z; ** - significativo a 5% de probabilidade, pelo teste Z; ns - não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste Z.

Observou-se ainda que todos os componentes da produção apresentam correlação positiva com a produção de grãos por vaso (Tabela 5). Vale destacar o número de perfilhos por planta e o número de espigas por planta, pois estes apresentaram coeficientes de correlação maiores que 0,5, sendo estes componentes determinantes para a produção de grãos das cultivares de trigo em questão. Para DI MAURO et al (2000), normalmente, coeficientes de correlação entre 0,40 e 0,75 são considerados de média magnitude.

CAVASSIM & BOREM (1998), estudando a cultura do trigo, também verificaram correlações positivas entre número de grãos e comprimento de espigas. Assim, hou-ve tendência de que as plantas com espigas maiores produzirem maior número de grãos. Todavia, isso nem sempre é verdadeiro, já que existe a possibilidade de os grãos terem for-

mato irregular e distribuição pouco densa na espiga.

Vale ainda destacar as correlações significativas e positivas entre a massa seca de raízes com o número de espiguetas por planta e a massa de 1.000 grãos, pois estes resultados podem explicar, em parte, a ação do *A. brasilense* na FBN e no desenvolvimento do sistema radicular. Isso indica que, mesmo sendo correlações de média e baixa magnitude, se as bactérias diazotróficas não puderem oferecer todo o N necessário para a planta, porém se auxiliarem no desenvolvimento da parte radicular, formação de pelos radiculares, aumento na taxa de aparecimento de raízes secundárias e da superfície radicular como afirmado por HARTMAN & ZIMMER (1994), já garante um maior número de espiguetas e maior massa de 1.000 grãos para a cultura.

Uma questão que vale ressaltar neste estudo é que, desde a “Revolução Verde”, todas as cultivares destinadas principalmente para alimentação humana, como é o caso das cultivares utilizadas neste trabalho, foram desenvolvidos/selecionados principalmente em função da utilização e resposta a fertilizantes nitrogenados e não necessariamente em relação a sua capacidade de resposta à FBN (DÖBEREINER, 1992).

Uma das variáveis que contribui para a complexidade das respostas à inoculação é a interação do genótipo da planta e a estirpe inoculada, como constatada pelos resultados. Tal conclusão também foi encontrada nos trabalhos realizados por vários autores (SALA et al., 2007).

Conclusões

Observaram-se diferenças de resposta entre as cultivares de trigo quando inoculadas com *A. brasilense* associada à adubação nitrogenada.

A cultivar CD 150, no tratamento associado, foi o que apresentou os maiores teores de nitrogênio na parte aérea, massa de 1.000 grãos e teor de amônio nas raízes, em relação à adubação nitrogenada.

Houve interação positiva da bactéria fixadora de nitrogênio e a adubação nitrogenada com a cultivar de trigo CD 150.

Referências

ALARIM, S. A.; MOSTAFA, Y. S. Effect of nitrogen supply and *Azospirillum brasilense* Sp-248 on the response of wheat to seawater irrigation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, n.16, p.101–107, 2009.

ALI, N. A.; DARWISH, S. D.; MANSOUR, S. M. Effect of *Azotobacterchroococcum* and *Azospirillum brasilense* inoculation an anhydrous ammonia on root colonization, plant growth and yield of wheatplant under saline alkaline cognition. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, n.27, p.5575–5591, 2002.

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

ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa SPI, 1994. (Documentos, 44).

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**, Rio de Janeiro, v.77, p.549-579, 2005.

BERTHELOT, M. P. E. Violet d'aniline. **Répertoire Chimie Purê Appliquée**, v.1, p.284, 1859.

BRAUTIGAM, A.; GAGNEUL, D.; WEBER, A. High-Throughput Colorimetric Method for the Parallel Assay of Glyoxylic Acid and Ammonium in a Single Extract. **Analytical Biochemistry**, New York, v.362, n.1, p.151-3, mar. 2007.

CAVASSIM, J. E.; BOREM, A. Correlações em seis populações de trigo (*Triticum aestivum*). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.45, n.262, p.555-566, 1998.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos 2009/2010**, Décimo primeiro levantamento - Agosto 2010. Brasília, 2010.

COODETEC. **Guia de produtos – Trigo – 2010**. Disponível em: <<http://www.coodetec.com.br/guia2010/Segmento-Trigo.pdf>> Acesso em: 30 jan. 2011.

CULLIMORE, J. V.; BENNETT, M. J. Nitrogen assimilation in the legumine root nodule: current status of the molecular biology of the plant enzymes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, p.461-466, 1992.

DI MAURO, A. O.; CURCIOLO, V. B.; NÓBREGA, J. C. M.; BANZATO, D. A.; SEDIYAMA, T. Correlações entre medidas paramétricas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.35, n.4, p.687-696, abr. 2000.

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

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: CNPS/EMBRAPA, 1999. 412p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Informações técnicas para trigo e triticales – safra 2012**. Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 225p.

GRAHAM, P. H.; VANCE C. P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research

and extension needs. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.65, p.93-106, 2000.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial de trigo**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 36p, 1996. (Documentos, 27).

GUTDOSKI, L. C.; SILVEIRA, L. Avaliação reológica de cultivares de trigo para a produção de biscoitos. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo, 18., 1999, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo. 1999. v.2, p.386-390.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.43, p.895-914, 1997.

HARPER, J. E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K. J; BENNETT, J. M.; SINCLAIR, T. R.; PAULSEN, G. M. (ed.). **Physiology and determination of crop yield**. Madson: American Society of Agronomy. 1994. cap.11, p.285-302.

HARTMAN, A.; ZIMMER, W. **Physiology of Azospirillum-Plant Associations**. Boca Raton: CRC - Critical Reviews in Plant Science, 1994. p.15-39.

LUDEWIG, U.; VON WIRÉM, N.; FROMMER, W. B. Uniport of NH₄⁺ by the root hair plasma membrane ammonium transporter LeAMT1;1. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, n.27, p.13548-13555, 2002.

PEDROSA, F. O.; YATES, M. G. Regulation of nitrogen fixation (*nif*) genes of *Azospirillum brasilense* by *nifA* and *ntrC* (*glnG*) type genes. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.55, p.95-11, 1984.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Science**, Philadelphia, v.19, n.3, p.227-247, 2000.

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

SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v.32, n.3, p.1099-1106, 2008.

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

SODEK, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.215-252, 2006.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometric approach**. 2nded. New York :McGraw-Hill, 633p, 1980.

TEDESCO, M. J.; GIANELO, C.; BISSANI, C. A. **Análises de solo, planta e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 188p., 1995. (Boletim Técnico, 5)

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, p. 415-421, 1974.