

FORMAS DE INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* NO CRESCIMENTO INICIAL DE TRITICALE*Ways of inoculation of Azospirillum brasilense in the initial growth of triticale*

Murilo Sinatura Sipione¹, Arnaldo Cintra Limede¹, Carlos Eduardo da Silva Oliveira¹, André Zoz², Celi Santana Silva², Tiago Zoz^{3*}

¹ Graduando, Departamento em Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul; murilo_sinatura@hotmail.com; ac.limede@hotmail.com; carlos_eduard@hotmail.com

² Mestrando, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul; andre_zoz@hotmail.com; celisantagro@hotmail.com

³ Professor, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul; zoz@uem.br (*autor para correspondência)

Artigo enviado em 17/02/2017, aceito em 19/09/2017 e publicado em 20/12/2017.

Resumo - O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influência das formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* no crescimento inicial do triticale. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições, em esquema fatorial 4x2. O primeiro fator foi composto por quatro formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* (sem inoculação, inoculação na semente, inoculação no sulco de semeadura e inoculação via foliar, sendo esta realizada aos 10 dias após a emergência). O segundo fator foi composto por dois cultivares de triticale (IPR Aimoré e BRS Harmonia). A inoculação de *Azospirillum brasilense* na semente reduziu a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência do triticale, dependendo do genótipo. As formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* de forma geral não influenciaram o crescimento inicial do triticale. A resposta das plantas à inoculação de *Azospirillum brasilense* foi variável, dependendo basicamente do genótipo de triticale.

Palavras-Chave: X *Triticosecale* Wittmack., fixação biológica, aplicação foliar.

Abstract – The present trial was developed with the objective of evaluating the influence of inoculation modes of *Azospirillum brasilense* on the initial growth of triticale. The experimental design was randomized blocks with four replicates, in 4x2 factorial scheme. The first factor was composed by four inoculation methods of *Azospirillum brasilense* (without inoculation, inoculation in the seed, inoculation in the sowing furrow and foliar inoculation at 10 days after an emergency). The second factor was composed by two triticale cultivars (IPR Aimoré and BRS Harmonia). The inoculation of *Azospirillum brasilense* in the seed can reduce the emergency percentage and the index of emergence speed of triticale, depending on the genotype. In general, the inoculation modes of *Azospirillum brasilense* did not influence the initial growth of triticale. The response of the plants to the inoculation with *Azospirillum brasilense* is variable, depending essentially on the triticale genotype.

Keywords – X *Triticosecale* Wittmack., Biological fixation, leaf application.

INTRODUÇÃO

O triticale (X *Triticosecale* Wittmack) é um cereal proveniente do cruzamento entre Trigo (*Triticum aestivum* L.) e Centeio (*Secale cereale*) normalmente cultivado como cultura de inverno em algumas regiões do Brasil (BAIER e NEDEL, 1985). Inicialmente a produção deste cereal tinha como objetivo a substituição do trigo, porém estudos mostraram que sua farinha possuía qualidade inferior para panificação, em contrapartida, apresentam características interessantes

para utilização na confeitaria (OLIETE et al., 2010). Com o passar dos anos, também foi observado nesta cultura um grande potencial para silagem e fenação, utilizadas na alimentação animal (McGOVERIN et al., 2011). Devido sua maior rusticidade e sanidade, o triticale é cultivado em áreas onde o cultivo do trigo é inviável (OLIETE et al., 2010). Para o triticale, entre outros fatores, a disponibilidade de nitrogênio é de suma importância para o crescimento inicial, desenvolvimento e produtividade final, além de estar relacionado com a quantidade de proteína encontrada

nos grãos, fator que influencia a qualidade do produto (LESTINGI et al., 2010). Contudo, além do grande impacto ambiental causado pela aplicação de fertilizantes nitrogenados (ZAVATTARO et al., 2012), o nitrogênio é um insumo de alto custo para o produtor de triticale (DARTORA et al., 2013).

Visando a redução de custos de produção de triticale, têm-se buscado fontes alternativas para o fornecimento de nitrogênio às plantas. Dentre as alternativas, destaca-se o *Azospirillum brasilense*, pertencente ao grupo das bactérias promotoras de crescimento de plantas, possuindo efeito benéfico na produtividade e rendimento de culturas, atuando principalmente na fixação biológica de nitrogênio (STETS et al., 2015). A utilização de bactérias diazotróficas é uma alternativa que possibilita a redução da quantidade de nitrogênio aplicado nas lavouras, gerando economia para o produtor (NAIMAN et al., 2009).

Entre os benefícios promovidos por estirpes de *A. brasilense*, está incluso um maior acúmulo de biomassa da parte aérea, maior peso seco do sistema radicular, aumento do número de espigas por área (NAIMAN et al., 2009), maior absorção de nutrientes e minerais (RODRIGUES et al., 2014), além da sintetização de fitohormônios benéficos ao desenvolvimento de plantas (LUCY et al., 2004).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* pode ser realizada de diferentes formas, gerando diferentes

respostas no desenvolvimento e produção das culturas inoculadas (BRACCINI et al., 2016). Entretanto, para a cultura do triticale não há uma definição sobre o modo de aplicação mais adequado, sendo necessários estudos para maior precisão e eficiência nas recomendações.

Em vista do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar a resposta agrônômica da cultura do triticale à diferentes formas de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização e caracterização experimental

O experimento foi conduzido sob cultivo protegido na Estação Experimental Agrícola da Unidade Universitária de Cassilândia (UEMS/UUC), localizada no município de Cassilândia – MS (latitude: 19°05'30,50" longitude: 51°05'55,64" e altitude: 549 metros) no período de abril a junho de 2016. Segundo a classificação climática de Köppen-Geiger, a região apresenta clima tropical com estação seca de inverno (Aw).

O solo utilizado foi classificado como Neossolo Quartzarênico (95 g kg⁻¹ de argila, 50 g kg⁻¹ de silte e 855 g kg⁻¹ de areia), coletado na camada de 0,0 - 0,20 m de profundidade. Na Tabela 1 são apresentadas as características químicas do solo seguindo metodologia proposta por Raij et al. (2001).

Tabela 1. Características químicas do solo na camada de 0 - 20 cm antes da implantação do experimento. Cassilândia/MS. 2016

pH	Presina mg dm ⁻³	M.O. g dm ⁻³	K	Ca	Mg	Al	Al+H	SB	CTC	V%	S-SO ₄ mg dm ⁻³
5,2	2,0	14,0	1,7	10,0	7,0	0,0	22,0	18,7	40,7	46,0	2,0
m		B		Cu		Fe		Mn		Zn	
%						mg dm ⁻³					
0,0		0,08		0,60		8,00		5,70			0,30

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições, em esquema fatorial 4 x 2. O primeiro fator foi constituído por quatro formas de inoculação de *A. brasilense* (sem inoculação, inoculação na semente, inoculação no sulco de semeadura e inoculação via foliar). O segundo fator foi constituído por dois cultivares de triticale (IPR Aimoré e BRS Harmonia). Cada unidade experimental foi constituída por um vaso com capacidade volumétrica de 5 litros, totalizando 32 vasos.

Instalação e Condução do Experimento

Como fonte de *A. brasilense* utilizou-se o inoculante comercial líquido Nitro1000® Gramíneas que contém as estirpes AbV5 e AbV6 com 200 milhões de células por ml. Para o tratamento de sementes, utilizou-se a dose de 100 ml de inoculante para 4.000.000 de sementes, o que corresponde a 5.000 células por semente. Para inoculação no sulco, foi realizada a semeadura, e antes de fechar o sulco, com uma micropipeta foi adicionado o inoculante em cada sulco. A dose utilizada foi de 6,0 litros por hectare que

corresponde a 300.000 de células por semente. Após a adição do inoculante os sulcos foram fechados.

Para inoculação foliar utilizou-se a dose de 100 ml por hectare, que corresponde a 5.000 células por planta. A pulverização foi realizada aos 10 dias após a emergência (DAE) com volume de calda de 165 L ha⁻¹. Utilizou-se um pulverizador costal com ponta de pulverização tipo cônico. A pulverização foi realizada ao final da tarde visando evitar perdas por evaporação.

Foram semeadas 10 sementes por vaso e após a estabilização do estande foi realizado o desbaste deixando-se apenas uma planta por vaso.

Aos 15 DAE foi realizada a adubação com 150 mg dm⁻³ de K (Cloreto de Potássio), 300 mg dm⁻³ de P (Superfosfato Simples) e 75 mg dm⁻³ de N (Ureia). As fontes de fertilizantes foram diluídas em água e então aplicadas nos vasos. Como irrigação, foram aplicados diariamente 180 ml de água por vaso. Os tratos fitossanitários foram realizados de acordo com a recomendação para a cultura.

Variáveis avaliadas

Após a semeadura, foram realizadas diariamente a contagem de plântulas emergidas em cada vaso e, a partir dos dados obtidos foram estimados os seguintes parâmetros:

- Emergência de plântulas (%): contagem das plântulas emergidas após a estabilização do estande.

- Índice de velocidade de emergência (IVE): calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962): $IVE = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n$, onde E_1, E_2, \dots, E_n = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem. N_1, N_2, \dots, N_n = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

- Tempo médio de emergência (TME): calculado pela fórmula proposta por Labouriau (1983): $TME = (N_1G_1 + N_2G_2 + \dots + N_nG_n) / (G_1 + G_2 + \dots + G_n)$, onde G_1, G_2, \dots, G_n : número de plântulas emergidas no dia da observação, e N_1, N_2, \dots, N_n : número de dias contados desde o dia da semeadura, até o dia da observação.

Ao final do experimento, aos 60 dias após a semeadura, foram realizadas as seguintes avaliações:

- Diâmetro de colmo principal (mm): por meio de paquímetro digital no primeiro entre nó.

- Altura de planta (cm): definida como a distância do nível do solo até o ápice do dossel da planta.

- Número total de folhas expandidas por planta: obtido por contagem das folhas totalmente expandidas.

- Número de afilhos: contagem do número total de afilhos.

As plantas foram seccionadas em folhas, colmos, espiga e sistema radicular e armazenadas em estufa de circulação forçada de ar, com temperatura de 65°C por 72 horas para obtenção da:

- Massa de matéria seca do sistema radicular (g planta⁻¹).

- Massa de matéria seca de colmos (g planta⁻¹).

- Massa de matéria seca de folhas (g planta⁻¹).

- Massa de matéria seca de espigas (g planta⁻¹).

- Massa de matéria seca da parte aérea (g planta⁻¹).

- Massa de matéria seca total (g planta⁻¹).

- Volume do sistema radicular (cm³ planta⁻¹): as raízes foram lavadas e imersas em uma proveta com volume de água conhecido, sendo o volume de água deslocado, o volume do sistema radicular.

- Área foliar (dm²/planta): definida pelo método dos discos foliares, utilizando-se um vazador com área conhecida. Foram destacados discos foliares das porções basal, mediana e apical do limbo foliar. Por meio da área conhecida dos discos foliares destacados, da massa dos mesmos e da folha, obtidos após secagem em estufa de ventilação forçada, por 72 horas a 65°C, foi estimada a área foliar total.

- Razão parte aérea/raiz (g g⁻¹): obtida pela divisão da massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) pela massa de matéria seca da raiz (MSR).

- Densidade do sistema radicular (g cm⁻³): obtida pela divisão da massa seca do sistema radicular (MSR) pelo volume do sistema radicular (VOL).

- Razão de área foliar (dm² g⁻¹): expressa a área foliar útil para fotossíntese (BENINCASA, 2003) e foi estimada pela divisão da área foliar pela massa de matéria seca total da planta.

- Área foliar específica (dm² g⁻¹): reflete o inverso da espessura da folha (BENINCASA, 2003) e foi obtido pela divisão entre a área foliar (AF) e a massa seca de folhas (MSF).

- Razão de massa foliar (g g⁻¹): expressa a matéria seca translocada da folha para outros órgãos do vegetal, por meio da divisão entre massa seca da folha (MSF) e massa seca total (MST) da planta (BENINCASA, 2003).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos às análises de normalidade e homocedasticidade e então transformadas em \sqrt{x} . Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de significância e, quando significativos utilizou-se o teste t (LSD) para comparação das médias

relativas as formas de inoculação e teste F para comparação de médias entre as variedades.

RESULTADOS

Houve interação entre as formas de inoculação de *A. brasilense* e os cultivares de triticales utilizados para porcentagem de emergência de plântulas, tempo médio de emergência e índice de velocidade de emergência (Tabela 2).

A inoculação de *A. brasilense* no sulco de semeadura para o cultivar IPR Aimoré resultou em menor porcentagem de emergência de plântulas entre as formas de inoculação, diferentemente do cultivar BRS Harmonia que não apresentou diferença entre as formas de inoculação. Entre os cultivares observou-se diferença apenas para a inoculação no sulco de semeadura, sendo o cultivar IPR Aimoré inferior à BRS Harmonia (Tabela 2).

Tabela 2. Emergência de plântulas (EMER), índice de velocidade de emergência (IVE) e tempo médio de emergência (TME) de dois cultivares de triticales submetidas à diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	EMER (%)		IVE		TME (dias)	
	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia
Controle	75,00 Aa	85,00 A	1,45 Ba	1,91 A	5,53 A	4,56 B
Semente	72,50 Aa	87,50 A	1,37 Bab	1,92 A	5,61 A	4,76 A
Sulco	55,00 Bb	80,00 A	1,06 Bb	1,66 A	5,33 A	5,07 A
Foliar	75,00 Aa	82,50 A	1,47 Aa	1,79 A	5,48 A	4,88 A
Média	69,38	83,75	1,34	1,82	5,49	4,82
C. V. (%)	7,61		6,76		5,53	

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre as formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticales ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Observou-se menor tempo médio de emergência para o cultivar BRS Harmonia apenas no tratamento sem inoculação, não se verificando diferença entre as formas de inoculação (Tabela 2).

Quanto ao índice de velocidade de emergência, no cultivar IPR Aimoré, os tratamentos via foliar e controle foram superiores à inoculação no sulco. No cultivar BRS Harmonia não foi verificado efeito entre as formas de inoculação.

Para o diâmetro de colmo, altura de planta e massa de matéria seca de colmo houve interação

entre as formas de inoculação de *A. brasilense* e os cultivares de triticales. Não houve diferença entre as formas de inoculação de *A. brasilense* entre os cultivares para o diâmetro de colmo e massa de matéria seca de colmo. Porém, constatou-se diferenças entre os cultivares em ambas as variáveis, tendo-se verificado maior diâmetro de colmo para o cultivar BRS Harmonia em todos os tratamentos e, maior massa de matéria seca de colmo para o cultivar IPR Aimoré nos tratamentos controle, inoculação na semente e inoculação no sulco (Tabela 3).

Tabela 3. Diâmetro de colmo (DIAM), altura de planta (ALT) e massa de matéria seca de colmo (MSC) de plântulas de dois cultivares de triticales submetidas a diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	DIAM (mm)		ALT (cm)		MSC (g planta ⁻¹)	
	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia
Controle	1,69 B	2,31 A	48,75 Aa	31,50 B	0,166 A	0,084 B
Semente	1,61 B	2,60 A	45,38 Aa	30,75 B	0,160 A	0,066 B
Sulco	1,57 B	2,69 A	44,50 Aab	33,50 B	0,171 A	0,109 B
Foliar	1,72 B	2,34 A	37,25 Ab	30,25 B	0,118 A	0,058 A
Média	1,65	2,49	43,97	31,50	0,154	0,079
C. V. (%)	7,68		6,33		3,48	

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre as formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticales ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Para altura de planta, verificou-se diferença entre as formas de inoculação apenas para o cultivar IPR

Aimoré, tendo constatado que os tratamentos controle e inoculação na semente foram superiores à inoculação

foliar (Tabela 3). O cultivar IPR Aimoré apresentou altura de planta superior ao BRS Harmonia (Tabela 3).

Houve interação entre os cultivares de triticale e as formas de inoculação de *A. brasilense* para massa de matéria seca de folhas, massa de matéria seca de espiga e razão parte aérea/raiz (Tabela 3).

Não houve diferença entre as formas de inoculação para massa de matéria seca da folha e massa de matéria seca de espiga (Tabela 4). Os cultivares IPR Aimoré e BRS Harmonia foram superiores em todos as

formas de inoculação de *A. brasilense* para massa de matéria seca de folha e massa de matéria seca de espiga, respectivamente, enquanto para razão parte aérea/raiz, o cultivar IPR Aimoré foi superior nos tratamentos controle, inoculação na semente e no sulco (Tabela 4).

A razão parte aérea/raiz apresentou diferença entre as formas de inoculação apenas para o cultivar IPR Aimoré, sendo o controle superior à inoculação via foliar (Tabela 4).

Tabela 4. Massa de matéria seca de folha (MSF), massa de matéria seca de espiga (MSE) e razão parte aérea/raiz (RPAR) de plântulas de dois cultivares de triticale submetidas à diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	MSF (g ⁻¹ planta)		MSE (g ⁻¹ planta)		RPAR (g ⁻¹ g)	
	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia
Controle	0,107 B	0,178 A	0,073 A	0,000 B	1,332 Aa	0,567 B
Semente	0,093 B	0,196 A	0,064 A	0,000 B	1,020 Aab	0,481 B
Sulco	0,103 B	0,218 A	0,054 A	0,000 B	1,127 Aab	0,645 B
Foliar	0,082 B	0,182 A	0,026 A	0,000 B	0,856 Ab	0,566 A
Média	0,096	0,194	0,054	0,000	1,084	0,565
C. V. (%)	3,11		2,04		9,97	

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre as formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticale ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Houve interação entre as formas de inoculação de *A. brasilense* e os cultivares de triticale para o volume do sistema radicular, massa de matéria seca do sistema radicular e área foliar (Tabela 5). As diferentes formas de inoculação não influenciaram estas características.

Verificou-se maior volume do sistema radicular e área foliar para o cultivar BRS Harmonia em todas as formas de inoculação, e maior massa de matéria seca do sistema radicular para o cultivar BRS Harmonia apenas no tratamento por inoculação da semente (Tabela 5).

Tabela 5. Volume do sistema radicular (VOLR), massa de matéria seca do sistema radicular (MSR) e área foliar (AF) de plântulas de dois cultivares de triticale submetidas a diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	VOLR (cm ³)		MSR (g ⁻¹ planta)		AF (dm ²)	
	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia
Controle	2,50 B	4,13 A	0,265 A	0,452 A	0,258 B	0,445 A
Semente	3,00 B	4,63 A	0,327 B	0,594 A	0,249 B	0,540 A
Sulco	2,88 B	4,50 A	0,305 A	0,512 A	0,265 B	0,556 A
Foliar	2,38 B	3,75 A	0,295 A	0,443 A	0,220 B	0,481 A
Média	2,69	4,25	0,298	0,500	0,248	0,505
C. V. (%)	12,26		8,08		6,07	

Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticale ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Houve interação entre as formas de inoculação de *A. brasilense* e os cultivares de triticale para razão de massa foliar, área foliar específica e razão de área foliar (Tabela 6).

Para a variável razão de massa foliar e razão de área foliar não foram verificadas diferenças entre as

formas de inoculação de *A. brasilense*. Porém, verificou-se diferença entre os cultivares, no qual o cultivar BRS Harmonia apresentou médias superiores ao cultivar IPR Aimoré em todas as formas de inoculação para ambas as variáveis (Tabela 6).

Tabela 6. Razão de área foliar (RAF), razão de massa foliar (RMF) e área foliar específica (AFE) de plântulas de dois cultivares de triticale submetidas a diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	RAF (dm ² /g)		RMF (g ⁻¹ g)		AFE (dm ² /g)	
	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia	Aimoré	Harmonia
Controle	0,407 B	0,621 A	0,169 B	0,246 A	2,421 b	2,530
Semente	0,390 B	0,649 A	0,146 B	0,238 A	2,685 a	2,728
Sulco	0,418 B	0,682 A	0,164 B	0,269 A	2,545 ab	2,541
Foliar	0,419 B	0,715 A	0,155 B	0,270 A	2,692 a	2,657
Média	0,408	0,667	0,158	0,256	2,586	2,614
C. V. (%)	4,13		2,38		2,23	

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre as formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticale ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Verificou-se diferença na área foliar específica entre as formas de inoculação de *A. brasilense* apenas para o cultivar IPR Aimoré, sendo as aplicações via semente e via foliar superiores ao tratamento controle, indicando que as plantas que receberam o *A. brasilense* diretamente nas folhas apresentaram folhas menos espessas (Tabela 6).

Não houve interação entre as formas de inoculação de *A. brasilense* e os cultivares de triticale para o número de folhas expandidas, número de afilhos por planta, massa de matéria seca da parte aérea, massa de matéria seca total e densidade do sistema radicular (Tabela 7). O cultivar IPR Aimoré apresentou maior número de afilhos (Tabela 7).

Tabela 7. Número de folhas expandidas (NFOL), número de afilhos (NAF), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST) e densidade do sistema radicular (DENSUR) de plântulas de dois cultivares de triticale submetidas a diferentes formas de inoculação de *Azospirillum brasilense*

Tratamento	NFOL	NAF	MSPA	MST	DENSUR
			----- g planta ⁻¹ -----		g cm ⁻³
Controle	6,00	1,00	0,304 ab	0,663	0,110
Semente	6,63	1,25	0,290 ab	0,750	0,116
Sulco	6,88	1,25	0,328 a	0,736	0,112
Foliar	6,75	1,25	0,233 b	0,602	0,120
Cultivar					
IPR Aimoré	6,31	1,38 A	0,304	0,602	0,112
BRS Harmonia	6,81	1,00 B	0,273	0,773	0,117
Média	6,56	1,19	0,289	0,688	0,114
C. V. (%)	7,83	10,91	5,64	8,57	7,83

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre as formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* pelo teste t (LSD) ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre os cultivares de triticale ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Houve diferença entre os cultivares apenas para número de afilhos, tendo o cultivar IPR Aimoré apresentado maiores médias. Dentre as formas de inoculação, apenas a variável massa de matéria seca da parte aérea foi afetada, onde a inoculação no sulco de semeadura foi superior à inoculação via foliar (Tabela 7).

DISCUSSÃO

O modo de inoculação de *A. brasilense* mais utilizado atualmente é via inoculação da semente. Na literatura, as respostas a este modo de inoculação variam de acordo com as características avaliadas, sendo

geralmente positivas (FUKAMI et al. 2016; KAZI et al., 2016; GALINDO et al., 2017) ou não apresentam diferença (REPKE et al., 2013; SANGOI et al., 2015). No presente trabalho, a inoculação via semente alterou apenas a área foliar específica, proporcionando folhas com menor espessura em relação ao controle.

Observou-se menor porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência para o cultivar IPR Aimoré, quando da inoculação no sulco de semeadura. Tal fato pode ser explicado pela alta concentração de inoculante aplicado, sendo que o mesmo promove síntese de fitohormônios que, em alta concentração, podem apresentar comportamento

inibitório desse mecanismo (HUNGRIA et al., 2013; RAMPIM et al., 2012).

A inoculação via foliar é uma alternativa viável para a inoculação de *Azospirillum*, pois o mesmo possui mobilidade através da planta. Além disso, o sucesso para a inoculação depende de condições ambientais e de práticas de manejo anteriores à inoculação, tais como o tratamento de sementes com fungicida e/ou inseticida (ZILLI et al., 2009). Dessa forma, a inoculação via foliar, elimina o risco de insucesso na inoculação decorrente destes efeitos. Fukami et al. (2016) observaram um aumento na colonização interna de folhas de milho e trigo pela bactéria *A. brasilense* via inoculação foliar, sugerindo que os estômatos atuam como uma entrada passiva destas bactérias. Outros autores observaram a presença de bactérias diazotróficas em vasos do xilema, quando aplicado na superfície do solo, indicando que esta pode ser uma via de migração da bactéria para outras partes da planta (BALDANI et al., 1992; SOUZA et al., 2004).

A inoculação via foliar reduziu a altura das plantas de tritcale do cultivar IPR Aimoré. Resultado semelhante foi encontrado por Ludwig (2015) para o comprimento de parte aérea e comprimento total de plântulas de trigo

A inoculação de *A. brasilense*, de forma geral, não resultou em alterações no crescimento inicial do tritcale independente da forma de inoculação do mesmo. Resultados com a inoculação de *A. brasilense* na cultura do tritcale ainda são escassos. Porém, alguns resultados encontrados na literatura com outras gramíneas destacam que para a obtenção de resultados positivos é necessário a associação de *Azospirillum* com elevada adubação nitrogenada, de modo que a bactéria isolada ou associada à baixas doses de nitrogênio não irão responder de forma positiva (DIDONET et al., 1996). Morais et al., (2015) observaram aumento na resposta fisiológica de plantas de milho inoculados com 200 ml ha⁻¹ de *A. brasilense*, associado a 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio, enquanto Mumbach et al., (2017) observaram que a redução pela metade das doses de N em cobertura associada a inoculação de *A. brasilense*, não afeta o crescimento de trigo e milho em relação a adubação total de N sem inoculação, reduzindo assim a quantidade de N a ser aplicada. Alguns trabalhos destacam que o *Azospirillum* produz alguns fitohormônios, como o ácido 3-indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988), citoquininas (CACCIARI et al., 1989) e giberelinas (BOTTINI et al., 1989), que contribuem para o crescimento das plantas, entretanto, somente a inoculação de *Azospirillum* não é suficiente para que ocorram respostas positivas na planta

inoculada, sendo necessária complementação com adubação nitrogenada (SANGOI, 2015).

De forma geral, verificou-se que os cultivares apresentaram resultados variáveis em relação a inoculação de *A. brasilense*. Kazi et al, (2016) não encontraram resultados esclarecedores sobre a resposta da inoculação de três estirpes de *A. brasilense* associadas à cinco diferentes genótipos de trigo, indicando que fatores genéticos dos cultivares podem afetar a forma com o *A. brasilense* se associa e altera o metabolismo e a absorção de água e nutrientes das plantas. De acordo com Hungria (2011), um fator chave para o sucesso da inoculação com *A. brasilense* é a seleção de estirpes, mesmo que ainda não tenha sido claramente explicado a especificidade entre as plantas e as bactérias. Existem na literatura resultados que indicam a existência de alguma forma de afinidade das bactérias com determinadas espécies e até mesmo cultivares (REIS JUNIOR et al., 2008; DOTTO et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2013).

CONCLUSÕES

A aplicação da dose de 300.000 células de *A. brasilense* por semente via sulco prejudica a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência do cultivar IPR Aimoré.

De forma geral, a inoculação de *A. brasilense*, independentemente do modo empregado, não influencia o crescimento inicial do tritcale.

A resposta do tritcale à aplicação de *A. brasilense* é variável, sendo dependente basicamente do genótipo.

REFERÊNCIAS

- BAIER, A. C.; NEDEL, J. L. Potencial do tritcale no Brasil. *Revista Agropecuária Brasileira*, v.20, n.1, p. 57-67, 1985.
- BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I., OLIVARES, F. L., DÖBEREINER J. Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related *Pseudomonas rubrisalbicans*. *Symbiosis*, v. 13, p. 65-73, 1992.
- BENINCASA, M. M. P. *Análise de crescimento de plantas (noções básicas)*. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R.P. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiology*, v.90, p.45-47, 1989.

- BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G.E.G.; SUZUKAWA, A.K.; LIMA, L.H.S.; PICCININ, G.G. Co-inoculação e modos de inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.15, n.1, p. 27-35, 2016.
- CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. *Plant and Soil*, v.115, p.151-153, 1989.
- CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indóis in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.54, p.2833-2837, 1988.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.16, n.9, p.645-651, 1996.
- DOTTO, A. P.; LANA, M. C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.5, n.3, p.376-382, 2010.
- FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB express*, v. 6, n. 3, p. 1-13, 2016.
- GALINDO, F. S., TEIXEIRA FILHO, M. C. M., BUZZETTI, S., SANTINI, J. M. K., LUDKIEWICZ, M. G. Z., BAGGIO, G. Modes of application of cobalt, molybdenum and *Azospirillum brasilense* on soybean yield and profitability. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.21, n.3, p.180-185, 2017.
- GUIMARÃES, S. L.; MOREIRA, J. C. F.; SILVA, E. M. B.; POLIZEL, A. C.; SABINO, D. C. C. Características produtivas de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* ssp. Cultivados em latossolo de cerrado. *Enciclopédia Biosfera*, v.9, n.16; p. 558- 567, 2013.
- HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M. A., ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with Rhizobia and *Azospirilla*: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility Soils*, v. 49, p. 791-801, 2013.
- HUNGRIA, M. *Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo*. Londrina: EMBRAPA SOJA, 2011. 37p. (EMBRAPA SOJA. Documentos, 325).
- KAZI, N.; DEAKER, R.; WILSON, N.; MUHAMMAD, K.; TRETOWAN, R. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. *Field Crops Research*, v. 196, p. 368-378, 2016.
- LABOURIAU, L.G. *A germinação das sementes*. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.
- LESTINGI, A.; BOVERA, F.; DE GIORGIO, D.; VENTRELA, D.; TATEO, A. Effects of tillage and nitrogen fertilisation on triticale grain yield, chemical composition and nutritive value. *Science of Food and Agriculture*, v. 90, n. 14, p. 2440 -2446, 2010.
- LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B.R. Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 86, n.1 p.1-25, 2004.
- LUDWIG, R. L. *Inoculação com Azospirillum brasilense e adubação nitrogenada em cultivares de trigo*. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de Santa Maria, 2015.
- MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- McGOVERIN, G.M.; SNYDERS, F.; MULLER, N.; BOTES, W.; FOX, G.; MANLEY, M. A review of triticale uses and the effect of growth environment on grain quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 91, n.7, p. 1155-1165, 2011.

MORAIS, T.P.; BRITO, C.S.; FERREIRA, A.S.; LUZ, J.M.Q. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 62, n.6, p. 589-596, 2015.

MUMBACH, G.L.; KOTOWSKI, I.E.; SCHNEIDER, F.J.A.; MALLMANN, M.S.; BONFADA, E.B.; PORTELA, V.O.; BONFADA, E.B.; KAISER, D.S. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. *Revista Scientia Agraria*, v.18, n.2, p.97-103, 2017.

NAIMAN, A.D.; LATRÓNICO, A.; SALAMONA, I.E.G. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology*, v.53, n.1, p. 44-41, 2009.

OLIETE, B.; PÉREZ, G.T.; GÓMEZ, M.; RIBOTTA, P.D.; MOIRAGHI, M.; LEÓN, A.E. Use of wheat, triticale and rye flours in layer cake production. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 45, p.697-706, 2010.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J.A. *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas, Instituto Agrônomo, 2001. 284p.

RAMPIM, L.; RODRIGUES-COSTA, A.C.P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V.F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 34, n. 4, p. 679- 685, 2012.

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

RODRIGUES, L.F.O.S.; GUIMARÃES, V.F.; SILVA, M.B.; PINTO JUNIOR, A.S.; KLEIN, F.; COSTA, A.C.P.R. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.18, n.1, p.21-37, 2014.

SANGOI, L., SILVA, L. M. M., MOTA, M. R., PANISON, F., SCHMITT, A., SOUZA, N. M., GIORDANI, W., SCHENATTO, D. E. Desempenho Agrônomo do Milho em Razão do Tratamento de Sementes com *Azospirillum* sp. e da Inoculação de Doses de Nitrogênio Mineral. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 39, p. 1141-1150, 2015

SOUZA, A. O., PAMPHILE, J. A., ROCHA, C. L. M. S. C., AZEVEDO, J. L. Plant-microbe interactions between maize (*Zea mays* L.) and endophytic microorganisms observed by scanning electron microscopy. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 26, p. 357-9, 2004.

STETS, M.I.; ALQUERES S.M.C.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.D.O.; SCHMID, M.; HARTMANN, A.; CRUZ, L. M. Quantification of *Azospirillum brasilense* FP2 bacteria in wheat roots by strain-specific quantitative PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, v.81, n. 19, p. 6700 – 6709, 2015.

ZAVATTARO, L.; GRIGNANI, C.; ACUTIS, M.; ROCHETTE, P. Mitigation of environmental impacts of nitrogen use in agriculture. *Agricultura, Ecosystems and Environment*, v. 147, p. 1-3, 2012.

ZILLI, J. E., RIBEIRO, K. G., CAMPO, R. J., HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* v. 33, p. 917-923, 2009.