

RELATÓRIO CIENTÍFICO FINAL

REF.: Edital PROPe 13/2022 - PROGRAMA UNESP DE PÓS-DOUTORADO

Título do Projeto:	Adubação nitrogenada (¹⁵ N) associada à inoculação com bactérias promotoras de crescimento no desempenho agrônômico e nutrição do trigo e feijoeiro-comum em Latossolo Vermelho de Cerrado
Área, Subárea, linha de pesquisa	Ciências Agrárias - Agronomia - Ciência do Solo – Fertilidade do Solo e Adubação – Nutrição de Plantas
Supervisor e Instituição Executora (Sede):	Professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho Doutor em Agronomia, Sistemas de Produção – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Ilha Solteira (UNESP), Ilha Solteira, SP (2011) Professor - UNESP, Ilha Solteira, Pesquisador Nível 2 (CNPq) Endereço Lattes: http://lattes.cnpq.br/5912363889457800 E-mail: mcm.teixeira-filho@unesp.br - Tel. (18) 3743-1142; 3743-1940 End. Departamento de Fitossanidade Engenharia Rural e Solos (DEFERS). Zona Norte, Ilha Solteira, SP - Brasil - Caixa-postal: 31
Pós-doutorando:	Dr. Edson Cabral da Silva Doutor em Ciência/ Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo/ Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba, SP. E-mail: edsoncabral SILVA@gmail.com - Tel. (64) 99287-2107 Endereço Currículo Lattes: http://lattes.cnpq.br/0721550983809702
Instituições Parceiras e Colaboradores:	i. Prof. Dr. Takashi Muraoka - Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) - E-mail: muraoka@cena.usp.br Endereço Lattes: http://lattes.cnpq.br/3286952546753652 ii. Dr. Eulogio de la Cruz Torres- Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) Carretera México - Toluca s/n, La Marquesa Ocoyoacac, México- E-mail: eulogio.delacruz@inin.gob.mx iii. Dr. Freddy Sinencio Contreras Espinal - Inxestigador Titular/ Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales – IDIAF) E-mail: fcontreras@idiaf.org.do - Tel. (809) 567-8999; (829) 288 6771

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	2
1.1 ABSTRACT.....	3
1.2. Síntese das Atividades Desenvolvidas no Período	5
2. INTRODUÇÃO	10
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1. Localização e Caracterização do Experimento	23
4.2. Delineamento Experimental e Implantação dos Tratamentos.....	26
4.3. Avaliações da Cultura do Trigo	28
4.4. Cultivo do Feijão-comum em Sucessão ao Trigo	33
4.5. Preparo de Amostras e Análises Isotópicas	36
4.6. Eficiência de Uso do Nitrogênio	37
4.7. Contribuição Equivalente do N Proveniente da FBN ou Inoculação com BPCPs	38
4.8. Análises Estatísticas	38
5. RESULTADOS DISCUSSÃO	39
5.1. Avaliações Biométricas, Nutricionais e Produtivas de Trigo Irrigado Sob Inoculação de Bactérias Promotoras de Crescimento e Doses de Nitrogênio.....	39
5.2. Extração e Exportação de Macronutrientes e Micronutrientes em Cultivo de Trigo sob Inoculação com Bactérias Promotoras de Crescimento e Doses de Nitrogênio.....	52
5.3. Eficiência de Utilização do Nitrogênio do Fertilizante (¹⁵ N) e do Solo pelo Trigo sob Inoculação com Bactéria Promotoras de Crescimento e Adubação Nitrogenada	61
5.4. Considerações Finais.....	76
6. CONCLUSÕES	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

RELATÓRIO CIENTÍFICO FINAL

Adubação nitrogenada (^{15}N) associada à inoculação com bactérias promotoras de crescimento no desempenho agrônômico e nutrição do trigo e feijoeiro-comum em Latossolo Vermelho de Cerrado

1. RESUMO DO PROJETO:

O nitrogênio (N) é o nutriente exigido em maior quantidade e consiste em um dos custos mais elevados dos sistemas produtivos de culturas não leguminosas como o trigo (*Triticum aestivum* L.) e, também, em feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Desenvolver técnicas de manejo que minimizem a necessidade de aplicação de N mineral e propiciem melhor eficiência de uso desse nutriente (EUN) nos sistemas de produção é essencial para uma agricultura cada vez mais sustentável, produtiva e menos poluente, visando a segurança alimentar e agricultura de baixo carbono. Pesquisas vêm demonstrando o potencial de utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) em melhorar o desenvolvimento das plantas, por atuarem em diversos mecanismos relacionados à promoção de crescimento, sobretudo na disponibilidade, absorção e eficiência de uso de nutrientes em sistemas produtivos. Todavia, o conhecimento sobre respostas no desenvolvimento, componentes de produção e produtividade de gramíneas e leguminosas, cultivadas em sucessão, associadas ao uso de mais de uma BPCPs combinadas à adubação nitrogenada são insuficientes e merecem ser estudadas em condições específicas de ambiente, como em regiões de Cerrado. O uso de técnicas isotópicas que empregam o uso de fonte enriquecido com ^{15}N , ou seja, diluição isotópica de ^{15}N , consiste em uma forma mais precisa para mensurar a recuperação ou EUN do N do fertilizante, N (“nativo”) do solo conjuntamente com o N de outras fontes (fixação biológica de nitrogênio, precipitação fluvial, etc). Neste aspecto, partiu-se do pressuposto de que a inoculação combinada de duas BPCPs, via sementes, associadas a doses de N, promove efeitos aditivos de benefícios individuais, que otimizam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a eficiência de uso dos nutrientes, que refletem positivamente na nutrição, no desempenho vegetativo e produtivo da planta e reduz a necessidade de uso de fertilizantes na sucessão trigo-feijão irrigado. Também, que o uso de ^{15}N -ureia permite mensurar com precisão a EUN do N pela planta e estimar o N derivado de outras fontes (N “nativo” do solo, da FBN, pluvial precipitation, etc), além de o efeito residual do fertilizante no cultivo subsequente de feijoeiro. Os objetivos foram avaliar os efeitos da inoculação via sementes com *Azospirillum brasilense* aplicada isoladamente e associada à *Bacillus subtilis* ou *Pseudomonas fluorescens* no trigo; e de *Rhizobium tropici* isolada e associada à *A. brasilense* ou *P. fluorescens* no feijoeiro-comum, cultivado em sucessão ao trigo irrigado, combinadas a doses de N (^{15}N -ureia), no desenvolvimento, na produtividade de grãos, na nutrição e acúmulo de nutrientes e na EUN pelas culturas, com uso da técnica isotópica de ^{15}N . Avaliar o aproveitamento do N residual da adubação nitrogenada aplicada ao trigo pelo cultivo subsequente de feijoeiro. Os experimentos foram conduzidos em área experimental da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP, Sorocaba-MS em um Latossolo Vermelho distroférico fase Cerrado, sob sistema plantio direto. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 4x5, com quatro repetições. Os tratamentos para o trigo foram três inoculações + testemunha sem inoculação: 1) *Azospirillum brasilense*; 2) *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*; 3) *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* e 4) Testemunha, combinadas com cinco doses de N: 0, 30, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹; enquanto

para o feijoeiro no cultivo subsequente foram as inoculações: 1) *Rhizobium tropici*; 2) *R. tropici*+*A. brasilense* 3) *R. tropici*+*P. fluorescens* e 4) Testemunha, combinadas às doses: 0, 20, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ de N, na forma de ureia (¹⁵N) aplicada em cobertura. As análises físicas e químicas de solo e planta foram realizadas nos laboratoriais UNESP, enquanto as determinações isotópicas de ¹⁵N, foram realizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), em Piracicaba, SP, visto que foi utilizada neste estudo a técnica da diluição isotópica de ¹⁵N para quantificar a EUN, com emprego de ureia marcada (enriquecida) em ¹⁵N. Foram realizadas avaliações dos atributos físicos e químicos do solo; análises biométricas de crescimento das culturas; perfilhamento (trigo); estado nutricional no florescimento; componentes de produção; produtividade de grãos; extração (planta inteira), exportação (grãos) e retorno de macronutrientes e micronutrientes ao solo pela palha (restos culturais). Os dados das variáveis de resposta foram submetidos à análise de variância através da aplicação do teste F a 1 e 5% de probabilidade. Constatada diferença significativa, foi procedida a comparação de médias para o efeito dos distintos tratamentos qualitativos (inoculações com BPCPs), utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Em função da significância das variáveis quantitativas (doses de N), foram ajustadas equações de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SAS 9.2. A máxima produtividade de grãos de trigo foi estimada com a dose de 113 kg N ha⁻¹ de N-fertilizante (ureia), estimada em 6.007 kg ha⁻¹ de grãos, cuja produtividade média de grãos obtida foi de 5.472 kg ha⁻¹ de grãos. Independentemente da dose de nitrogênio aplicada e da inoculação ou coinoculação com as bactérias promotoras de crescimento, a extração de macronutrientes e micronutrientes pela planta de trigo (palha + grãos) seguiu a ordem decrescente: N > K > Ca > P > Mg > S > Fe > Mn > Zn > Cu > B. As inoculações isoladas de *Azospirillum brasilense* e associada de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, via sementes, proporcionaram maiores produtividades de grãos de trigo irrigado comparadas à ausência de inoculação ou inoculação associada de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*. A recuperação ou eficiência de uso nitrogênio do fertilizante pelo trigo foi, em média, de 45,34% da dose aplicada, compreendendo 9,81% pela palha, e 35,53% pelos grãos, cujos grãos foi o principal dreno do N absorvido, independente da fonte desse nutriente (fertilizante ou solo e outras fontes).

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.; *Phaseolus vulgaris* L.; Coinoculação; Rizobactérias; Fixação simbiótica de nitrogênio; Cultivo irrigado; Técnica da diluição isotópica de ¹⁵N.

Nitrogen fertilizer (¹⁵N) associated with plant growth-promoting bacteria inoculation on agronomic performance and nutrition of wheat and common bean in Cerrado Oxisol

ABSTRACT: Nitrogen (N) is the nutrient required in greater quantity and is one of the highest share costs of production systems for non-legume crops such as wheat (*Triticum aestivum* L.) and also common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Developing management techniques that minimize the need for mineral N application and provide better use efficiency (NUE) of this nutrient in production systems is essential for an increasingly sustainable, productive and less polluting agriculture, aiming at food security and low-carbon agriculture. Management practices that reduce the need for fertilizers are critical to the world's food security and environmental sustainability. Research has demonstrated the potential of using plant growth-promoting bacteria (PGPBs) to improve plant development, as they act in several mechanisms related to growth promotion, especially in the availability, absorption and nutrients use efficiency in productive systems. However, studies on development response, production components and productivity of grasses

and legumes, cultivated in succession, associated with the use of more than one PGPBs combined with N fertilization are insufficient, and deserves to be studied under specific environmental conditions, such as in Cerrado (Savannah) regions. The use of isotopic techniques that employ the use of a source labelled with ^{15}N , i.e., isotopic dilution of ^{15}N , is a more accurate way to measure the recovery of N derived from fertilizer, N ("native") derived from soil and N from other sources (biological nitrogen fixation, pluvial precipitation, etc). In this aspect, it assumes that the combined inoculation of two PGPBs, via seeds, associated with N rates, promotes additive effects of individual benefits, which optimize biological nitrogen fixation (BNF) and nutrient use efficiency, which it reflects positively on nutrition, on the vegetative and productive performance of the plant and reduces the need to use fertilizers in the irrigated wheat-bean succession. Also, that the use of ^{15}N -urea allows to accurately measure the use of N by the plant and to estimate the N derived from other sources ("native" N derived from soil, BNF, pluvial precipitation, etc), in addition to the residual effect of the fertilizer in the subsequent cultivation of common bean. The objectives were to evaluate the effects of inoculation, by seeds, with *Azospirillum brasilense* applied alone and associated with *Bacillus subtilis* or *Pseudomonas fluorescens* in irrigated wheat; and *Rhizobium tropici* isolated and associated with *A. brasilense* or *P. fluorescens* in common bean, cultivated in succession to irrigated wheat, combined with doses of N-fertilizer (^{15}N -urea) in both crops, in development, in grain yield, on nutrition and nutrient accumulation and on nitrogen use efficiency (NUE) by crops, using the ^{15}N isotopic technique. To evaluate the use of residual N derived from N fertilizer of wheat by the subsequent cultivation of common bean. The experiments were carried out in experimental areas of the Faculty of Engineering, Sao Paulo State University - UNESP, Selvíria-MS, in Cerrado Oxisol (Rhodic Haplustox), under no-tillage system. The experimental design used was in randomized blocks, in a 4x5 factorial scheme, with four replicates. The treatments, for both crops were the combination of three inoculation plus the control (without inoculation) with five N rates, for wheat: i) *A. brasilense*; ii) *A. brasilense* + *P. fluorescens*; iii) *A. brasilense* + *B. subtilis*, and iv) Control and 0, 30, 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹; and for common bean in the subsequent grow were: i) *R. tropici*; ii) *R. tropici* + *A. brasilense*; iii) *R. tropici* + *P. fluorescens* and iv) Control and 0, 20, 40, 80 and 120 kg N ha⁻¹, as urea (^{15}N) applied in topdressing. The physical and chemical analyzes of soil and plant were carried out at the laboratories of the UNESP, while the isotopic determinations of ^{15}N were carried out at the Center of Nuclear Energy in Agriculture (CENA/USP), in Piracicaba-SP (Partner institution of this research), since the ^{15}N isotopic dilution technique was used to quantify the NUE. Evaluations of the physical and chemical attributes of the soil were carried out; biometric analysis of crop growth; tillering (wheat); nutritional status at flowering; production components; grain yield; extraction (above ground part plant – grain and straw), export by grain and return of macronutrients and micronutrients to the soil by staw (crop residues). The data of the response variables were submitted to analysis of variance through the application of the F test at 1 and 5% probability. Once a significant difference was found, means were compared for the effect of the different qualitative treatments (inoculations with BPCPs), using Tukey's test at 5% probability. Regression equations were adjusted due to the significance of the quantitative variables (N rate). Statistical analyses were performed using SAS 9.2 software. The maximum grain yield of irrigated wheat was estimated with N rate of 113 kg N ha⁻¹ of N (urea), estimated at 6.007 kg ha⁻¹ of grains, whose average grain yield was 5.472 kg ha⁻¹. Regardless of the nitrogen dose applied and the inoculation or co-inoculation with the growth-promoting bacteria, the extraction of macronutrients and micronutrients by the wheat plant (straw + grains) followed the descending order: N > K > Ca > P > Mg > S > Fe > Mn > Zn > Cu > B. The isolated inoculations of *Azospirillum brasilense* and

associated inoculations of *A. brasilense* + *Pseudomonas fluorescens*, by seeds, provided higher grain yields of irrigated wheat compared to the absence of inoculation or associated inoculation of *A. brasilense*+ *Bacillus subtilis*. The recovery or nitrogen use efficiency of fertilizer by wheat was, on average, 45.34% of the applied dose, comprising 9.81% by straw, and 35.53% by grains, whose grains were the main drain of absorbed N, regardless of the N source (fertilizer or soil and others sources).

Key words: *Triticum aestivum* L.; *Phaseolus vulgaris* L.; Co-inoculation; Rhizobacteria; Symbiotic nitrogen fixation; Irrigated cultivation; ^{15}N isotopic dilution technique.

1.1. Síntese das Atividades Desenvolvidas no Período:

Durante o período de Pós-doutoramento, além de o cumprimento de todas as etapas/atividades experimentais de campo previstas no projeto, que compreenderam: coleta de amostras de solo, manejo dos restos culturais e plantas daninhas da área experimental, auxílio na aquisição de insumos e sementes, semeadura, tratos culturais, avaliações biométricas de crescimento, coleta de material para análises, colheita e avaliações de componentes de produção e a produtividade de grãos, determinação da umidade do grãos e correção (13% base úmida) e de palha (restos culturais), trilhagem e pesagem de grãos, secagem fragmentação e passagem da palhada). Também, auxiliou no preparo de amostras e realização das análises laboratoriais de solo e planta (folha, palha e grãos). Ao mesmo tempo, auxiliou na coleta de amostras e seu preparo para as determinações isotópicas de ^{15}N , uma vez que para a realização desta pesquisa foi empregada a metodologia da diluição isotópica de ^{15}N , cujas análises foram realizadas no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, em Piracicaba, SP, instituição parceira nesta pesquisa.

Além de as atividades experimentais descritas, auxiliou a equipe (alunos de iniciação científica, mestrado e doutorado) e na condução de outros trabalhos de pesquisa, assim como na elaboração de projetos pesquisas para sua submissão a Agências de fomento, para a solicitação de bolsa de estudos e recursos financeiros para pesquisas nesta Instituição. Também, auxiliou como coorientador na orientação da discente de Mestrado: **Leilane Bernardes Freitas** e da discente de doutorado: **Karina da Silva Souza**, das quais o Prof. Dr. Marcelo C. M. Teixeira Filho é o Orientador junto ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Sistemas de Produção.

Também, procedeu uma Revisão de Literatura sobre o tema, coletou os dados, procedeu sua tabulação, realizou as análises estatísticas (Análise de Variância – ANAVA, Análise de Regressão e Teste de Comparação de Médias), procedeu a elaboração de gráficos (Figuras) e Tabelas e a discussão dos resultados, confrontando-os com dados da literatura nacional e internacional, visando a confecção desse Relatório Científico Final e a elaboração de artigos para

publicação em Eventos Nacionais e Internacionais. Esclarece, ainda, que com os dados obtidos nesta pesquisa estão sendo preparados dois artigos científicos, com sua tradução para o inglês fluente, para a submissão a periódicos indexados de alto fator de impacto.

Aproveitamos a oportunidade para manifestar meus sinceros agradecimentos à UNESP – Campus de Ilha Solteira, pela concessão de bolsa e auxílio financeiro para a pesquisa, assim como de infraestrutura (área, maquinários, laboratórios e mão-de-obra) para a condução desta pesquisa. Agradecer também ao Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pela supervisão da pesquisa e ensinamentos, sempre com muita dedicação, humildade e alegria. Também, reiterar nossos agradecimentos ao Prof. Dr. Takashi Muraoka do CENA/USP, Piracicaba, e ao Dr. Eulogio de la Cruz Torres, do Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) Carretera México, que nos concederam o ^{15}N utilizada na pesquisa, que consiste em uma parte onerosa em estudos dessa natureza. Também, pela oportunidade de integração desta pesquisa ao projeto da Agencia Internacional de Energia Atômica - IAEA/RLA 5078, intitulado: “*Mejoramiento de prácticas de fertilización en cultivos de importancia regional mediante el uso de genotipos eficientes en la utilización de macronutrientes y bacterias promotoras del crecimiento de plantas*”, os quais, ainda, se dispuseram a contribuir conosco em pesquisas futuras, aplicando-se a técnica isotópica de ^{15}N . Também, agradecer ao Dr. Freddy Sinencio Contreras Espinal, Investigador Titular do Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDIAF), que está contribuindo com a tradução para inglês fluente e elaboração dos artigos científicos.

A seguir, seguem a descrição de algumas atividades e publicações científicas realizadas conjuntamente com a equipe no período, conforme itens abaixo: **Observação:** Os respectivos comprovantes destes itens abaixo foram enviados à PROPe, pelo Supervisor, via GOOGLE FORMS, conforme solicitado.

1. Participou como membro Titular da defesa de Tese de Doutorado, de CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA, apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Agronomia, em 17/02/2023. Intitulada: INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO NA NUTRIÇÃO, PRODUÇÃO E QUALIDADE DA ALFACE AMERICANA. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Examinadores: Dr. **Edson Cabral da Silva**; Prof. Dr. Salatier Buzetti; Prof. Dr. Enes Furlani Junior; Dr. Tiago Zoz.

2. Participou como membro Titular da defesa de Tese de Doutorado, de **Natasha Mirella Inhã Godoi**, apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Agronomia, em 11/12/2023. Intitulada: RESIDUAL DE DOSES E ADUBAÇÃO COM NITROGÊNIO, FÓSFORO E POTÁSSIO NO EUCALIPTO CULTIVADO EM SISTEMA TALHADIA NO CERRADO. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Examinadores: Dr. **Edson Cabral da Silva**; Dra. Barbara Pereira Christofaro Silva, Dra. Angélica Cristina Fernandes Deus, Dra. Elisângela Dupas.

3. Participou da Comissão Examinadora do Exame Geral de Qualificação de Doutorado, apresentado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção. de AMARIO NUNO MEIRELES DUARTE, realizado em 30/08/2023., intitulado: PRODUTIVIDADE, CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E ÍNDICE DE CLOROFILA FOLIAR DE *Urochloa* spp. cv. Mulato II INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E ADUBADO COM NITROGÊNIO. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Dr. Rodolfo de Niro Gazola; Dr. **Edson Cabral da Silva**.

4. Participou como Membro Titular da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), em Agronomia, em 12/01/2023, na UNESP, Faculdade de Engenharia, Câmpus de Ilha Solteira, SP, do Discente: **Selton Vinícius Domingos Ferreira**. Intitulada: REDUÇÃO DA ADUBAÇÃO FOSFATADA EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM SOJA. Orientador: Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Banca Examinadora: Dr. **Edson Cabral da Silva**, Dr. Guilherme Carlos Fernandes.

5. Participou como membro Titular da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Agronomia, apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, do discente: KALED OMAR, ocorrida em 07/07/2023 (8:00 horas), Intitulado: COINOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* E *Bradyrhizobium* sp. AUMENTA ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO E PRODUTIVIDADE DE FEIJÃO-CAUPI, SEM ALTERAÇÃO NA RECUPERAÇÃO DE FERTILIZANTES NITROGENADOS. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Examinadores: Dr. **Edson Cabral da Silva**, Dr. Rodolfo de Niro Gazola.

6. Participou como membro Titular da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), apresentado ao Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, da discente: MARCELA LAMPARELLI, ocorrida em 07/07/2023 (10:00 horas), intitulado: CULTIVO HIDROPÔNICO DA CULTURA DE ALFACE *LACTUCA SATIVA* L. COM A TÉCNICA DO FLUXO LAMINAR DE NUTRIENTES. Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho; Examinadores: Dr. **Edson Cabral da Silva**, Dr. Guilherme Carlos Fernandes.

7. Atuou na qualidade de AVALIADOR dos Trabalhos Científicos (Pôsteres) apresentados no **XXXV Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, realizada em Ilha Solteira – SP, nos dias 26 e 27 de setembro de 2023.

8. **EDSON CABRAL DA SILVA, CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA, ARSHAD JALAL, BRUNO HORSCHUT DE LIMA, EULOGIO DE LA CRUZ TORRES, TAKASHI MURAOKA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO. Residual effect of nitrogen fertilizer (¹⁵N) on irrigated wheat in cerrado region under no-tillage.** IN: XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

9. **EDSON CABRAL DA SILVA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO, VINÍCIUS RODRIGUES BALBINO, TAKASHI MURAOKA, ARSHAD JALAL, FERNANDO SHINTATE GALINDO, MARCONI BATISTA TEIXEIRA. Nitrogen fertilizer (¹⁵N) on agronomic performance and nutrition of corn in Brazilian Cerrado Oxisol.** IN: XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

10. **FERNANDO SHINTATE GALINDO, GUILHERME CARLOS FERNANDES, BRUNO HORSCHUT DE LIMA, ELAINE GARCIA OLIVEIRA CÉU, EDSON CABRAL DA SILVA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO, JOSÉ LAVRES JUNIOR. Fracionamento isotópico e eficiência de recuperação do ¹⁵N aplicado via fertilizante no milho associado a bactérias promotoras de crescimento de plantas.** IN: XXIII Congresso Latino-

americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

11. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO, EDSON CABRAL DA SILVA, CARLOS EDUARDO DA SILVA OLIVEIRA, ARSHAD JALAL, FERNANDO SHINTATE GALINDO, BRUNO HORSCHUT DE LIMA, TAKASHI MURAOKA. Efficiency of nitrogen fertilizer on agronomic performance of irrigated wheat in Cerrado Oxisol. IN: XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

12. GUILHERME CARLOS FERNANDES, EDSON CABRAL DA SILVA, MARIANA CRISTINA BARBOSA, WILLIAM CESAR NISHIMOTO ITO, MATHEUS PARLATO ZEQUIN, FERNANDO SHINTATE GALINDO, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO. Nutrição, produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar inoculada e residual de doses de fosforo. IN: XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

13. GUILHERME CARLOS FERNANDES, MARIANA CRISTINA BARBOSA, WILLIAM CESAR NISHIMOTO ITO, MATHEUS PARLATO ZEQUIN, EDSON CABRAL DA SILVA, POLIANA APARECIDA LEONEL ROSA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO. Exportação de macronutrientes da cana-de-açúcar coinoculada e residual de doses de fosforo. IN: XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2023, SBCS. Florianópolis, SC.

14. Participou do XXIII Congresso Latino-americano de Ciência do Solo (CLACS) e XXXVIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo (CBCS), realizado no período de 30 de julho a 04 de agosto de 2023 no Costão do Santinho Resort em Florianópolis, SC (SOLOS FLORIPA 2023).

15. THACYELLE FERREIRA DE JESUS, EDSON CABRAL DA SILVA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO, ALEFE VIANA SOUZA BASTOS, MARCONI BATISTA TEIXEIRA, FREDERICO ANTONIO LOUREIRO SOARES Agronomic performance of corn fertilized with different doses and sources of urea. IN: VIII Inovagri International Meeting e XXXII Congresso Brasileiro de Irrigação e Drenagem (CONIRD), 2023. Fortaleza CE.

16. LUCILA DE SOUSA VILELA, GUILHERME CARLOS FERNANDES, EDSON CABRAL DA SILVA, MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO, JOSÉ LAVRES JUNIOR E FERNANDO SHINTATE GALINDO. Produtividade de grãos de milho em função da inoculação das sementes com *Bacillus subtilis* associado a doses de nitrogênio". IN: "4th IMAST - International Meeting of Agrarian Science and Technology", 2023, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Unesp - Câmpus de Dracena.

17. SILVA, E. C. da; AMBROSANO, E. J. ; SCIVITTARO, W. B. ; MURAOKA, T. ; BUZETTI, S. ; CARVALHO, A. M. Adubação verde como fonte de nutrientes às culturas. In: LIMA FILHO, O. F. de; AMBROSANO, E. J.; ROSSI; F. DONIZETI CARLOS, J. PA. (Org.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: Fundamentos e prática.** 2. ed. rev. e atual. Brasília, DF: EMBRAPA, 2023, v. 1, cap. 7, p. 282-323. Disponível: <https://bit.ly/3HVDNPq>

18. Participou do VIII Inovagri International Meeting e XXXII Congresso Brasileiro de Irrigação e Drenagem (CONIRD), no período de 13 a 15 de setembro de 2023 em Fortaleza CE.

19. Participou do XXXV Congresso de Iniciação Científica da UNESP, realizada em Ilha Solteira – SP, nos dias 26 e 27 de setembro de 2023.

Artigos Publicados em Periódicos Indexados pela Equipe:

20. JALAL, ARSHAD; OLIVEIRA, C. E. S.; SILVA, Edson Cabral da; FERNANDES, G. C.; COST, K. N.; SOUZA, J. S.; LEITE, G. S.; BIAGINI, A. L. C.; GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO,

M. C. M. (2023) . Integrated use of plant growth-promoting bacteria and nano-zinc foliar spray is a sustainable approach for wheat biofortification, yield, and zinc use efficiency. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1-14.2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1146808>

21. FERNANDES, G. C.S; ROSA, P. A. L.; JALAL, ARSHAD; OLIVEIRA, C. E. da S.; GALINDO, F. S.; VIANA, R. da S.; CARVALHO, P. H. G.; **SILVA, E. C. da**; NOGUEIRA, T. A. R.; AL-ASKAR, ABDULAZIZ A.; HASHEM, AMR H.; ABDELGAWAD, HAMADA; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Technological Quality of Sugarcane Inoculated with Plant-Growth-Promoting Bacteria and Residual Effect of Phosphorus Rates. **Plants**, v. 12, p. 2699, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12142699>

22. JALAL, A.; OLIVEIRA. C.E. da S.; FERNANDES, H.B.; GALINDO, F.S.; **SILVA, E.C. da**; FERNANDES, G.C.; NOGUEIRA, T.A.R.; CARVALHO, P.H.G. de; BALBINO, V.R.; LIMA, B.H. de; TEIXEIRA FILHO, M.C.M. (2022) "Diazotrophic Bacteria Is an Alternative Strategy for Increasing Grain Biofortification, Yield and Zinc Use Efficiency of Maize" **Plants**, Fator de Impacto (*JCR 2021*): **4,658**. v.11, n.9: 1125. <https://doi.org/10.3390/plants11091125>.

OBSERVAÇÃO: Esclarecemos que os Resultados em Tabelas e Figuras deste Relatório já foram colocados em inglês, com o intuito de facilitar a elaboração dos artigos científicos para submissão em Periódicos e Eventos Internacionais.

Nestes termos, segue o Relatório Científico Final da pesquisa, aproveitando a oportunidade para reiterarmos nossos agradecimentos e manifestarmos nossos protestos de estima e consideração, colocando-nos à disposição para eventuais esclarecimentos.

Ilha Solteira, SP, 28 de janeiro de 2024.

Atenciosamente,



Dr. Edson Cabral da Silva

Pós doutorando



Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

DEFERS/UNESP Ilha Solteira

2. INTRODUÇÃO

O trigo é umas das principais culturas de interesse econômico e alimentar no mundo. As condições de solo, clima e topografia, favoráveis ao cultivo de trigo, tanto de sequeiro como irrigado, em épocas e altitudes definidas pela pesquisa, faz do Brasil Central uma região de enorme potencial para a expansão dessa cultura, com perspectiva de propiciar, a médio prazo, a autossuficiência na produção nacional. Outrossim, a inserção do trigo no Cerrado contribui para diversificar os sistemas produtivos regionais, agregando elementos para a sustentabilidade de produção.

O trigo, junto com o arroz e o milho, integra o grupo dos cereais mais produzidos no mundo. É uma das principais culturas usadas na alimentação humana e animal, ocupa aproximadamente 17% da área que é atualmente cultivada no mundo e representa cerca de 30% da produção mundial de grãos (USDA, 2020). Ao mesmo tempo, o trigo é uma cultura importante na composição de sistemas de produção agrícola sustentáveis em várias regiões do mundo. Destaca-se como excelente alternativa para a sucessão e rotação de culturas em sistemas agrícolas produtivos, especialmente por ser uma das principais espécies usadas na alimentação humana. Produzir trigo no Brasil, de forma competitiva e sustentável, tem sido um dos principais desafios da atividade agrícola, pois, tanto o rendimento de grãos quanto a qualidade tecnológica (qualidade de panificação – força do glúten) são influenciados pelas condições de ambiente, especialmente pelo clima. No Brasil, esse cereal é cultivado em uma ampla região, abrangendo zonas temperadas, subtropicais e tropicais. Atualmente, o cultivo de trigo se estende desde o Brasil Central (especialmente no bioma Cerrado, mas também com incursões no bioma Mata Atlântica) até o extremo sul do País (biomas Pampa e Mata Atlântica).

A maior parte do trigo produzido no mundo é colhida no Hemisfério Norte, em especial nos continentes europeu e asiático, que concentram, respectivamente, 31,8% e 44,7% da produção global deste cereal. Nas últimas safras (2012/2013 a 2016/2017), a produção mundial média de trigo foi de aproximadamente 717 milhões de toneladas. No entanto, para a safra 2016/2017, são estimadas em torno de 751,4 milhões de toneladas. Os maiores produtores de trigo (em milhões de toneladas - Mt) são os países que integram a União Europeia (144,07Mt), a China (128,9 Mt), a Índia (87,0 Mt), a Rússia (72,5 Mt) e os Estados Unidos da América (62,9 Mt), conforme levantamento do Foreign Agricultural Service/USDA em dezembro de 2016 (USDA, 2020). Nos últimos anos, portanto, devido à aparente estabilização na área de cultivo, o incremento observado

na produção pode ser atribuído ao aumento do rendimento médio de grãos, que passou de 2.670 kg ha⁻¹, em 2002/2003, para 3.390 kg ha⁻¹, na safra 2016/2017 (USDA, 2020).

O Brasil, nesse contexto, ocupa a 17^a posição entre os países produtores de trigo no mundo. Na safra 2016/2017, no território brasileiro, foram cultivadas aproximadamente 2,1 milhões de hectares, alcançando a produção de 6,7 Mt e rendimento médio de grãos de 3.175 kg ha⁻¹, frente ao consumo de 10,8 Mt (IBGE, 2017; CONAB, 2017). Quando se analisa os rendimentos médios do Brasil na safra 2016/2017, constata-se que o País atingiu 94% do rendimento médio que tem sido obtido no mundo, que, na referida safra, foi de 3,390 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). Não obstante, esse rendimento relativamente elevado e competitivo, frente aos outros países produtores, o Brasil integra, junto com o Egito, a Argélia, Japão, União Europeia e a Indonésia, o grupo dos maiores importadores mundiais de trigo, tendo, na safra 2016/2017, importado cerca de 6,1 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

O Rio Grande do Sul e o Paraná, dois estados da Região Sul, concentram a maior parte da produção brasileira de trigo, sendo responsáveis, na safra 2016/2017, por cerca de 90% da produção desse cereal no País, com rendimento médio de 3.177 kg ha⁻¹. Os maiores rendimentos médios, no entanto, têm sido obtidos na Região Centro-Oeste: 6.000 kg ha⁻¹, no Distrito Federal, e 5.182 kg ha⁻¹, em Goiás, na safra de 2016/2017. Destaca-se que os rendimentos médios elevados de trigo nesta Região são influenciados pelo cultivo predominantemente em sistema irrigado.

O aumento na produção de trigo no Brasil pode ocorrer tanto pela ampliação da área cultivada, especialmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, quanto pela elevação do rendimento das lavouras no sul do País. Segundo Mingoti et al. (2014), a área com potencial para produção de trigo no Brasil pode, a curto prazo, alcançar cerca de sete milhões de hectares. Frente aos 2,1 milhões de hectares cultivados na safra 2016/2017 (CONAB, 2017), pelo fato de possibilitar agregação de renda nos empreendimentos, esse aumento de produção de trigo no Brasil, contribuiria de forma positiva para a sustentabilidade econômica dos sistemas de produção de grãos no País. A identificação de novas áreas promissoras para o cultivo do trigo no Brasil vem merecendo especial atenção. A migração do trigo em direção aos polos e ao Equador pode ser atribuída à seleção natural e ao desenvolvimento, pelo homem, de novas cultivares adaptadas às condições ambientais específicas (CARGNIN et al., 2006). Assim, alguns caminhos que devem ser perseguidos pela pesquisa em melhoramento genético vegetal e no manejo de cultivos, visando a consolidação de uma triticultura tropical, efetivamente sustentável e competitiva, no Brasil. Para

tal, sobressaem-se, como fundamentais, a criação de cultivares de trigo de ciclo precoce, a busca da tolerância à brusone e a tolerância ao calor (CARGNIN et al., 2006; PEREIRA; CUNHA, 2019) e maior exploração da disponibilidade de água e nutrientes no solo.

A demanda por tecnologias alternativas na produção agrícola vem ganhando força nos últimos anos, tanto pelo potencial de redução de custo de produção como pelo menor impacto ao meio ambiente. O aumento na produção brasileira de trigo para suprir a demanda interna do cereal está associado ao aumento da área de cultivo em regiões ou épocas historicamente pouco exploradas, a exemplo dos Cerrados. Estudos desenvolvidos pela Embrapa (2021) apontam que esta região que produz o melhor trigo do País e um dos melhores do mundo em qualidade para a panificação e que o Cerrado tem potencial para aumentar em vinte vezes sua área de produção.

O uso de isótopos estáveis em estudos de fertilidade de solo e nutrição de plantas, na avaliação de alternativas de manejos agrícolas, é de grande utilidade na compreensão da dinâmica dos nutrientes nos agroecossistemas. O trigo é um dos principais cereais cultivados em todo mundo e a fertilização nitrogenada é fundamental no aumento da produção e da qualidade dos grãos (HUSSAIN et al., 1996), sendo a ureia a principal fonte deste nutriente para a cultura. Entretanto, a dose de N-ureia aplicada não é totalmente utilizada pela cultura e o uso da técnica isotópica de ^{15}N permite quantificar com precisão a eficiência da absorção desse nutriente, assim como o efeito residual em cultivos subsequentes (ARAÚJO et al., 2005). O uso de ^{15}N , como traçador isotópico, possibilita estimar a contribuição do nitrogênio proveniente do fertilizante e a fração proveniente de outras fontes (solo, atmosfera e fixação biológica de N), no conteúdo total do nitrogênio na planta (BODDEY, 1987; MOHAMMED et al., 1995; ALVES et al., 2006). Em trigo, embora diversos estudos já tenham sido relatados sobre os efeitos benéficos da inoculação de *Azospirillum brasilense*, são escassos na literatura trabalhos relacionados ao uso de coinoculação com outras bactérias conjuntamente e associados ao uso da técnica isotópica de ^{15}N .

A busca pela sustentabilidade na agricultura tem induzido a busca por novas tecnologias, como a inoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCPs), as quais podem propiciar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), maior absorção de nutrientes por promover o maior desenvolvimento de raízes, e consequentemente o aumento da produtividade (ALVES et al., 2017).

O feijão-comum é também uma das principais culturas produzidas e consumidas no Brasil, cuja leguminosa apresenta importância sob os aspectos econômicos e sociais, em especial, por ser

importante fonte de proteína, vitaminas, ferro e sais minerais na dieta básica da população, sobretudo àquela de baixa renda, aliada à geração de emprego e renda, além de ter relevância cultural na culinária de diversos países. O feijão é cultivado em todas as regiões brasileiras, abrangendo áreas consideradas marginais, em especial no que diz respeito à fertilidade natural do solo e à disponibilidade hídrica, a exemplo da região dos Cerrados. O cultivo de feijão tem grande potencial de expansão na região de Cerrado; no entanto, as produtividades estão muito abaixo do potencial produtivo, sobretudo em razão do manejo incorreto de água e nutrientes.

O feijoeiro é considerado exigente em nutrientes, devido ao sistema radicular pequeno e pouco profundo e ao seu ciclo curto (SORATTO et al., 2013). No cultivo, destaca-se a utilização de fertilizantes minerais, principalmente os nitrogenados, que são exigidos em maior quantidade e o N proveniente pode ser perdido por lixiviação, volatilização, na forma de nitratos, ou por desnitrificação (AMBROSANO et al., 1997; CANTARELLA et al., 2007; LACERDA et al., 2019). Os solos brasileiros, muito intemperizados, são em sua maioria ácidos e pouco férteis para a produção, sendo necessário o fornecimento adequado de nutrientes em sincronia com a demanda, para que a cultura atinja produtividades satisfatórias (PENN; CAMBERATO, 2019).

Em vista dessa problemática, faz-se necessário a busca por tecnologias que visem melhorias na qualidade dos solos, uso moderado de fertilizantes minerais e defensivos agrícolas, baixo custo econômico e maior sustentabilidade. Uma das alternativas promissoras e que vem ganhando destaque é o uso de BPCPs (ALTAF et al., 2017), que por uma série de mecanismos promovem benefícios às plantas, além da economia com agentes químicos, também contribuem na preservação dos recursos naturais. A inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas é uma estratégia adotada, em que como resultado pode haver o incremento da produção, melhoria na proteção de plantas contra alguns patógenos e pragas, além de a redução dos custos de produção (HUNGRIA, 2016; ANDRADE et al., 2023). A fixação biológica de nitrogênio realizada pelas BPCPs é uma alternativa para culturas como trigo e milho e leguminosas como o feijoeiro, mesmo que seja necessária aplicação de parte do N requerido pela planta para que a produtividade seja satisfatória (MARKS et al., 2015; SALVO et al., 2018).

As BPCPs apresentam múltiplos mecanismos de atuação no crescimento de plantas, como a produção e secreção de fitormônios como o ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno; de reguladores de crescimento de plantas (ácido abscísico, óxido nítrico e de poliaminas como espermidina, espermina); aumento na disponibilidade de nutrientes, solubilização do fosfato,

na atividade da redutase do nitrato e na eficiência de uso do N; biocontrole de fitopatógenos e doenças; proteção das plantas contra estresse salino e elementos tóxicos do solo; além de FBN (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019; ANDRADE et al., 2023).

Devido ao alto custo dos fertilizantes e a conscientização em prol de uma agricultura sustentável e menos poluente, tem-se aumentado a utilização de inoculantes contendo bactérias diazotróficas, porém são insuficientes as pesquisas sobre o efeito da coinoculação com *Azospirillum brasilense* aplicada isoladamente e associada à *Bacillus subtilis* ou *Pseudomonas fluorescens* em cultivos de trigo, assim como associadas *Rhizobium tropici* no feijoeiro. Postula-se que possa ocorrer um efeito sinérgico com uso destas BPCPs, com maior eficiência da adubação nitrogenada, e incrementos na nutrição e produtividade deste cereal e desta leguminosa.

Neste contexto, parte-se do pressuposto de que ocorre um somatório dos benefícios individuais, ou seja, pode existir um efeito aditivo com a aplicação de mais uma BPCPs associadamente, que reflete positivamente no desenvolvimento, na produtividade e na nutrição da planta de trigo e feijoeiro irrigados. Assim, estudos em diferentes ambientes agrícolas fazem-se necessários, para maior entendimento destes mecanismos que ocorre entre planta-hospedeiro, relacionado à promoção de crescimento e desenvolvimento de plantas. Com isso, o emprego de uma fonte marcada com ^{15}N consiste em uma “ferramenta” interessante para auxiliar no entendimento, uma vez que possibilita mensurar com precisão a fração de N proveniente do fertilizante daquela fração derivada do solo (“N nativo”) somada ao de outras fontes, a exemplo do N proveniente da Fixação Biológica (FBN). Nesse contexto, os principais objetivos deste estudo foram:

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar os efeitos da inoculação via sementes com *Azospirillum brasilense* aplicada isoladamente e se ocorre efeito sinérgico (aditivo), quando associada à *Bacillus subtilis* ou *Pseudomonas fluorescens* no trigo; e de *Rhizobium tropici* isolada e associada à *A. brasilense* ou *P. fluorescens* no feijoeiro-comum, cultivado em sucessão ao trigo irrigado, combinadas a doses de N (^{15}N -ureia) em ambos os cultivos, no desenvolvimento, na produtividade de grãos, na nutrição de plantas, acúmulo de nutrientes e na eficiência de uso de nitrogênio (EUN) pelas culturas, com uso da técnica isotópica de ^{15}N , sob sistema plantio direto, em um Latossolo Vermelho distroférico de Cerrado.

2.2 Objetivos Específicos

i) Avaliar o estado nutricional no florescimento e quantificar a extração (planta inteira), a exportação (grãos) e o retorno ao solo (restos culturais) de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) pelo trigo e feijoeiro, em razão da inoculação isolada, coinoculações com BPCPs e doses de N-fertilizante;

ii) Determinar a dose ótima de N para máxima produtividade de grãos de trigo e de feijoeiro e averiguar se a coinoculação (inoculação mista) potencializa os efeitos benéficos obtidos pelo uso das BPCPs através de melhorias na nutrição mineral e otimização da fixação biológica de nitrogênio, que possibilita redução no uso de fertilizantes no cultivo de trigo e feijoeiro;

iii) Avaliar a eficiência de utilização (aproveitamento ou recuperação) do N da ureia pelo trigo e feijoeiro em razão de doses do fertilizante nitrogenado e inoculação isolada e mista de BPCPs, com emprego da técnica isotópica de ^{15}N ;

iv) Avaliar o efeito dos tratamentos (doses de N e inoculação com uma ou duas BPCPs) nas variáveis biométricas de crescimento e nos componentes de produção e o reflexo na produtividade de palha e de grãos de trigo;

v) Determinar a quantidade de N no trigo e no feijoeiro proveniente do N “nativo” do solo e outras fontes; em função da inoculação isolada e associada de BPCPs combinadas a doses de N;

vi) Estimar o rendimento (contribuição) equivalente de grãos de trigo e feijoeiro-comum proporcionado pela inoculação isoladamente e associada de BPCPs comparado ao N-fertilizante.

3. REVISÃO DE LITTERATURA E RELEVÂNCIA DO TEMA

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma cultura de grande importância econômica e que faz parte da dieta da população mundial, sendo o segundo cereal mais produzido no mundo. A produção interna de trigo e a área cultivada no Brasil, na safra de 2021, foi de 10,5 milhões de toneladas e de 3,1 milhões de ha, o que representa um aumento de 26,7% e de 13,0%, respectivamente, em relação à safra anterior (CONAB, 2022). O trigo é uma espécie da família Poaceae, amplamente cultivado em todo mundo, matéria-prima principal para produção de farinha, apresentando elevada capacidade para panificação. É o único cereal que contém glúten em quantidade necessária para se obter o produto pão. Segundo a CONAB (2023) a estimativa de área plantada de trigo no mundo para atual safra é de 220 milhões de há. No Brasil, o Rio Grande do

Sul e Paraná cultivam as maiores áreas com trigo, respondendo por 86% de toda área do país com o cereal (CONAB, 2023).

O trigo é a segunda cultura mais cultivada no mundo, com área de produção estimada em mais de 200 milhões de hectares e seu consumo é responsável por 19% das calorias na dieta humana global, pois o grão é rico em carboidratos e tem maior teor de proteínas que outros cereais importantes como o arroz, milho e centeio (LIU et al., 2018; ZORB et al., 2018).

O nitrogênio (N) é o nutriente que mais limita o desempenho da cultura do trigo, pois atua em múltiplas rotas metabólicas, componente de biomoléculas, clorofila, aminoácidos e proteínas essenciais ao desenvolvimento da planta. Segundo Da Ros et al. (2003), a disponibilidade de nitrogênio no solo está vinculada, entre outros fatores, à relação carbono/nitrogênio (C/N) dos resíduos culturais, principalmente no sistema plantio direto, onde os mesmos permanecem na superfície do solo. Deficiências nutricionais do N podem causar redução na evapotranspiração e na eficiência do uso da água, diminuição no tamanho das folhas, afetando a eficiência no uso da radiação solar, causando queda na taxa fotossintética, limitando a emissão de perfilhos, reduzindo também o número de colmos e espigas por área e, conseqüentemente, a produção do trigo (FERRETI; FERNANDES, 2011).

O N é o nutriente mais absorvido e o mais exportado pelas plantas de trigo. Além disto, exerce forte influência na definição da produtividade desta cultura (PRANDO et al., 2013). O N deve ser disponibilizado às plantas de trigo preferencialmente entre os estádios de afilhamento e alongação, uma vez que a aplicação de N nas fases iniciais da cultura favorece a maior produtividade de grãos (SILVEIRA et al., 2010). No início deste período, há forte exigência de N para estabelecer o número de espiguetas diferenciadas e, em consequência, o número de grãos por espiga (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2001). Em função da sua importância na fotossíntese e na formação da proteína do grão, além de seu papel expressivo no aumento de produtividade, especialmente em plantas da família Poaceae, é expressivo o uso de nitrogênio na cultura do trigo. Além de influenciar decisivamente na produtividade de grãos, a adubação nitrogenada também se relaciona com a qualidade dos grãos produzidos. O nitrogênio faz parte dos aminoácidos, os quais, são constituintes das proteínas formadoras dos grãos e, com isso, influencia a qualidade de panificação dos grãos de trigo.

Apesar da grande dependência da importação de trigo, o Brasil possui um enorme potencial para aumentar a produção de grãos desta cultura. O país pode até passar para a condição de

exportador, caso a produção de trigo seja expandida na região do Cerrado (PASINATO et al., 2018). Soares et al. (2021) e Silva et al. (2020) constataram produtividades de até 5.302 kg ha⁻¹ e 3.600 kg ha⁻¹, respectivamente, para a cultura do trigo no Cerrado sob diferentes condições hídricas. No Brasil, na safra 2019/2020, foi cultivado em uma área de 2,42 milhões de hectares, das quais aproximadamente 91% são localizadas na região sul, com uma produtividade média de 2.757 kg ha⁻¹ (CONAB, 2020). Entretanto, para suprir a demanda interna, o Brasil importou 605,7 milhões de toneladas em 2019 (CONAB, 2020).

A cultura do feijão-comum possui ampla adaptação edafoclimática, podendo ser cultivada durante todo o ano, em quase todos os estados brasileiros, pois não apresenta sensibilidade ao fotoperíodo, desde que não ocorram limitações de temperatura e umidade (ABRANTES et al., 2011). Na região de Cerrado, o feijão tem sido uma das culturas mais cultivadas na entressafra em sistemas irrigados. No Brasil, o feijão pode ser cultivado em três safras nas diversas regiões do país, por produtores de diferentes perfis desde altas tecnologias até agricultores familiares. De acordo com o levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021), a cultura do feijão no país, na safra 2019/2020, ocupou uma área cultivada de 3,17 milhões de hectares, com produção nacional estimada de 3,23 milhões de toneladas, sendo a maior produtora a região sul, que domina 29% da produção nacional de feijão. Desse total produzido, 2 milhões de toneladas são de feijão-comum cores, 712,6 mil toneladas de feijão-caupi e 509,5 mil toneladas de feijão-comum preto.

Dentre as principais causas responsáveis pela baixa média de produtividade do feijoeiro, destacam-se o manejo incorreto da irrigação e disponibilidade inadequada de nutrientes no solo. Neste aspecto, entre as alternativas. O nitrogênio é o nutriente mais limitante para o crescimento de culturas anuais não leguminosas como o trigo e leguminosas, como o feijoeiro, cuja adubação suplementar de N é frequentemente necessária para atender às necessidades das culturas (KANEKO et al., 2010; TEIXEIRA FILHO et al., 2014; GALINDO et al., 2016; GALINDO et al., 2017, 2019, 2021). Aproximadamente 50 a 60% do total de fertilizantes nitrogenados produzidos no mundo são utilizados pelo trigo, milho e arroz (*Oryza sativa* L.) (LADHA et al., 2016). No entanto, cerca de 20 a 50% do N dos fertilizantes é perdido para o meio ambiente, por meio de óxido nitroso (N₂O) que é um dos gases de efeito estufa (GEE), e outras espécies reativas de N, por exemplo, amônia (NH₃); lixiviação de nitrato (NO₃⁻) e escoamento, que levam a uma baixa eficiência de uso do nitrogênio (EUN) pelas culturas de cereais (CUI et al., 2010; LINQUIST

et al., 2013; ABALOS et al., 2014; NUNES et al., 2015; XIA et al., 2016). Isso ocasiona uma série de problemas ambientais (por exemplo, aumento do aquecimento global, poluição do ar e eutrofização das águas) que ameaçam os ecossistemas e a saúde humana (ERISMAN et al., 2013; GU et al., 2015). Neste aspecto, predizer doses adequadas de N é um dos desafios agrônômicos mais importantes, especialmente considerando-se que custos de fertilizantes são altos.

Estudos com coinoculação tem demonstrado que a utilização de combinações de diferentes microrganismos, promovem maior rendimento para as culturas agrícolas (YADEGARI et al., 2010). A coinoculação de sementes com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* é promissora. Estudos, como de Remans et al. (2008) e Yadegari et al. (2014) evidenciam o potencial dessa prática para se aumentar a nodulação e o crescimento de plantas de feijão. A interação entre os rizóbios e o *Bacillus* pode estimular a simbiose e favorecer o processo FBN nas fabáceas. O *Bacillus* pode aumentar a nodulação e a competitividade do rizóbio pelos múltiplos efeitos positivos na rizosfera das plantas (ARAÚJO et al., 2010). Stajkovic et al. (2011) relataram um efeito significativo na coinoculação em feijoeiro com *Pseudomonas* sp. e *Rhizobium phaseoli* no crescimento das plantas, bem como no acúmulo de N e P, em comparação com a inoculação apenas com *Rhizobium*.

Uma estratégia que tem o potencial de melhorar a EUN, mediante a fixação e absorção de N, é o uso de bactérias diazotróficas que podem fixar o N atmosférico, levando a um melhor desenvolvimento das culturas, nutrição e aumento da produtividade de grãos (HARTMANN; BASHAN, 2009; HUNGRIA et al., 2016). As principais bactérias estudadas atualmente são as BPCPs, destacando-se os gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*. As BPCPs são organismos epífitos ou endógenos residentes, não patogênicos, de plantas ou de solo que atuam diretamente para promover o crescimento ou indiretamente como agentes de controle biológico de doenças de plantas (MARIANO et al., 2004).

A utilização da inoculação em culturas não leguminosas com BPCPs é crescente em diversos países, principalmente na América Latina, com destaque à utilização nas culturas de milho e trigo (MARKS et al., 2015; MARTINS et al., 2018; SALVO et al., 2018). A análise de resultados conduzidos por mais de 20 anos, em diferentes condições de solo e clima, em diversos ensaios a campo com variadas culturas não leguminosas demonstrou a capacidade de algumas BPCPs em aumentar a produtividade das culturas em até 30% (FUKAMI et al., 2017, 2018). No entanto, o uso de inoculação em culturas não leguminosas com BPCPs ainda precisa aumentar na América

Latina, em particular nas culturas de trigo e milho (MARKS et al., 2015; SALVO et al., 2018). Existem vários estudos relacionados a efeitos benéficos desses microrganismos em outras culturas não leguminosas, como arroz (TAN et al., 2015), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (SCHULTZ et al., 2012; URQUIAGA et al., 2011), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) (SANTOS et al., 2017) e pastagens (HUNGRIA et al., 2016).

As bactérias promotoras de crescimento estimulam o crescimento das plantas por uma série de mecanismos, como a produção e secreção de fitormônios, incluindo ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno (BASHAN; DE-BASHAN, 2010; MEZA et al., 2015; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016; ANDRADE et al., 2023). Esses microrganismos podem estimular outros reguladores de crescimento de plantas, como ácido abscísico (COHEN et al., 2008), óxido nítrico (FIBACH-PALDI et al., 2012) e poliaminas como espermidina, espermina e cadaverina (CASSÁN et al., 2009). Além disso, por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes (HUNGRIA et al., 2010), solubilização de fosfato (PUENTE et al., 2004; GALINDO et al., 2016), FBN (SANTOS et al., 2017) e aumento da EUN (HUNGRIA et al., 2016; GALINDO et al., 2016; MARTINS et al., 2018).

Além disso, algumas pesquisas reportaram biocontrole de patógenos e doenças de plantas (YASUDA et al., 2009; BASHAN; DE-BASHAN, 2010; TORTORA et al., 2011) e proteção de plantas contra o estresse salino e tóxico componentes do solo (CREUS et al., 1997; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016) em função da inoculação de BPCPs. A resposta positiva à inoculação foi descrita como a teoria de múltiplos mecanismos, dependente da interação inoculante-planta-ambiente (SALVO et al., 2018). Dessa forma, considerar a interação entre ambiente x genótipos x estirpes (bactérias) é a chave para o sucesso no desenvolvimento de novas recomendações e aplicabilidade de inoculantes na agricultura, que anseia por tecnologias sustentáveis de baixo custo.

O trigo é uma importante cultura no contexto mundial da produção de grãos, tendo como principal destino a alimentação humana, na forma pães, biscoitos e outros derivados. Em escala global, o trigo é a segunda mais importante fonte de calorias para a alimentação humana, com sua produção concentrando-se nos países do hemisfério norte, sendo a China o principal produtor, seguida da União Europeia, Índia, Estados Unidos e Rússia. O continente asiático participa com 44,5% do total produzido no mundo seguido pelo continente Europeu com 32,2% do total produzido. A produção mundial de trigo foi de 736 milhões de toneladas no ano de 2019 segundo

o Departamento de Agricultura Americano – USDA e tem sido apontada como uma das *commodities* mais importante a nível mundial.

Além da sua importância na alimentação humana, a cultura do trigo é uma importante alternativa de cultivo para produtores no período de inverno/primavera como parte de um sistema de rotação de cultura, pois além de produzir e deixar uma boa palhada na superfície importante sob o ponto de vista da conservação do solo e uma das premissas básicas do sistema plantio direto é importante na própria ciclagem de nutrientes um dos fatores mais importantes quando se busca altos rendimentos, evitando assim os malefícios da monocultura (REUNIÃO..., 2012).

Conforme Beche et al. (2014) as eficiências de absorção e de utilização de N, por cultivares de trigo pioneiras e modernas, estiveram positivamente associadas à eficiência de uso do nitrogênio, com estreitamento na relação em condições de alta disponibilidade de N. As cultivares modernas são mais eficientes no uso do N e toleram doses mais baixas do nutriente, em comparação às cultivares pioneiras. Os autores sugerem que para o desenvolvimento de cultivares mais eficientes no uso de N, os programas de melhoramento genético de trigo devem priorizar a seleção de genótipos com maiores eficiências de absorção, remobilização e utilização de N. Assim, Estudos que busquem elucidar bases genéticas e fisiológicas da translocação, da remobilização e da ciclagem do nutriente nas plantas são importantes para que se possa continuar a promover a eficiência de uso de nitrogênio em trigo.

A disponibilidade de N em quantidade adequada à planta é o principal fator determinante do rendimento potencial da cultura do trigo (GALINDO et al., 2021). O nitrogênio desempenha um papel de extrema importância, sendo encontrado em maior concentração nos tecidos vegetais e nos grãos, caracterizando-se como o nutriente mais demandado pela cultura do trigo. O nitrogênio desempenha um papel fundamental nas moléculas essenciais, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, hormônios como auxinas e citocinina, bem como clorofila. Grande parte das proteínas são enzimas, moléculas imprescindíveis para que ocorram todas as reações químicas do metabolismo primário celular, como fotossíntese, via glicolítica, Ciclo de Krebs. O N é muito importante, pois é constituinte de vários componentes, entre eles as proteínas aminoácidos, clorofila entre outros (TAIZ et al., 2017), além de aumentar a área foliar, a massa de grãos e sua qualidade proteica que refletem na produtividade e qualidade final de grãos (LEMOS et al., 2014). Estudando doses de nitrogênio na cultura do trigo, Theago et al. (2014) constataram um aumento crescente das concentrações de clorofila à medida que se aumentaram as doses (50, 100, 150 e 200

kg ha⁻¹), o que se justifica pelo fato de 50 a 70% do nitrogênio na folha compor enzimas presentes nos cloroplastos. Essa importância da clorofila fica evidente no trabalho de Hassan et al. (2009), onde observaram que genótipos de trigo com maiores teores de clorofila total, A+B, tiveram uma maior produção de biomassa.

Vários insumos foram desenvolvidos recentemente no mercado brasileiro para a cultura do trigo, destacando-se os fertilizantes com novas formulações e produtos contendo microrganismos e/ou substâncias promotoras do crescimento vegetal. No entanto, são crescentes as dúvidas de técnicos e agricultores quanto à eficiência agrônômica destas substâncias, devido à carência de informações técnicas com acurácia científica. Em trigo, embora diversos estudos já tenham sido relatados sobre os efeitos benéficos da inoculação de *Azospirillum brasilense*, são escassos na literatura trabalhos relacionados ao uso de coinoculação de *A. brasilense* associados a outras BPCPS. O cultivo de trigo irrigado no cerrado é feito no outono/inverno em sucessão a várias culturas e detém as maiores médias nacionais de rendimento de grãos e qualidade tecnológica comparável aos melhores padrões internacionais de trigo (MOREIRA et al., 2006). Segundo Teixeira Filho et al. (2010), a utilização de cultivares de trigo com alto potencial produtivo e a adubação nitrogenada são essenciais para a obtenção de rendimentos de grãos elevados.

No Brasil, o caso mais exitoso de sua contribuição da FBN é representado pelo uso do inoculante na cultura da soja (*Glycine max* L. Merr), que garantiu a competitividade para a cultura quando comparada com a produção de soja de outros países, além de uma economia na ordem de bilhões de dólares anuais com a não aplicação de fertilizantes nitrogenados no sistema produtivo da soja. Logo, o sucesso da FBN por meio de bactérias simbióticas em leguminosas, com destaque à cultura da soja, é um modelo exemplar a ser seguido de agricultura sustentável, gerando ganhos econômicos, ambientais e sociais inestimáveis. A utilização de BPCPs tende a crescer ainda mais, em função do baixo custo (em média, a dose de inoculantes é de R\$ 20,00 por hectare) e da facilidade de aquisição e aplicação (via semente, sulco ou foliar), e, ainda, por ser uma tecnologia não poluente, que se insere no contexto sustentável, com potencial de FBN em gramíneas e, principalmente, de promover melhor nutrição, crescimento de plantas e produtividade.

Neste aspecto, faz-se necessário a busca por tecnologias que visem melhorias na qualidade dos solos, uso moderado de fertilizantes minerais e defensivos agrícolas, baixo custo econômico e maior sustentabilidade. Nos sistemas produtivos, o nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade e o que mais onera o custo de produção de culturas não leguminosas como o trigo.

Também, é o nutriente de manejo mais complexo, decorrente das múltiplas reações a que está sujeito, mediadas pela microbiota quimiorganotrófica (heterotrófica) do solo e condicionadas por fatores edáficos e climáticos, sendo este último de difícil previsão, sobretudo temperatura e umidade.

A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado no Brasil e no mundo, devido às suas vantagens comparativas em termos de custo, facilidade de fabricação e custo final para o agricultor. Do ponto de vista agrônômico, a ureia apresenta uma séria limitação quando aplicada na superfície do solo, devido às chances de perdas por volatilização do NH_3 . Isto sugere a necessidade de se enfatizar práticas de manejo do solo e de culturas que aumentem a EUN do fertilizante, assim como o aporte de N ao sistema solo-planta como a inoculação com microrganismos que promovam a FBN e o crescimento vegetal. Nesse contexto, estudos demonstraram que o aumento de 1% no aproveitamento do N dos fertilizantes minerais pelos cereais representaria, no mundo, uma economia de U\$ 234.658.462 milhões de dólares. Um aumento em 20% na recuperação pelos cereais resultaria em uma economia de mais de U\$ 4.7 bilhões por ano (RAUN; JOHNSON, 1999). Estima-se que a FBN simbiótica apresente uma contribuição global para os sistemas produtivos agrícolas da ordem de 21,5 milhões de toneladas de N por ano (HERRIDGE et al., 2008; REIS et al., 2018), equivalente a 180-710 kg N ha⁻¹ ano⁻¹ (BOTTOMLEY; MYROLD, 2007; REIS et al., 2018).

Portanto, o desenvolvimento de práticas de manejo e gerenciamento que minimizem a dependência de fertilizantes minerais é fundamental para a segurança alimentar global e sustentabilidade ambiental. Pesquisas recentes têm reportado o potencial de utilização de BPCPs para aumentar a eficiência do uso de nutrientes, sobretudo N, em sistemas de cultivo agrícola com culturas não leguminosas e leguminosas. Microrganismos como *A. brasilense*, *B. subtilis* e *R. tropici*, são também BPCPs conhecidas por terem um efeito significativo no equilíbrio de nutrientes no ecossistema solo-planta, cuja relação de mutualismo entre BPCPs, microflora do solo e plantas pode levar a uma melhor nutrição e desenvolvimento das plantas e aumento da produtividade, minimizando as necessidades de adição de insumos externos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Características e Localização das Áreas Experimentais:

O experimento de campo foi conduzido no outono/inverno/primavera de 2023, na Fazenda Ensino e Pesquisa (FEPE) da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria- MS, cujas coordenadas geográficas são de 51^o 22' W e 20^o 22' S e 335 m de altitude. Segundo a classificação internacional de Köppen-Geiger (1928) e Alvares et al. (2013), o clima da região é do tipo Aw, definido como tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A temperatura média anual é de 24,5 °C, precipitação pluvial média anual de 1.370 mm e umidade relativa média de 64,8% e o relevo é suave ondulado (~5% de declividade). Apesar de, em 2023, terem sido observadas temperaturas um pouco acima da média para a região, sobretudo no inverno e na primavera. Também, ocorreram chuvas em junho (60 mm) e em menores quantidades em julho e agosto, o que não é muito comum de ocorrência. Os dados de precipitação pluvial e de temperaturas máximas e mínimas ocorridos durante o cultivo do trigo e do feijoeiro, encontram-se, respectivamente, nas Figuras 1 e 2.

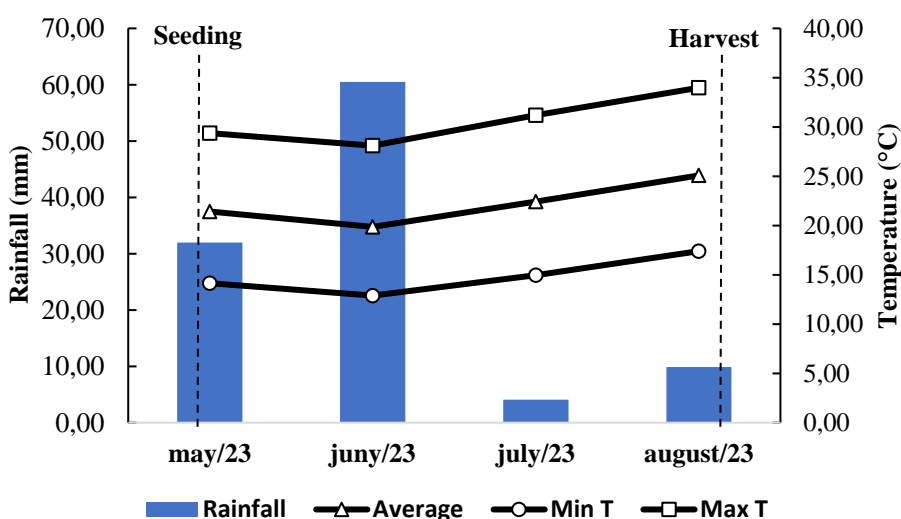


Figura 1. Dados de precipitação pluvial e de temperaturas máximas e mínimas corridas durante a condução do experimento de trigo, Selvíria-MS, 2023.

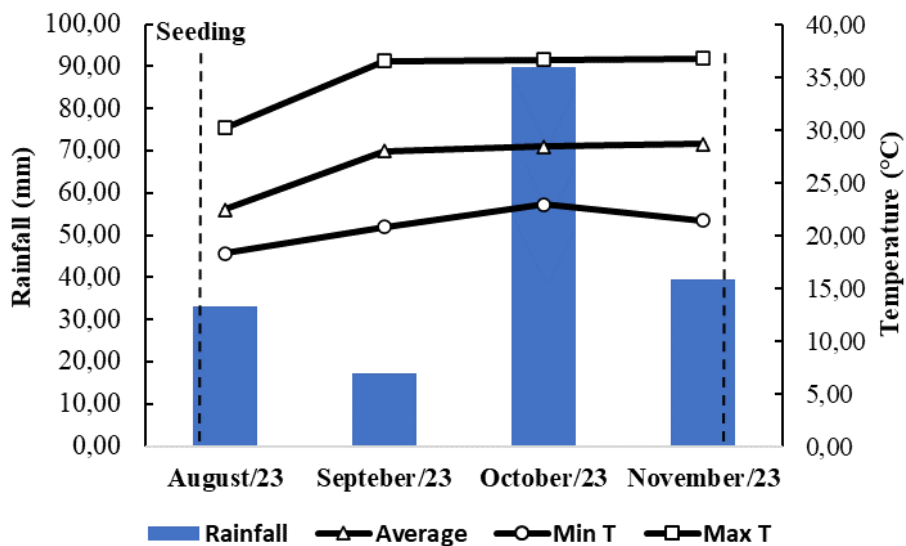


Figura 2. Dados de precipitação pluvial e de temperaturas máximas e mínimas corridas durante a condução do experimento de feijão-comum, Selvíria-MS, 2023.

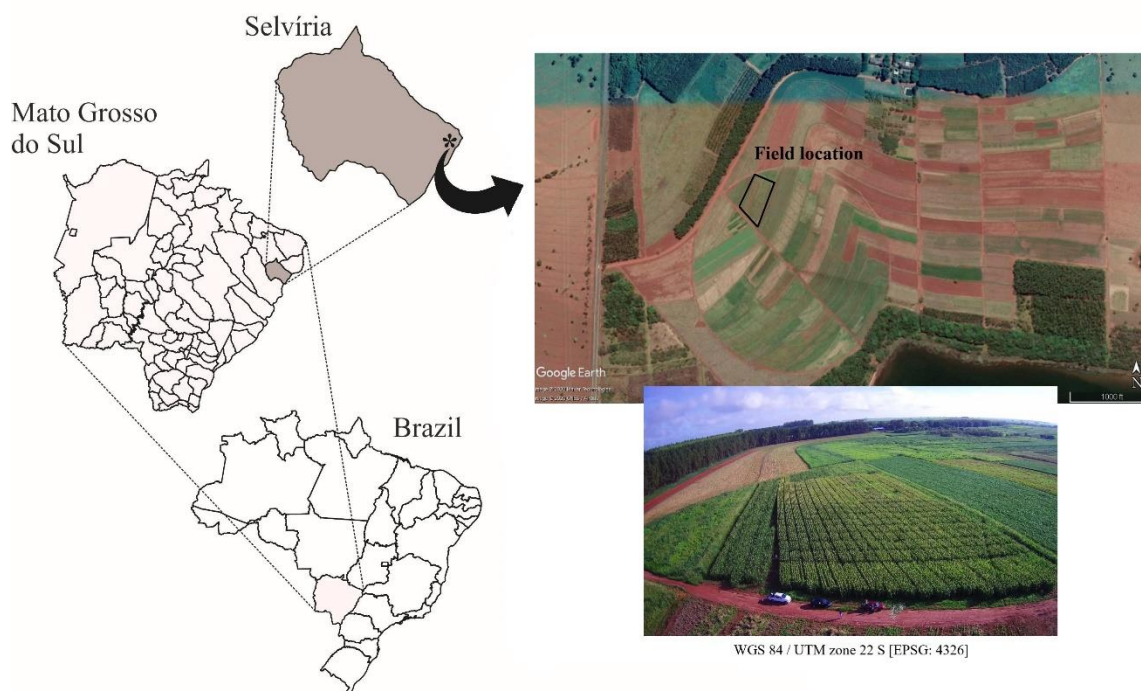


Image of the Teaching and Research Farm (FEPE) of UNESP/ Ilha Solteira, Selvíria, state of Mato Grosso do Sul, Brazil where the field experiment was carried out. Map created by using QGIS software and Google Earth program. QGIS Development Team (2019). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>. Image obtained in Google Earth program.

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (LVdf), típico, textura argilosa, fase Cerrado (SANTOS et al., 2018), correspondendo a um Rhodic Haplustox, segundo a Soil Taxonomy (SOIL SURVEY STAFF, 2014), com histórico de cultivos com culturas anuais em sistema plantio direto consolidado, com cultivo de soja no verão, antecedendo ao cultivo do trigo. Antes da instalação, foram realizadas amostragens do solo, nas camadas de 0 a 0,20 e 0,20 a 0,40 m de profundidade, para a caracterização química, cujas análises foram realizadas conforme metodologias descritas em Raij et al. (2001). Os resultados das análises químicas do solo foram utilizados para definição da adubação mineral com fósforo, potássio e micronutrientes (Tabela 1). A adubação nitrogenada foi aplicada conforme os tratamentos.

Tabela 1. Resultados das análises químicas do solo, nas camadas de 0-0,20 e 0,20-0,40 m de profundidade, em amostras coletadas antes da instalação dos experimentos de trigo e feijão-comum, Selvíria-MS, 2023.

Camada	pH CaCl ₂	N total	MO	P resina	Ca	Mg	K	Al+H	S	Cu	Fe	Mn	Zn
m		g kg ⁻¹	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----mmolc dm ⁻³ -----				-----mg dm ⁻³ -----				
0,00-0,20	4,6	0,5	11,8	2,8	7,8	6,6	0,7	19,6	9,3	1,5	8,3	4,5	0,1
0,20-0,40	4,7	0,5	16,4	2,0	7,1	5,9	0,8	24,4	8,5	1,65	6,8	18,5	0,2

Foram realizadas também, nas mesmas épocas e camadas do solo, a caracterização inicial da macroporosidade, microporosidade, porosidade total, de acordo com o método da mesa de tensão, e da densidade do solo, pelo método do anel volumétrico (TEIXEIRA et al., 2017). A microporosidade foi determinada considerando-se o conteúdo de água retido no potencial matricial de 6 kPa; A macroporosidade foi calculada com base na diferença entre porosidade total e microporosidade. A densidade de partículas (Dp) foi determinada utilizando-se água destilada e eliminação à vácuo do ar do picnômetro de acordo com Blake & Hartge (1986). A porosidade total (PT) foi obtida a partir dos valores da densidade do solo (Ds) e densidade de partículas (Dp), através da equação proposta por Vomocil; Floker (1961) – (Tabela 2).

As análises granulométricas foram determinadas pelo método da pipeta, conforme metodologia descrita em Day (1965), cujos teores encontrados foram: 439, 471 e 90 g kg⁻¹ de argila, areia e silte, respectivamente.

Tabela 2. Valores médios referentes a macroporosidade, microporosidade, porosidade total e densidade do solo, em amostras coletadas antes da instalação dos experimentos, Selvíria-MS, 2023.

Camada m	Macroporosidade	Microporosidade	Porosidade total	Densidade do solo
	----- m ³ m ⁻³ -----			kg dm ⁻³
0,0 - 0,20	0,109	0,33	0,43	1,55
0,20 - 0,40	0,10	0,32	0,432	1,45

4.2 Delineamento Experimental e Implantação do Experimento

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 4x5, com quatro repetições. Os tratamentos para o trigo compreenderam três inoculações + testemunha sem inoculação: 1) *Azospirillum brasilense*; 2) *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*; 3) *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* e 4) Testemunha (sem inoculação com BPCPs), combinadas com cinco doses de N: 0, 30, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹; e também para o feijoeiro, no cultivo subsequente ao trigo, as inoculações: 1) *Rhizobium tropici*; 2) *R. tropici*+*A. brasilense* 3) *R. tropici*+*P. fluorescens* e 4) Testemunha, combinadas às doses: 0, 20, 40, 80 e 120 kg ha⁻¹ de N, na forma de ureia (¹⁵N), aplicadas em cobertura. Foram aplicados 30 e 10 kg ha⁻¹ de N, respectivamente, para o trigo e feijoeiro, no sulco de semeadura, conjuntamente com fósforo e potássio e Zinco (0,5%), equivalentes a 375 kg ha⁻¹ do Formulado NPK 08-28-16. A adubação foi calculada com base nos resultados das análises de solo, considerando-se uma expectativa de produtividade esperada de 5 a 6 t ha⁻¹ de grãos de trigo, e de 4 a 6 t ha⁻¹ de feijão-comum, conforme Rajj et al. (1996) e Sousa e Lobato (2004). Também em cobertura, foi aplicado 1 kg ha⁻¹ de Boro, na forma de ácido bórico.

As parcelas experimentais tiveram dimensões de 8,0 m de comprimento por 6,0 m de largura. Como área útil das parcelas, foi considerada a sua parte central, desprezando-se duas linhas de trigo e uma de feijão em cada lateral e um metro em cada extremidade. Os tratamentos que receberam fonte marcada com ¹⁵N (ureia) tiveram microparcelas próprias (separadas) de 1,5 x 1,0 m (oito linhas de trigo e três linhas de feijão). Para as microparcelas, foram consideradas como área útil, as três linhas centrais de trigo e a linha central de feijão e, desprezando-se 0,20 m nas extremidades.

Previamente à semeadura, procedeu-se dessecação prévia das plantas daninhas, utilizando-se com os herbicidas glyphosate (1800 g ha⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.)) e 2,4-D (670 g ha⁻¹ do i.a.), 15 dias antes da semeadura, seguido do preparo da área com desintegrador mecânico de resíduos vegetais (Triton).

As sementes de trigo e feijão foram tratadas com o produto químico Standak® Top (ingredientes ativos: piraclostrobina, tiofanato metílico e fipronil), na dose de 2 mL por kg sementes, com o auxílio de uma betoneira. Em seguida, foram realizadas as inoculações com as BPCPs nas sementes de trigo, conforme os tratamentos supracitados. A inoculação das sementes de trigo foi realizada com *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 de (garantia de 2×10^{11} UFC mL⁻¹), na dose de 150 mL de inoculante (líquido) por saca de 50 kg de sementes de trigo; a inoculação com *Bacillus subtilis* (estirpe CCTB04) na dose de 100 mL para 50 kg de sementes (garantia de 1×10^8 UFC mL⁻¹), de acordo com a população de plantas; a inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03) na dose de 150 mL para 50 kg de semente de inoculante líquido (garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹). As inoculações das sementes foram todas realizadas pouco antes da semeadura e seca à sombra.

Conforme os tratamentos descritos, a inoculação das sementes de feijão com *Rhizobium tropici* (SEMIA 4077) foram feitas com inoculante turfoso na dose de 2 g para 1 kg de sementes (garantia de 2×10^9 UFC g⁻¹). Para adesão das bactérias foi acrescentada uma solução açucarada a 10% nas sementes. As inoculações das sementes com as bactérias foram realizadas conforme a recomendação da empresa produtora/ distribuidora do produto, com *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) na dose de 100 mL de inoculante líquido para 25 kg de sementes (garantia de 2×10^{11} UFC mL⁻¹; a inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03) foi feita na dose de 100 mL para 25 kg de semente de inoculante líquido (garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹). As inoculações das sementes foram todas realizadas pouco antes da semeadura e seca à sombra.

As semeaduras do trigo e do feijão-comum foram realizadas, respectivamente, em 11/05/2023 e 30/08/2023. Para o trigo, foram utilizadas sementes da cultivar BRS-264, que tem alto potencial produtivo e recomendada para as condições edáficas e climáticas de Cerrado, utilizando-se semeadora mecanizada (Marca Tatu) de treze linhas, no espaçamento de 0,17 m entre linhas e 75 sementes viáveis por metro linear de sulco. A cultivar BRS-264, cultivar mais semeada pelos tricultores do Brasil Central, ocupa cerca de 80% da área cultivada com trigo no Cerrado. É uma cultivar super precoce, que pode ser colhida cerca 10 dias antes das demais cultivares disponíveis no mercado. Também apresenta alto rendimento e excelente qualidade de panificação, classificada como trigo pão (ALBRECHT et al., 2006).

Para o feijoeiro, a semeadura também foi realizada de forma mecanizada, tendo sido utilizadas sementes da cultivar Pérola, pertencente ao grupo Carioca, no espaçamento de 0,45 m entre linhas e 10 sementes viáveis por metro de sulco. A cultivar apresenta alto potencial produtivo e, também é recomendada para o cultivo na região deste estudo.

A adubação nitrogenada de cobertura (ureia) foi realizada nas entrelinhas do trigo, na fase de perfilhamento, conforme os tratamentos descritos anteriormente. Para o feijoeiro, também foi realizada com ureia e nas entrelinhas da cultura, conforme os tratamentos descritos anteriormente; porém, quando as plantas apresentarem três folhas totalmente expandidas (28 dias após a emergência das plântulas).

A área foi irrigada por um sistema de aspersão, por meio de pivô central. O controle de plantas daninhas, de pragas e de doenças, caso necessário, foi realizado por meio de pulverizações com produtos específicos e recomendados para as culturas de trigo e de feijão.

4.3. Avaliações da cultura do trigo:

a) Estado nutricional no florescimento: foram coletados no estágio de florescimento pleno do trigo, os limbos foliares de 40 folhas bandeiras (CANTARELLA et al., 1997) da área útil de cada parcela, acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificadas e levadas ao laboratório, onde foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura média de 65 °C até atingir a massa constante. A seguir, foram realizadas análises dos teores de macro e micronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn), utilizando-se a metodologia descrita em Malavolta et al. (1997).

b) Teor de clorofila e Leituras/ Índice SPAD: os teores de clorofilas foram avaliados na fase de florescimento do trigo, quantificando: Clorofila *a* (CL *a*); Clorofila *b* (CL *b*) e a Clorofila total (CL *t*) utilizando o aparelho Falker ClorofiLOG® 1030 (FALKER, 2008); enquanto para estimar o teor de clorofila de forma indireta, foi utilizado o clorofilômetro portátil SPAD-502 (MINOLTA, 1989). As leituras foram realizadas no campo, em seis folhas bandeira da área útil de cada parcela, no estágio de florescimento da cultura, no mesmo dia de coleta das folhas para avaliação do estado nutricional.

c) Altura de plantas: foi mensurada no estágio de maturação das plantas com o auxílio de uma régua graduada, medindo-se a distância (cm) do nível do solo ao ápice das espigas, excluindo-se as aristas, em seis plantas ao acaso na área útil de cada parcela.

d) Número de espigas por metro quadrado: - foi determinado na ocasião da colheita, por meio de contagem do número de espigas em 1,0 m de fileira de plantas na área útil das parcelas; em seguida, foi feito o cálculo para obter o número de espigas por m², através da divisão do número de espigas por metro pelo espaçamento das entrelinhas de plantas (0,17 m).

e) Avaliações de espigas e grãos de trigo: na colheita foram colhidas 10 espigas de trigo ao acaso da área útil de cada parcela, que foram acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificadas e levadas ao laboratório, para as seguintes determinações: e.1.) Número de espiguetas não desenvolvida: foi obtido através da relação do número de espiguetas não desenvolvidas e o número espigas; e.2.) Número de espiguetas por espiga: foi determinado a partir da contagem de todas as espiguetas com grãos da espiga; e.3.) Número de grãos por espiga: foi obtido a partir da divisão do número de grãos pelo número de espigas, de cada unidade experimental; e.4.) Número de grãos por espiguetas: foi determinado a partir da divisão do número de grãos por espiga pelo número de espiguetas por espiga, de cada unidade experimental.

g) Massa hectolétrica: correspondente à massa de grãos ocupada em um volume de 100 L, determinada em balança de 0,25 L, com teor de água dos grãos corrigidos para 13% e foi determinada em amostras retiradas aleatoriamente após a trilhagem dos grãos, para determinar a produtividade. Esta avaliação é importante, pois serve como parâmetro para a comercialização de grãos, uma vez que, o valor recebido pelo produtor é menor quando a massa hectolétrica se apresenta abaixo de 78 kg 100L⁻¹.

h) Massa de 1000 grãos: foi determinada por meio da pesagem de três amostras de 1000 grãos de cada parcela determinada em balança de precisão 0,01g, a 13% (base úmida).

i) Produtividade de grãos: na colheita, que foi realizada em 26/08/2023, foram coletadas manualmente as plantas contidas nas seis linhas centrais 5 m de comprimento da área útil cada parcela. Após a trilhagem mecânica, os grãos foram pesados os dados transformados em kg ha⁻¹ a 13% (base úmida).

j) Índice de colheita (IC): O índice de colheita (IC) foi determinado dividindo-se a produção de grãos pela produção de fitomassa total de parte aérea (grãos+palha – restos culturais):

$$IC(\%) = \frac{\text{Produção de grãos(g)}}{\text{Produção de fitomassa(g)}} \times 100$$

l) Acúmulo de macro e micronutrientes na parte aérea: Na ocasião da colheita, foram coletadas dez plantas de cada parcela para avaliar a produtividade de matéria seca e os teores de nutrientes na palha e nos grãos. As espigas foram debulhadas e as amostras de grãos e de palha

embaladas, identificadas e secas em estufa a 65 °C. Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório para moagem e determinação dos teores de macro e micronutrientes, utilizando-se a metodologia descrita em Malavolta et al. (1997). Os teores obtidos foram utilizados para quantificar a extração (planta inteira- palhada + grãos), a exportação nos grãos, assim como o retorno destes nutrientes ao solo pelos restos culturais (palha), considerando-se as respectivas produtividades de matéria seca obtidas.



I. Imagens demonstrativas da semeadura do trigo, realizada em 11/05/2023, Fazenda Ensino e Pesquisa, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS.



II. Imagens do trigo na fase de florescimento, enchimento de grãos e maturação (meses de julho e agosto/2023, Fazenda Ensino e Pesquisa, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS).



III. Imagens demonstrativas de avaliações e colheita manual do trigo, realizada em 26/08/2023, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS.



IV. Imagens demonstrativas da trilhagem dos grãos relativo à colheita manual das plantas, e colheita mecânica do restante do trigo da área experimental, realizada em 26/08/2023, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS.

4.4. Cultivo do Feijão-comum:

A cultura do feijão-comum foi semeada em 30/08/2023 sobre os restos culturais do trigo, no sistema de plantio direto. Os restos culturais do trigo foram previamente triturados, com triturador de palha (triton) em 28/12/2023. A semeadura do feijão foi realizada de forma mecanizada, distribuindo-se dez sementes por metro de sulco, no espaçamento de 0,45 m entre linhas, utilizando-se a Cultivar Pérola, pertencente ao Grupo Carioca. A adubação de semeadura foi realizada no sulco de plantio, aplicando-se 250 kg ha⁻¹ do formulado NPK 08-28-16. Os tratamentos referentes às inoculações e coinoculações com as Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas foram realizados conforme os tratamentos, pouco antes da semeadura, misturando-se as mesmas às sementes.

O feijão teve uma excelente germinação e emergência, com um estande inicial adequado e recomendado para essa cultura, tendo sido realizado todos os tratos culturais necessários (controle de planta daninhas, demarcação e separação de parcelas, etc) No entanto, na fase vegetativa e no florescimento, ocorreram altas temperaturas (Figura 2), que é acima do normal para a região, assim como recomendada para a cultura do feijoeiro. Estas altas temperaturas associadas à baixa umidade do ar, mesmo tendo tido o cuidado com a irrigação, comprometeram muito o desenvolvimento da cultura, prejudicando muito o crescimento, a formação de nódulos, em que praticamente não houve nodulação (Imagens demonstrativas abaixo). Além disso, a formação de flores e o desenvolvimento inicial de vagens foi muito prejudicado, ocorrendo uma pequena formação, com um grande abortamento dessas flores. Assim, efetuou-se uma avaliação e comparação dos diferentes tratamentos, evidenciando, assim, não ser possível dar continuidade no experimento, uma vez que seria impossível proceder as avaliações propostas no estudo para distinguir efeitos dos diferentes tratamentos propostos (doses de N associadas a bactérias promotoras de crescimento). Contudo, foram realizadas todas as avaliações e análises propostas para a cultura do trigo, que estão apresentadas neste Relatório Científico.





V. Imagens demonstrativas da semeadura do feijão sobre a palhada de trigo – 30/08/2023, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS.



VI. Imagens demonstrativas do feijão na fase de crescimento, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS, 2023.



VII. Imagens demonstrativas do sistema radicular do feijão (ausência de nódulos), FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS, 2023.



VIII. Imagens demonstrativas do feijão na ocasião do florescimento, FEPE - UNESP/ Ilha Solteira, município de Selvíria-MS, 2023.

4.5. Preparo de Amostras e Análises Isotópicas:

Para determinar a concentração de ^{15}N na palha e nos grãos de trigo e de feijão-comum, foram coletadas as três linhas de centrais de trigo e a linha central de feijão de cada microparcelas que receberam fertilizante marcado, após a maturação fisiológica dos grãos. Os grãos foram debulhados manualmente e a palha fragmentada em pedaços com auxílio de facão, misturada e foi retirada uma amostra. As amostras foram secas a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, depois finamente moídas em peneira de 40 mesh. Posteriormente, foram pesadas amostras em balança de precisão (cinco casas decimais) e realizadas as determinações do N-total e da abundância em ^{15}N no material

vegetal (palha e grãos) foram realizadas em espectrômetro de massa (IRMS), acoplado a analisador automático 20-20 ANCA-SL, da Europa Scientific, Crewe, no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, conforme metodologia descrita em Barrie e Prosser (1996).

4.6. Eficiência de Uso do Nitrogênio (EUN):

A eficiência de uso do nitrogênio, aproveitamento ou recuperação foi calculada considerando-se a quantidade e o respectivo enriquecimento (% de átomos de ^{15}N) da fonte de N aplicada (ureia), descontados da abundância natural do isótopo estável de ^{15}N , que é de 0,3663% (IAEA, 2001). A sequência de cálculos para determinar a recuperação do N fertilizante no sistema solo-planta foi de acordo com as equações a seguir:

a) Nitrogênio acumulado na planta – grãos e palha (NA, kg ha^{-1})

$$NA = \frac{N \times MS}{1000} \quad \text{Eq 01}$$

em que: N = Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}); MS = Matéria seca (kg ha^{-1}).

b) Percentagem de nitrogênio na planta proveniente fertilizante mineral (%Nppf)

$$\%Nppf = \frac{\% \text{ Átomos de } ^{15}\text{N em excesso na planta}}{\% \text{ Átomos de } ^{15}\text{N em excesso no fertilizante}} \times 100 \quad \text{Eq 02}$$

em que: % átomos de ^{15}N em excesso na planta = % Átomos de ^{15}N na planta subtraindo-se a abundância natural ^{15}N (0,3663%); % átomos de ^{15}N em excesso no fertilizante = % Átomos de ^{15}N no fertilizante aplicado, subtraindo-se a abundância natural ^{15}N (0,3663%).

c) Quantidade de N na planta proveniente do fertilizante (QNppf, kg ha^{-1})

$$QNppf = \frac{\%Nppf \times NA}{100} \quad \text{Eq 03}$$

em que: NA = nitrogênio acumulado (kg ha^{-1}); %Nppf = percentagem de N na planta proveniente do fertilizante.

d) Aproveitamento do nitrogênio (AP%) do fertilizante mineral

$$AP = \frac{QNppf}{QNA} \times 100 \quad \text{Eq 04}$$

em que: QNppf = quantidade de nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (kg ha^{-1}); QNA = dose de nitrogênio aplicado na forma de fertilizante marcado (kg ha^{-1}).

e) Quantidade de N na planta proveniente do N “nativo” do solo e outras fontes (QNpps, kg ha⁻¹)

$$QNpps = NA - QNppf \quad \text{Eq 05}$$

em que: NA = nitrogênio acumulado (kg ha⁻¹); QNppf = quantidade de N na planta proveniente do fertilizante (kg ha⁻¹).

4.7. Contribuição equivalente do N proveniente da fixação biológica e inoculação de BPCPs

A estimativa da contribuição equivalente do N oriundo das inoculações com BPCPs em equivalência ao N do fertilizante, foi obtida mediante a derivada primeira da função polinomial quadrática $y = c + bN - aN^2$, igualando-a a produtividade de grãos dos tratamentos inoculados com BPCPs sem a aplicação de N (dose zero) àquelas dos tratamentos que receberam N fertilizante sem inoculações de BPCPs (SILVA et al., 2007; SOUZA et al., 2015).

4.8. Análise Estatística dos Dados

Os dados das variáveis de resposta foram submetidos à análise de variância através da aplicação do teste F a 1 e 5% de probabilidade. Constatada diferença significativa, foi procedida a comparação de médias para o efeito dos distintos tratamentos qualitativos (inoculações com BPCPs), utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Em função da significância das variáveis quantitativas (doses de N), foram ajustadas equações de regressão. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos softwares SAS 9.2 (SAS INSTITUTE, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliações Biométricas, Nutricionais e Produtivas de Trigo Irrigado Sob Inoculação de Bactérias Promotoras de Crescimento e Doses de Nitrogênio

A análise de variância (ANAVA) mostrou efeito significativo isolado da inoculação com bactérias promotoras de crescimento de crescimento - BPCPs (plant growth-promoting bacteria - PGPBs) na altura da planta, no comprimento da espiga, no número de espigas por metro quadrado, no número de grãos por espiga, na massa hectolétrica e nas produtividades de palha e de grãos do trigo irrigado (Tabelas 3 e 4). Para o índice SPAD e o número de espiguetas por espiga de trigo, a análise de variância não mostrou efeito significativo em função dos tratamentos (doses de N e/ou BPCPs), cujos valores médios de índice SPAD e número de espiguetas foram de 47,21 e 15,1, respectivamente, enquanto os coeficientes de variação foram de 2,1% e 2,2% (Tabela 3). Em estudos realizados também em um Latossolo Vermelho distroférico na região de Cerrado, foi observado que houve ajuste linear crescente em resposta a doses de N até 200 kg ha⁻¹ para o número de espiguetas por espiga de trigo (GALINDO et al., 2017). Já em outro estudo, Galindo et al. (2021) observaram que o número de espiguetas por espiga ajustou ao modelo quadrático em função de doses de N, cujo ponto de máximo foi atingido com 144 kg ha⁻¹ de N. Essas diferentes respostas, possivelmente, podem estar relacionadas ao material genético e condições edáficas e climáticas, ao manejo da cultura e histórico de cultivos, sobretudo ao cultivo anterior. No presente estudo, foi cultivado previamente soja no verão, que promove aporte de N ao solo, cujos restos culturais tem baixa relação C/N, que favorece o processo de mineralização e liberação de nutrientes ao solo.

Table 3. Mean squares of analysis of variance for variables: plant height, index SPAD, number of spikes per square meter, spike length, and spikelets per spike of irrigated wheat as affected by N rate and inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	Analysis of Variance - Mean Squares					
	DF	Plant height cm	SPAD index	Nº spikes m ²	Spike length cm	Spikelets per spike
PGPB*	3	641,803792**	2,43845 ^{ns}	12211,411458**	0,445458**	0,210458 ^{ns}
N Rate	4	4,770125 ^{ns}	1,456062 ^{ns}	2388,376062 ^{ns}	0,234563 ^{ns}	0,065750 ^{ns}
PGPBxN rate	12	5,485458 ^{ns}	1,176479 ^{ns}	2633,169896 ^{ns}	0,067646 ^{ns}	0,142333 ^{ns}
Blocks	3	95,065792 ^{ns}	2,564458 ^{ns}	6799,261792 ^{ns}	0,374458 ^{ns}	0,09916 ^{ns}
Residue	57	28,436493 ^{ns}	1,025423 ^{ns}	2435,887932 ^{ns}	0,102265 ^s	0,099160 ^{ns}
Overall Mean		80,97	46,91	542,31	4,47	15,06
C.V. (%)		6,6	2,2	9,1	7,2	2,1

Obs. Ns and **: No significant and significant by the F test at 1%, respectively. *PGPB were: *Azospirillum brasilense*, *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*, *A. brasilense*+*Pseudomona fluorescens*, and Without Inoculation. C.V. = coefficient of variation.

Com relação às doses de nitrogênio (N rate), foi observado efeito significativo desse fator sobre a massa de mil grãos, massa hectolétrica, massa seca de palha (restos culturais) e produtividade de grãos de trigo (Tabela 4). Para a interação entre os fatores doses de N e inoculação com BPCPs, foi observado efeito significativo apenas para a massa seca de palha (Tabela 4), o que evidencia que os fatores para essa variável são dependentes. De maneira geral, os coeficientes de variação situaram dentro dos intervalos de valores considerados médios (10 a 20%) e baixos (<10%), de acordo com Pimentel-Gomes; Garcia (2002).

Table 4. Mean squares of analysis of variance for variables: Grains per spike, Hectoliter mass, Mass of 1000 grains, Straw biomass, and Grain yield of irrigated wheat as affected by N rate and inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	DF	Analysis of Variance Mean Squares				
		Grains per spike	Hectoliter mass kg per 100L	Mass of 1000 grains g	Straw dry mass kg ha ⁻¹	Grain yield kg ha ⁻¹
PGPBs	3	39,570458**	13,019500*	5,897458 ^{ns}	970848,21250**	787532.845833**
N rate	4	12,439375 ^{ns}	10,881250*	18,829063*	2638485,67500**	4114353.575000**
PGPBs×N	12	11,852958 ^{ns}	1,554083 ^{ns}	7,039646 ^{ns}	345585,65000*	161949.408333 ^{ns}
Blocks	3	20,792792 ^{ns}	2,687167 ^{ns}	12,448458 ^{ns}	85649,77917 ^{ns}	168947.412500 ^{ns}
Residue	57	8,044371 ^{ns}	3,205851 ^{ns}	12,448458 ^{ns}	158639,51601 ^{ns}	86643.465132 ^{ns}
Overall Mean		41,43	95,66	38,68	5033	5.472
C.V. (%)		6,9	1,9	6,7	7,9	5,4

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPB were: *Azospirillum brasilense*, *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*, *A. brasilense*+*Pseudomona fluorescens*, and Without Inoculation. N rates were: 0, 30, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹. C.V. = coefficient of variation.

O N é um nutriente importante para o trigo, pois é constituinte de vários componentes, com destaque nas proteínas, aminoácidos, clorofila entre outros (TAIZ et al., 2017), além de aumentar a área foliar, a massa de grãos e sua qualidade proteica, que refletem na produtividade e qualidade final de grãos (LEMONS et al., 2014). Em estudos com doses de N no trigo, Theago et al. (2014) constataram aumento crescente nas concentrações de clorofila à medida que se aumentaram as doses (50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹), o que se justifica pelo fato de 50 a 70% do N na folha compor enzimas presentes nos cloroplastos. Essa importância da clorofila fica evidente no trabalho de Hassan et al. (2009), onde observaram que genótipos de trigo com maiores teores de clorofila total, A+B, tiveram maior produção de biomassa. Estudos demonstraram que o índice de clorofila do dispositivo Minolta SPAD® 502 apresentaram correlação positiva com os teores foliares de N em plantas no trigo (FIOREZE; RODRIGUES, 2012). No presente estudo, não foi observado efeito significativo para os índices SPAD, devido às pequenas diferenças nos teores de N na ocasião das

leituras. Estudo comparativo entre o SPAD® 502 (Minolta) e Falker ClorofiLOG® 1030, que são os dois clorofilômetros mais utilizados no Brasil, observaram que os mesmos não diferem no que refere à determinação indireta de clorofila em plantas de trigo (SCHLICHTING et al., 2015).

Na Tabela 5, encontram-se os valores referentes à variável altura da planta, componentes de produção e produtividade de grãos e de palha de trigo. Observa-se que para a maioria das variáveis, as inoculações com BPCPs, tanto com *Azospirillum brasilense*, como de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* ou de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, proporcionaram maiores valores, comparadas à ausência de inoculação, o que pode ser também observadas nas Figuras 6B e 6D. Estudos demonstram que as BPCPs apresentam múltiplos mecanismos de atuação no crescimento de plantas, como a produção e secreção de fitormônios como o ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno; de reguladores de crescimento de plantas (ácido abscísico, óxido nítrico e de poliaminas como espermidina, espermina); aumento na disponibilidade de nutrientes, solubilização do fosfato, na atividade da redutase do nitrato e na eficiência de uso do N; biocontrole de fitopatógenos e doenças; proteção das plantas contra estresse salino e elementos tóxicos do solo; além de FBN (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019). Deficiências nutricionais do N podem causar redução na evapotranspiração e na eficiência do uso da água, diminuição no tamanho das folhas, que afeta a eficiência no uso da radiação solar, causando queda na taxa fotossintética, limitando a emissão de perfilhos, reduzindo também o número de colmos e espigas por área e, conseqüentemente, a produção do trigo (FERRETI; FERNANDES, 2011).

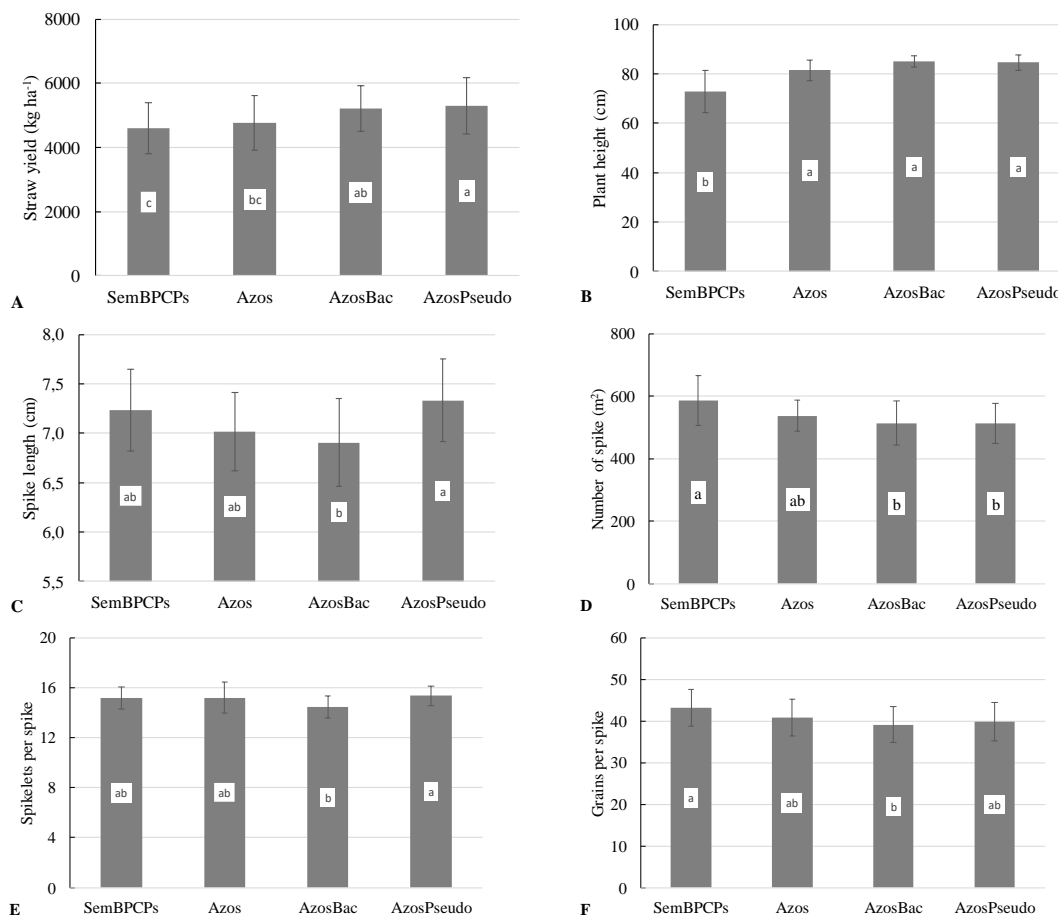
Table 5. Variables plant height, number of spikes per square meter, spike length, grains per spike, hectoliter mass, mass of 1000 grains, straw biomass and grain yield, as affected by N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

Inoculation	Plant height	Spike length	Grains per spike	Hectoliter mass	Mass 1000 grain	Straw biomass	Grain yield
	cm	cm		kg per 100L	g	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹
Without Inoculation	72,8 b*	7,2 a	41,2 a	94,5 b	38,7 a	4.721,7 c	5.412,4 b
<i>Azospirillum</i>	81,5 a	7,0 ab	38,4 b	95,5 ab	39,4 a	4.847,8 bc	5.573,4 a
<i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	81,5 a	6,9 b	39,8 ab	95,6 ab	39,4 a	5.214,1 ab	5.327,1 b
<i>Azos.</i> + <i>Pseudomonas</i>	84,6 a	7,3 a	40,8 ab	96,5 a	38,1 a	5.349,1 a	5.578,1 a
Overall Mean	80,97	7,15	41,43	95,66	38,68	5.037	5.472

*Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Observa-se na Figura 3A, que a produtividade de palha, ou seja, restos culturais (straw dry mass yield) de trigo foi superior quando do uso de BPCPS comparada à ausência de inoculação, possivelmente, pela contribuição que a inoculação de BPCPs proporcionaram ao crescimento e desenvolvimento da planta, uma vez que tanto a inoculação isolada como a associada de duas BPCPS proporcionaram maior altura da planta (Figura 3B). O comprimento da espiga foi menor com uso de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; no entanto, com diferença significativa apenas com a inoculação associada de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores intermediários e sem diferença significativa entre si (Figura 3C). Quanto ao número de espigas por metro quadrado, esse foi maior com o uso de *A. brasilense* (Figura 3D). Já o número de espiguetas por espiga, foi maior com a inoculação associada de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, embora sem diferença significativa do uso isolado de *A. brasilense* com o do tratamento sem inoculação de BPCPs (Figura 3E). Com relação ao número de grãos por espiga, os maiores valores foram observados com a inoculação isolada de *A. brasilense* e *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* (Figura 3F).

Normalmente, o N é o nutriente mais absorvido e exportado pela planta de trigo, razão essa pela qual sua deficiência constitui um fator limitante que influencia diretamente no número de perfilhos, número de espigas, desenvolvimento das espiguetas, peso dos grãos e, conseqüentemente, rendimento de grãos (VAGHAR; EHSANZADEH, 2018; ULALLAH et al., 2018). De acordo com Ladha et al. (2016), as duas principais estratégias para reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados no cultivo do trigo é aumentar sua eficiência de uso pelas plantas e o uso de bactérias diazotróficas. Essas bactérias podem fornecer nitrogênio às plantas através da fixação não-simbiótica de nitrogênio. Além disso, esses microrganismos podem favorecer à absorção de nutrientes pelas plantas, atuando como biofertilizantes, fitoestimuladores e atenuantes de estresses abióticos e bióticos (LUGTENBERG; KAMILOVA, 2009; PII et al., 2015; ZEFFA et al., 2018). Essas múltiplas ações favorecem também o desenvolvimento do sistema radicular da planta, que reflete positivamente na absorção de água e nutrientes (TEIXEIRA; GALINDO, 2019; ANDRADE et al., 2023).



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 3. Values of straw dry mass yield (A), plant height (B), spike length (B), number of spike per meter square (C) grain per spike (D), spikelets per spike (E), grain per spike (F), as affected by associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, by seeds, and N rates, Selvíria, MS, 2023.

A análise de variância mostrou efeito significativo isolado da inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas sobre os teores foliares dos micronutrientes N, P, K e S, assim como nos teores dos micronutrientes B e Mn na planta de trigo irrigado (Tabela 6), avaliados nas folhas diagnose (folha bandeira), coletadas no início do florescimento da cultura, conforme proposto por Cantarella et al. (2022). Ao mesmo tempo, também houve efeito significativo isolado de doses de N (N rate) nos teores de N, P e S, enquanto para os micronutrientes, apenas sobre os teores de Zn. Com relação à interação entre os fatores (PGPBxNrate), houve efeito significativo (dependente) apenas para os teores dos macronutrientes Ca e Mg, assim como para os teores do micronutriente ferro.

Os coeficientes de variação, à excessão para o teor de Fe, que foi de 23,90%, considerado alto (>20%), os demais situaram dentro dos intervalos considerados médios (10 a 20%) e baixos (<10%), de acordo com Pimentel-Gomes; Garcia (2002). Vale ressaltar que para nenhum dos macronutrientes e dos micronutrientes, assim como para todas as demais variáveis avaliadas no presente estudo, houve efeito significativo de blocos, o que evidencia boa homogeneidade da área experimental onde foi realizado (Tabela 6).

Os teores de macronutrientes na planta de trigo, na época do florescimento da cultura, seguiu a ordem decrescente: $N > K > Ca > S > P > Mg$, enquanto para os micronutrientes a ordem foi: $Fe > Mn > B > Zn = Cu$ (Tabela 7). De maneira geral, à excessão dos teores de K na planta, que situaram pouco abaixo das faixas consideradas adequadas para a cultura do trigo, descritas como de 15-30 g kg⁻¹ (CANTARELLA et al., 2022), e de 23-25 g kg⁻¹ (MALAVOLTA et al., 1997). Assim como os teores de Mg e S, que também situaram pouco abaixo do adequado, conforme considerada penas por Malavolta et al. (1997), os demais teores de macronutrientes e de micronutrientes situaram dentro das faixas descritas como adequadas para a cultura do trigo por estes ambos autores (Tabela 7). Contudo, ressalta-se que a coleta de folhas para as análises foliares foi realizada conforme proposto por Cantarella et al. (2022). Além disso, durante o desenvolvimento da cultura, não foram observados sintomas visuais de deficiência nutricional de nenhum dos macro e micronutrientes.

Estudos evidenciam que a disponibilidade do nitrogênio e do potássio e a adequada proporção entre esses nutrientes no solo são fatores importantes nos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (VIANA; KHIEL, 2002), cujo metabolismo de nitrogênio nas plantas requer adequadas quantidades de potássio no citoplasma (XU et al., 2002), sendo importante para a produção de aminoácidos e produtividade das culturas. Ainda, tem sido verificado que o potássio está envolvido na fase final do metabolismo do nitrogênio (MARSCHNER, 1995). Entretanto, alguns trabalhos relataram que o potássio está envolvido no início dos processos metabólicos do nitrogênio, como incorporação do nitrogênio mineral e especialmente na redutase do nitrato (RUAN et al., 1999). Estudos demonstraram que a combinação das doses 251 e 200 mg dm⁻³ de nitrogênio e potássio, respectivamente, promove maior produção de massa seca e maior teor de clorofila nas folhas do trigo (VIANA; KHIEL, 2002).

Table 6. Mean squares of the analysis of variance for leaf macronutrient contents (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn) the irrigated wheat plant, at flowering time, as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	Mean Square – Macronutrient Content Leaf							Mean Square – Micronutrient Content Leaf				
	DF	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
PGPBs*	3	6,975**	0,264*	3,642*	0,323 ^{ns}	0,323 ^{ns}	0,086*	4628,974**	59,686 ^{ns}	125,749 ^{ns}	340,464**	4,607 ^{ns}
N Rate	4	39,755**	0,271**	0,948 ^{ns}	0,642 ^{ns}	0,025 ^{ns}	0,084*	224,190 ^{ns}	68,210 ^{ns}	403,447 ^{ns}	57,850 ^{ns}	108,624*
PGPB x N rate	12	0,804 ^{ns}	0,072 ^{ns}	2,124 ^{ns}	0,670*	0,0867*	0,035 ^{ns}	114,873 ^{ns}	118,486 ^{ns}	393,031*	75,772 ^{ns}	35,934 ^{ns}
Blocks	3	1,916 ^{ns}	0,045 ^{ns}	0,071 ^{ns}	0,130 ^{ns}	0,017 ^{ns}	0,027 ^{ns}	77,063 ^{ns}	70,595 ^{ns}	419,719 ^{ns}	27,265 ^{ns}	7,181 ^{ns}
Residue	57	1,105	0,042	1,115	0,271	0,033	0,025	200,699	73,103	184,415	2996,332	1399,101
C.V. (5%)		2,21	6,17	7,94	9,40	7,01	4,56	23,90	31	9,69	5,91	17,73

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. C.V. = coefficient of variation. PGPB were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* and Without Inoculation of PGPB.

Table 7. Nutritional status of the irrigated wheat plant, evaluated by leaf contents at time flowering, for macronutrient contents (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

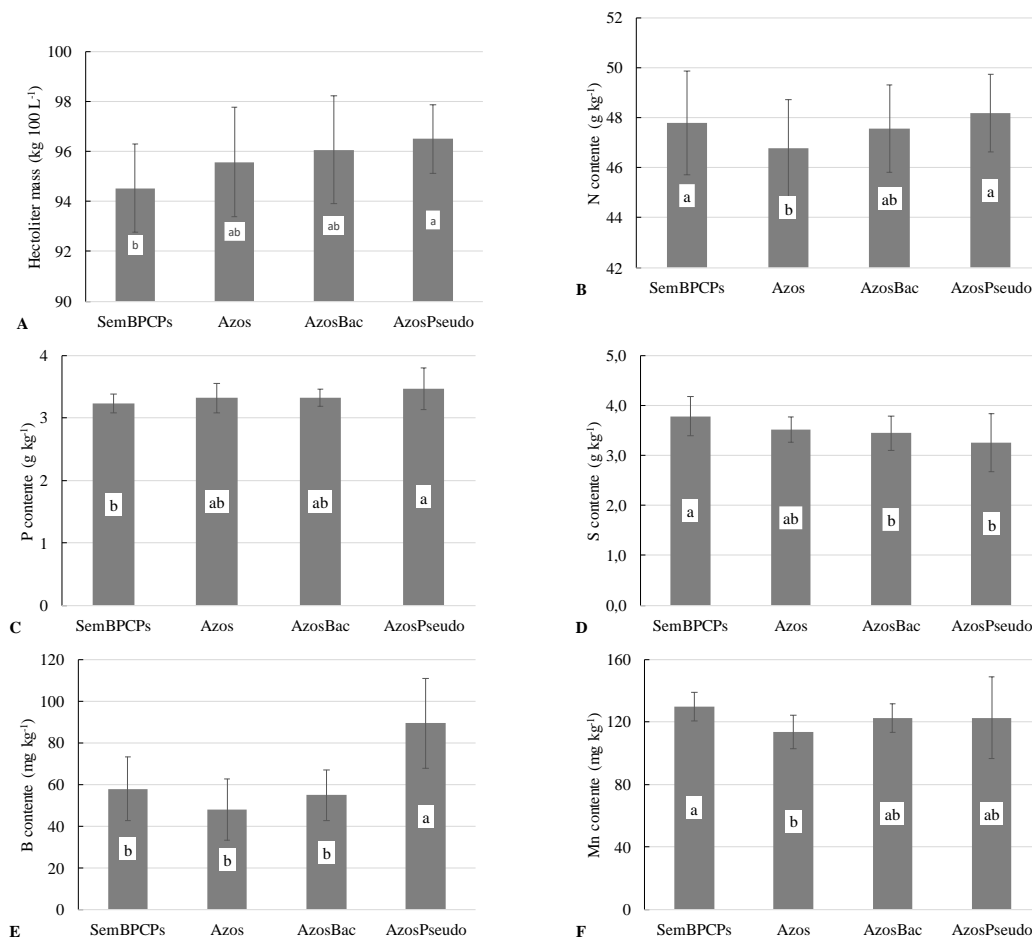
FV	Macronutrient Content Leaf						Micronutrient Content Leaf				
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- (g kg ⁻¹) -----						----- (mg kg ⁻¹) -----				
Without Inoculation	47,8	3,2	12,8	5,5	2,6	3,8	57,9	32,1	147,5	129,9	28,3
<i>Azospirillum</i>	46,8	3,3	13,2	5,3	2,4	3,5	48,1	26,9	137,0	113,6	30,3
<i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	47,6	3,3	13,8	5,5	2,6	3,4	54,9	29,6	141,7	122,5	28,9
<i>Azos.</i> + <i>Pseudomonas</i>	48,2	3,3	13,4	5,5	2,5	3,5	60,7	29,4	140,5	122,8	29,0
Overall Mean	47,6	3,3	13,3	5,5	2,6	3,5	61,0	27,4	140,5	122,8	27,9
⁽¹⁾ Adequado	20-34	2,5-3,5	15-30	2,5-8,0	1,5-4,0	1,5-3,5	5-15	5-20	10-250	25-150	25-70
⁽²⁾ Adequado	30-33	2,0-3,0	23-25	14,0	4,0	4,0	20	9-18	-	16-28	20-40

Adequate nutrients leaf contents according to ⁽¹⁾CANTARELLA et al. (2002) and ⁽²⁾MALAVOLTA et al. (2022).

Com relação à massa hectolétrica, que correspondente à massa de grãos ocupada em um volume de 100 L, determinada em balança de 0,25 L, com teor de água dos grãos corrigidos para 13% de umidade, os maiores valores foram observados quando o trigo foi inoculado com *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, apesar de não ter diferido significativamente da inoculação isolada somente com *A. brasilense* ou associada de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*, que, por sua vez não diferiram do tratamento com ausência de inoculação de BPCPs (Figura 4A). É importante destacar que está variável tem relação direta com a qualidade tecnológica do trigo para a panificação, que depende da “força do glúten, que por sua vez, depende de o correto fornecimento de nitrogênio à planta de trigo. O maior rendimento de grãos, o aumento de espigas m⁻², a diminuição da massa hectolétrica e da massa de 1000 grãos com o aumento das doses de N também é relatada por Teixeira Filho et al. (2010).

Quanto ao estado nutricional da planta de trigo, avaliado na época do florescimento, pela folha diagnose (folha bandeira), os teores de N na folha de trigo foram maiores nos tratamentos com a inoculação de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, e na ausência de inoculação de BCPS, enquanto menores quando da inoculação isolada de apenas *A. brasilense*; que por sua vez não diferiu da inoculação de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* (Figura 4B). É importante ressaltar que, independentemente da inoculação com uma ou duas BPCPs ou da ausência dessa prática, os teores de N na folha situaram acima das faixas consideradas adequadas por Cantarella et al. (2022) e Malavolta et al. (1997). Ainda, no caso do N, também pode ocorrer “efeito diluição”, graças ao maior acúmulo de biomassa, que como demonstrado na Figura 3A, houve diferenças na produtividade de palha entre as diferentes inoculações testadas.

Para os teores de P foliar, os maiores valores foram obtidos com as inoculações; apesar de o uso de apenas *A. brasilense* ou de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*, não terem diferido da ausência de inoculação de BPCPs (Figura 4C). Já com relação aos teores foliares de S e de Mn, esses foram maiores na ausência de inoculação de BPCPs (Figuras 4D e 4F). Quanto aos teores de boro, esses foram maiores quando o trigo foi inoculado com *Pseudomonas fluorescens* e menores em todos os demais tratamentos (Figura 4E). Contudo, os teores desses nutrientes situaram dentro das faixas consideradas adequadas (CANTARELLA et al., 2022). Além disso, à exceção do boro, que se encontrava pouco abaixo do considerado adequado na análise de solo, os teores desses nutrientes encontravam-se em um teor adequado na planta (Tabela 7). Ainda, no caso do Boro, foi realizada a adubação foliar, aplicando-se 1 kg ha⁻¹ de B, na forma de ácido bórico.



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 4. Values of hectoliter mass grain wheat and foliar nitrogen – N (B), phosphorus – P (C), sulphur – S (D), boron – B (E) and manganese – Mn (F) content, as affected by associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, by seeds, Selvíria, MS, 2023.

Quanto aos teores de micronutrientes na planta de trigo, na época do florescimento, em resposta às doses de N-fertilizante aplicadas, apenas os teores de zinco foram significativos em função das doses de N aplicadas; no entanto, com um baixo coeficiente de determinação R^2 (Figura 5A). Os dados de acúmulo de palha ajustaram ao modelo quadrático, com o ponto de máximo atingido com a dose de 107 kg ha^{-1} de N, com produtividade estimada de 4424 kg ha^{-1} de massa seca de palha de trigo (Figura 5B). Quanto aos teores de nitrogênio, os dados ajustaram ao modelo quadrático (Figura 5C). Já os teores de fósforo na folha decresceram de forma linear em resposta ao incremento dose de N (Figura 5D), o que pode estar relacionado a um possível “efeito diluição”,

uma vez que ocorreu incremento no acúmulo de biomassa com o incremento da dose de N. Para os teores de cálcio, ocorreu o oposto, cujos teores aumentaram de forma linear com o incremento da dose de N (Figura 5E). Quanto aos teores de enxofre foliar, a concentração desse nutriente aumentou de forma quadrática (Figura 5F).

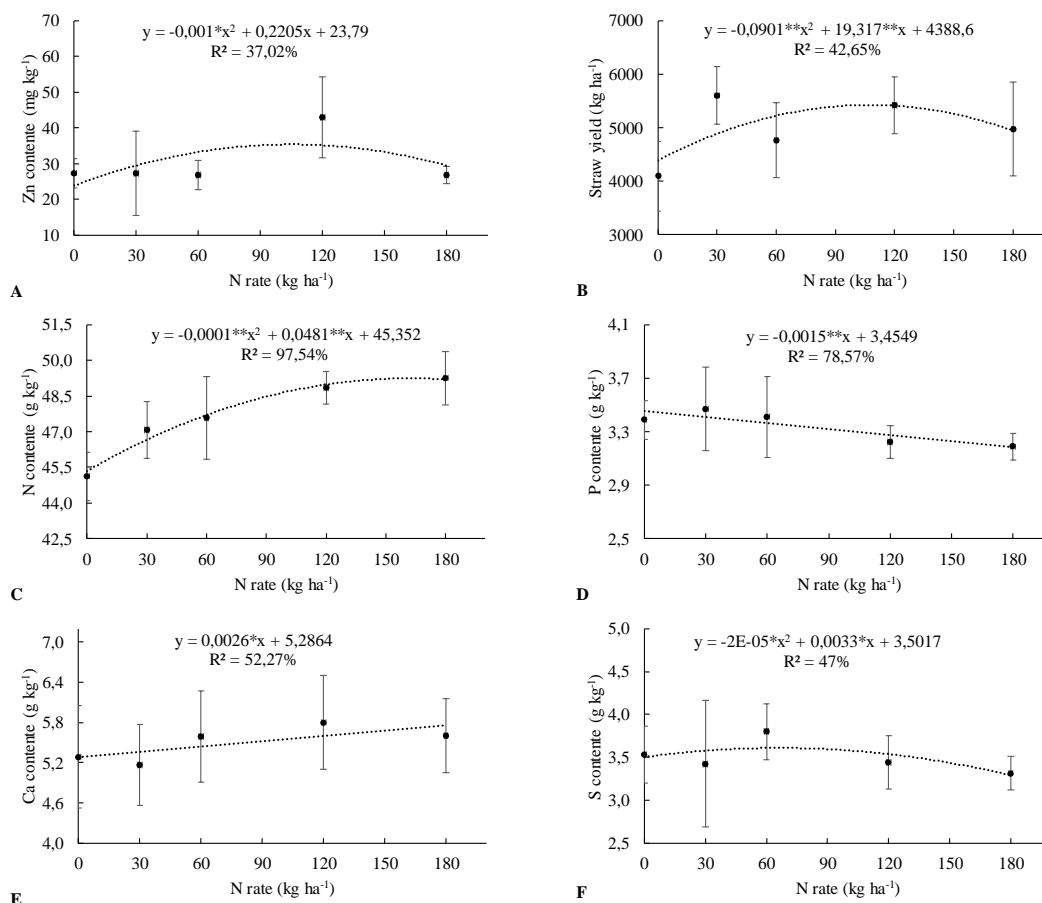


Figure 5. Values of micronutriente zinc content - Zn (A), Straw dry mass (B), nitrogen content– N (B), phosphorus – P (C), sulphur – S (D), boron – B (E) and manganese – Mn (F) content in wheat plant at flowering time, as affected by associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, by seeds, and N rates, Selvíria, MS, 2023.

A produtividade de grãos de trigo ajustou ao modelo quadrático em função do incremento das doses de N aplicadas, cuja máxima produtividade (6.007 kg ha^{-1}) foi estimada com a dose de $113,1 \text{ kg de N por hectare}$ (Figura 6A). Em estudo, também em condições de Latossolo Vermelho distroférico na região de cerrado, Teixeira et al. (2010) observaram que a produtividade máxima de grãos de trigo de inverno aumentou somente até a dose de 121 kg ha^{-1} de N. resultados pouco superiores aos do presente estudo. No entanto, inferiores àqueles observados por Galindo

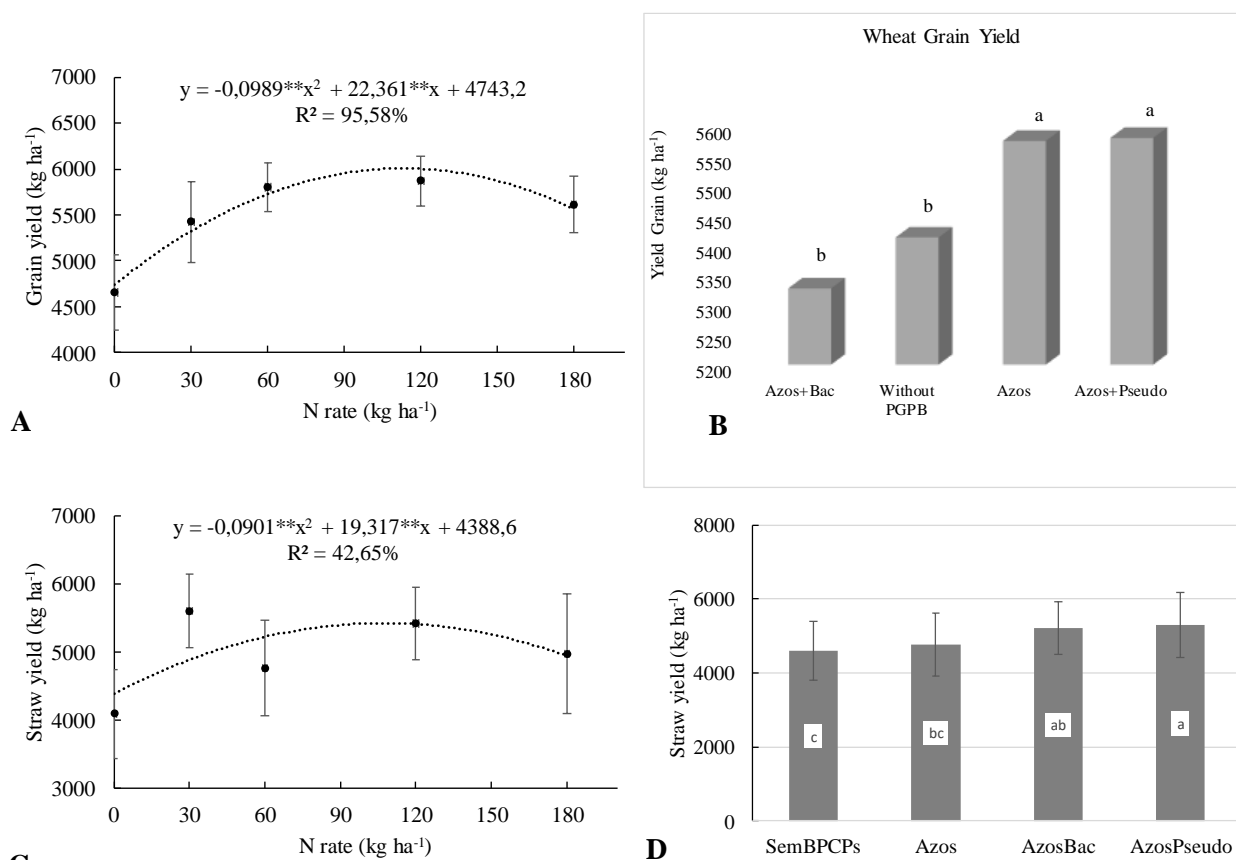
et al. (2017), testando doses de N até 200 kg ha⁻¹ de N, com e sem inoculação de *Azospirillum brasilense*, por duas safras, onde observaram que na primeira safra a produtividade de grãos do trigo aumentou linearmente com as doses de N quando sem inoculação; enquanto para os tratamentos inoculados, os dados ajustaram ao modelo quadrático, com resposta positiva até a dose de 139 kg ha⁻¹ de N. Já na segunda safra, os autores observaram que o rendimento de grãos ajustou a uma função quadrática nos tratamentos inoculados e não inoculados, com respostas positivas até as doses de 142 e 134 kg ha⁻¹ de N, respectivamente.

Com relação ao rendimento de grãos, vários estudos relataram resposta positiva à adubação nitrogenada em trigo (CAZETTA et al., 2007; TEIXEIRA FILHO et al., 2007, 2008, 2014). O máximo rendimento de grãos foi observado doses de N de 78 kg ha⁻¹ (CAZETTA et al., 2007), 90 kg ha⁻¹ (TEIXEIRA FILHO et al., 2007, 2008) e 120 kg ha⁻¹ (TEIXEIRA FILHO et al., 2010) em condições climáticas semelhantes para o cultivo de trigo como cultura de inverno na região de Cerrado de baixa altitude. Essas diferenças nas doses de N que proporcionam o máximo rendimento de grãos de trigo são em razão, principalmente, da exigência distinta de N de cada cultivar e das variações das condições edáficas e climáticas. No presente estudo, foi observado que a o ponto de máxima produtividade foi obtido com menor dose de N comparado a alguns dos estudos descritos anteriormente. Isto provavelmente se deve, em parte, à cultura cultivada anteriormente ao trigo neste estudo, ter sido a soja, que promove um aporte de considerável quantidade de N ao solo; além de os restos culturais desta leguminosa possuírem uma baixa relação C/N, que favorece os processos de decomposição/mineralização; assim, com um retorno maior e mais rápido de nutrientes ao solo, principalmente de N e, ainda, não promover a imobilização do N do solo e do fertilizante.

Prando et al. (2012a), avaliando as fontes de nitrogênio ureia, ureia + NBPT e ureia revestida, em outra condição climática (clima temperado), não observaram alteração na produtividade, massa de grãos, número de espigas m⁻², altura da planta e teor de nitrogênio na folha e no grão. Além disso, Prando et al. (2012b), em estudo complementar, não constataram efeito significativo na qualidade fisiológica das sementes de trigo. A maior produtividade de grãos, o aumento de espigas m⁻², a diminuição da massa hectolétrica e da massa de 1000 grãos com o aumento das doses de N também é relatada por Teixeira Filho et al. (2010).

Com relação às inoculações com bactérias promotoras de crescimento, o teste de médias não evidenciou diferença significativa entre a ausência de inoculação (sem BPCPs) e a inoculação

associada de *Azospirillum brasilense*+*Bacillus subtilis* na produtividade de grãos. Já as inoculações associadas de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* e somente *A. brasilense* proporcionaram maiores produtividade de grãos e, também, sem diferença estatística entre si.



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 6. Grain yield (A and B) and Straw yield dry mass (C and D) of irrigated wheat as affected by N rates - 0, 30, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹ associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* (A), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

Com relação ao uso de BPCPS, resultados positivos na cultura do trigo com o uso de *A. brasilense* foram relatados por Pereira et al. (2017), trabalhando com 60 kg ha⁻¹ de N e inoculação de sementes com *A. brasilense*. Segundo os autores, a inoculação resultou em um aumento de 11,1% na produtividade de grãos de trigo. Resultados semelhantes foram obtidos por Nunes et al. (2015), onde a produtividade do trigo foi 7,6% maior com a inoculação de *A. brasilense* quando comparada à testemunha, mesmo em uma área com alta disponibilidade de N (as culturas que antecederam o trigo foram a soja ou a cenoura - a soja é uma leguminosa com associação

simbiótica que permite a fixação de N₂). Alves et al. (2017) também verificaram aumento da produtividade do trigo com a inoculação de sementes com *A. brasilense* equivalente a 4,1%. No presente estudo, a inoculação com *A. brasilense* ou *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* proporcionou incremento equivalente a 3,1% na produtividade de grãos de trigo. Vale destacar que o cultivo anterior no verão foi soja, que deixa considerável quantidade de N no solo, além de os resíduos dessa cultura apresentarem baixa relação CN, que favorece o processo de decomposição/mineralização e, conseqüente aporte de N e outros nutrientes ao solo; além de não favorecer o processo de imobilização de N.

Quanto à produtividade de palha, ou seja, massa seca de restos culturais que permaneceram na área após a colheita do trigo, semelhantemente à produtividade de grãos, os dados ajustaram ao modelo quadrático, cujo máximo acúmulo (ponto de máximo) ocorreu com a doses 107 kg ha⁻¹ de N (Figura 6C). O trigo irrigado é um importante cereal como opção de uso no sistema de rotação de culturas, sobretudo com a cultura da soja de verão, uma vez que deixa considerável quantidade de restos culturais, que promovem boa cobertura do solo para o sistema plantio direto; além de os efeitos benéficos às propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. A palha na superfície do solo promove menor oscilação térmica, supressão de banco de sementes de plantas daninhas, além de favorecer à retenção de umidade e promover a reciclagem de consideráveis quantidades de macronutrientes e micronutrientes, como será demonstrado para o retorno de nutrientes ao solo pela palha do trigo neste estudo (Tabela 13). O aporte contínuo de restos culturais ao solo, também contribui para o incremento de matéria orgânica em médio prazo, que por sua vez, atua no aumento da capacidade de troca catiônica dos solos (CTC).

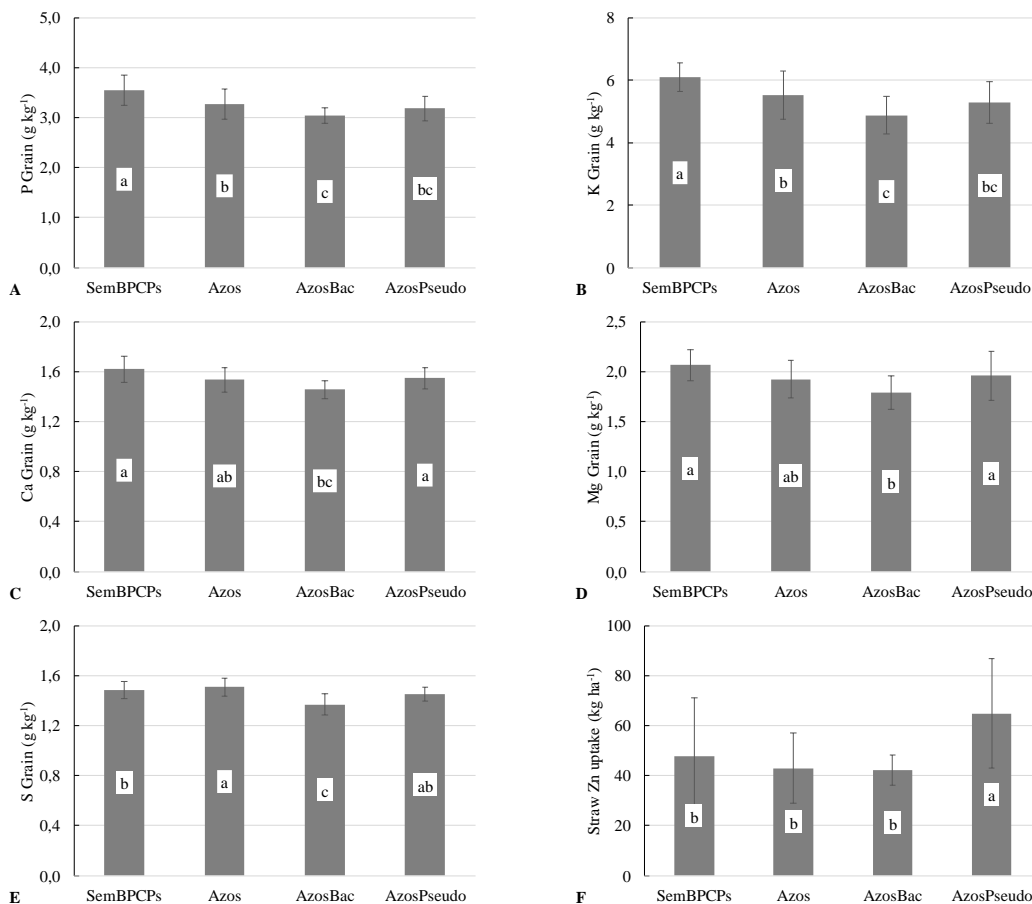
Independentemente de a inoculação isolada somente com *Azospirillum brasilense* ou associada de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*; ou *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*, o emprego da prática proporcionou maior acúmulo de palha comparado à ausência de inoculação, embora sem diferença significativa da inoculação de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* (Figura 6D).

Considerando-se as médias de produtividade de grãos e de palha, obteve-se um índice de colheita (IC) de 52% (IC = produtividade de grãos/ total de fitomassa acumulada*100). Vale destacar que a produtividade média de grãos foi de 5.472 kg ha⁻¹ de grãos, muito superior à média nacional, valor que equivale quase ao dobro da produtividade média brasileira, que é de 2,75 t toneladas de grãos por hectare. Estudos demonstram que apesar da grande dependência da importação de trigo, em que o Brasil que importou cerca de 6,7 milhões de toneladas em 2021,

com gastos superiores a U\$ 1,3 bilhão (EMBRAPA, 2021), o país possui um enorme potencial para aumentar a produção de grãos desta cultura, podendo a médio prazo tornar-se autossuficiente e até passar para a condição de exportador deste cereal, caso a produção de trigo seja expandida outras regiões, a exemplo na região do Cerrado (PASINATO et al., 2018). Soares et al. (2021) e Silva et al. (2020) constataram produtividades de até 5.302 kg ha⁻¹ e 3.600 kg ha⁻¹, respectivamente, para a cultura do trigo no Cerrado sob diferentes condições hídricas.

5.2 Extração e Exportação de Macronutrientes e Micronutrientes pela Cultura do Trigo sob Inoculação com Bactérias Promotoras de Crescimento e Doses de Nitrogênio

Observa-se na Figura 7A, que os teores de P nos grãos foram maiores no tratamento não inoculado com BPCPS, cujo tratamento apresentou menor produtividade de grãos. Isto pode estar relacionado ao efeito diluição, que pode ter ocorrido nos tratamentos que tiveram maiores produtividades de grãos. Da mesma forma, ocorreu para os teores K, de Ca e de Mg, conforme demonstrado, respectivamente, nas Figuras 7B, 7C e 7D; embora para cálcio e magnésio não tenha diferido significativamente dos teores com o uso de semente de *Azospirillum brasilense* ou de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*. Já o teor de S foi maior com a inoculação de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* ou somente *Azospirillum brasilense*, em comparação à ausência de inoculação ou a inoculação com *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* (Figura 7E). Quanto aos teores magnésio, estes também foram maiores com a inoculação associada de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis* (Figura 7F).



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 7. Values of macronutrients P (A), K (B), Ca (C), Mg (D), (S) and (Zn) content in the grains of wheat irrigated, as affected by associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, by seeds, and N rates, Selvíria, MS, 2023.

Com relação ao teor de N nos grãos de trigo em função da adubação nitrogenada, ocorreu aumento linear crescente com o incremento da dose N-fertilizante (Figura 8B). Isto evidencia que a adubação nitrogenada tem influência direta na alocação deste nutriente nos grãos desse cereal, o que reflete na qualidade tecnológica do grão de trigo, uma vez que os teores de proteína têm relação direta com a concentração de N nos grãos. Vale destacar que no caso do trigo, além de a importância do N para o aumento da produtividade de grãos, esse nutriente tem influência na qualidade da matéria prima. No entanto, na relação entre qualidade dos grãos e nitrogênio, ainda há muita divergência entre os obtentores (empresas que desenvolvem as cultivares). Evidências em experimentos da pesquisa sugerem que ao se aportar N ao solo na forma de fertilizante, em qualquer estágio da planta, a força de glúten (W) aumenta levemente, em razão de pequeno

aumento do teor de proteínas (glutenina e gliadina) no grão. No entanto, o desafio é fazer com que o grão apresente maiores teores destes componentes como consequência da aplicação de N ao solo e, internamente, induzir a planta a converter esse N em compostos que melhorem a capacidade de panificação da farinha (GUARIENTI et al., 2013; PINNOW et al., 2013; CAIERAO; PIRES, 2023). Uma prática que tem sido utilizada nas lavouras de trigo da Região Sul do Brasil é a realização de uma terceira dose de N no espigamento do trigo, cuja finalidade do reforço na adubação nitrogenada é aumentar o teor de proteínas dos grãos, prática empregada em muitos países onde a proteína estabelece o critério de comercialização. No Brasil, o principal critério de classificação comercial do trigo é a força de glúten (W), que nem sempre apresenta relação com o teor de proteínas (GUARIENTI et al., 2013; PINNOW et al., 2013).

Quanto aos teores de fósforo nos grãos de trigo em função das doses de N, observou-se ajuste ao modelo linear decrescente (Figura 8C). Tal fato pode estar relacionado ao “efeito diluição”, uma vez que o acúmulo de biomassa de grãos foi estimado até a dose de 113 kg ha⁻¹ de N (8A). Enquanto para os teores de enxofre nos grãos, os dados ajustaram ao modelo quadrático, cujos teores nos grãos aumentaram (ponto de máximo) até a dose de 108 kg ha⁻¹ de N (Figura 8D).

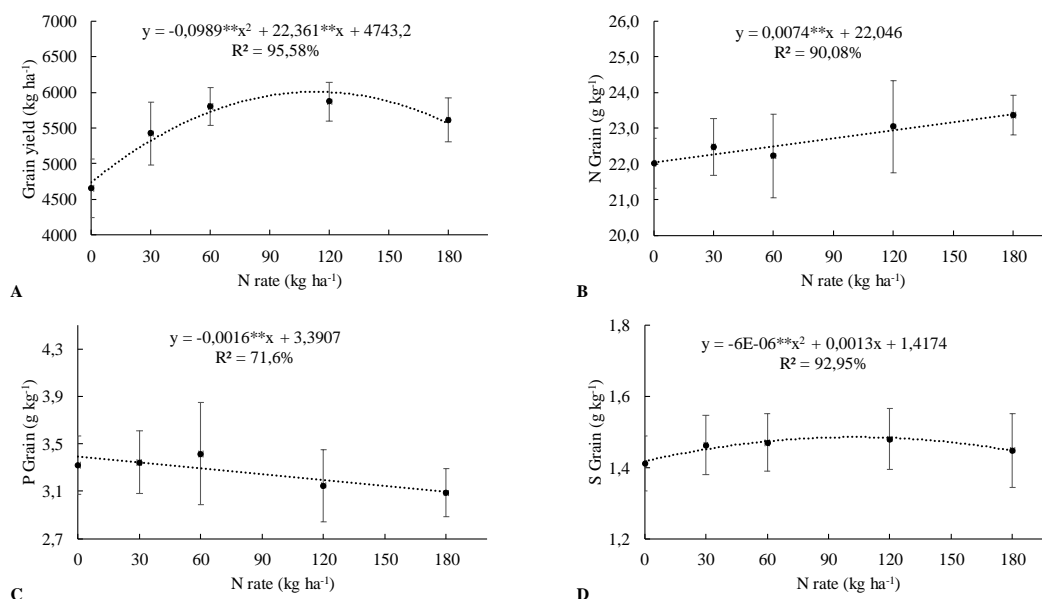


Figure 8. Values of grain yield (A) na of nitrogen (B), phosphorus - P (C), and sulphur (D), content in the grains of wheat irrigated, as affected by N rates, associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPB) - *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, by seeds, and Selvíria, MS, 2023.

À exceção da quantidade de K acumulado na parte aérea do trigo (grãos + palha), para os macronutrientes; e das quantidades de Fe e Mn para os micronutrientes, a análise de variância mostrou efeito significativo isolado sobre a quantidade de todos os demais nutrientes em função da inoculação com BPCPS (PGPBs). Com relação às doses de N (N rate), houve efeito significativo isolado sobre o acúmulo na parte aérea do trigo de todos os macronutrientes e micronutrientes avaliados (Tabela 8). Quanto à interação entre os fatores (PGPBxNrate), a ANAVA mostrou efeito significativo sobre os acúmulos na parte aérea de todos os macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e K); assim como para os acúmulos dos micronutrientes Cu e Zn.

Observa-se na Tabela 9, pelas médias de total de macronutrientes extraídos (acumulados) pela parte aérea do trigo (palha + grãos), que a extração seguiu a ordem decrescente: N ($156,8 \text{ kg ha}^{-1}$) > K ($115,2 \text{ kg ha}^{-1}$) > Ca ($28,1 \text{ kg ha}^{-1}$) > P ($20,3 \text{ kg ha}^{-1}$) > Mg ($18,3 \text{ kg ha}^{-1}$) > S ($15,6 \text{ kg ha}^{-1}$) e para micronutrientes foi: Fe ($3404,7 \text{ g ha}^{-1}$) > Mn ($751,2 \text{ g ha}^{-1}$) > Zn ($233,7 \text{ g ha}^{-1}$) > Cu ($202,8 \text{ g ha}^{-1}$) > B ($127,0 \text{ g ha}^{-1}$). Observa-se que o nitrogênio foi o nutriente extraído em maior quantidade pelo trigo, cujos valores foram até superiores à maioria das doses de N testadas neste estudo (0, 30, 60, 120 e 180 kg ha^{-1} de N). Isto sugere a necessidade de adoção de tecnologias e práticas de manejo que promovam o aporte desse nutriente ao solo; assim como que minimizem as perdas passíveis de ocorrência desse nutriente, sobretudo por volatilização de amônia (NH_3), lixiviação de nitrato (NO_3^-), desnitrificação (óxido nitroso - N_2O) e erosão; além de a imobilização microbiana de N, que propriamente não configura em um processo de perda de N no sistema solo-planta, mas pode promover um assincronismo entre a demanda da planta pelo nutriente e sua disponibilidade no solo para absorção. É importante ressaltar, ainda, que os processos de perdas de N além de o prejuízo econômico, promovem prejuízos ambientais, a exemplo da contaminação de recursos hídricos por nitrato e da atmosfera por óxido nitroso, uma vez que é um dos gases causadores do efeito estufa.

O potássio foi o segundo macronutriente mais extraído pelo trigo, em média $115,2 \text{ kg ha}^{-1}$; contudo, geralmente a maior parte desse nutriente é restituída ao solo pelos restos culturais pela maioria das gramíneas, quando a parte aérea não é removida da área e, como ficou demonstrado no presente estudo, a massa seca de palha representou 48% do total de fitomassa de parte aérea acumulada pela planta de trigo (Figuras 6B e 6D).

Table 8. Mean squares of the analysis of variance for accumulated (uptake) nutrients quantity by above ground part (grain + straw) of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	DF	— Mean Square - Accumulated Macronutrient—						— Mean Square – Accumulated Micronutrient —				
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		----- (kg ha ⁻¹) -----						----- (g ha ⁻¹) -----				
PGPBs*	3	1600,93**	39,68**	277,52 ^{ns}	122,40**	15,86**	13,423**	1879,76*	29531,32**	7001675,8 ^{ns}	37793,9 ^{ns}	22079,5**
N Rate	4	5267,53**	50,16**	2913,56**	112,65**	36,06**	43,946**	6781,14**	78584,82**	42966282,1*	96699,2**	17216,1**
PGPBxN	12	185,57*	6,63*	513,10**	35,87**	4,267*	2,349*	718,05 ^{ns}	34915,42**	7334410,1 ^{ns}	31892,8 ^{ns}	3872,56**
Blocks	3	76,39 ^{ns}	3,79 ^{ns}	175,22 ^{ns}	2,64 ^{ns}	0,758 ^{ns}	0,459 ^{ns}	1266,20 ^{ns}	6238,999 ^{ns}	10575590,6 ^{ns}	41563,1 ^{ns}	1946,74 ^{ns}
Residue	57	81,23	2,38	180,36	7,28	1,865	1,114	637,90	8405,23	4181682,4	20450,2	711,33
C.V.		5,8	7,6	11,7	9,6	7,5	6,9	19,8	45,2	60,0	19,0	11,4

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

Table 9. Accumulated nutrient total quantity by above ground part (grains + straw) of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

	— Accumulated Macronutrient (Grain + Straw)—						— Accumulated Micronutrient (Grain + Straw) —					
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
		----- (kg ha ⁻¹) -----						----- (g ha ⁻¹) -----				
Without Inoculation	145,9	20,5	112,0	25,8	18,0	14,5	126,2	228,9	2899,4	731,0	263,2	
<i>Azospirillum</i>	157,5	21,4	117,8	26,9	18,2	16,3	124,0	239,7	4223,7	802,9	234,7	
<i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	156,0	18,2	111,9	28,2	17,4	15,4	140,4	157,2	3441,7	703,1	187,0	
<i>Azos.</i> + <i>Pseudomona</i>	167,8	21,0	118,9	31,5	19,5	16,0	117,4	185,3	3054,2	767,8	249,9	
Overall Mean	156,8	20,3	115,2	28,1	18,3	15,6	127,0	202,8	3404,7	751,2	233,7	

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

Para o acúmulo de nutrientes nos grãos de trigo, a análise de variância evidenciou efeito significativo da inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas – BPCPS (plant growth-promoting bacteria -PGPBs), assim como de doses de nitrogênio (N rate) para a quantidade de todos os macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S), assim como todos os micronutrientes avaliados (B, Cu, Fe, Mn e Zn). Já com realção à interação entre os fatores (PGPB x N rate), a ANAVA não mostrou efeito significativo apenas para os macronutrientes K e S e para o micronutriente Mn, sendo que todos os demais tiveram efeito significativo entre os dois fatores, que evidencia uma dependência da resposta entre estes (Tabela 10).

Considerando-se os teores macronutrientes e de micronutrientes nos grãos do trigo e a respectiva produtividade de grãos, como demonstrado anteriormente (Figuras 6A e 6B), observa-se na Tabela 11, que os totais de nutrientes acumulados nos grãos seguiu a ordem decrescente: N ($124,0 \text{ kg ha}^{-1}$) > K ($29,8 \text{ kg ha}^{-1}$) > P ($17,8 \text{ kg ha}^{-1}$) > Mg ($10,6 \text{ kg ha}^{-1}$) > Ca ($8,4 \text{ kg ha}^{-1}$) = S ($8,0 \text{ kg ha}^{-1}$) >> Fe ($1186,3 \text{ g ha}^{-1}$) > Mn ($335,3 \text{ g ha}^{-1}$) > Zn ($183,3 \text{ g ha}^{-1}$) > Cu ($113,7 \text{ g ha}^{-1}$) > B ($34,2 \text{ g ha}^{-1}$). O N foi o macronutriente acumulado em maior quantidade nos grãos de trigo, seguido do K, embora a quantidade total de potássio extraída pela parte aérea da planta (grãos + palha) tenha sido de $115,2 \text{ kg ha}^{-1}$, conforme demonstrado anteriormente na Tabela 9, o acúmulo nos grãos (parte exportada da área com a colheita) correspondeu à apenas pouco mais 1/4 (25,86%) da quantidade acumulada nos grãos de trigo. Assim, evidencia que a maior parte do potássio extraído foi acumulado (alocado) na palha (Tabela 13). O K não faz parte de nenhum composto estrutural da planta, assim é rapidamente liberado com o processo de decomposição; diferentemente do N e outros nutrientes, cuja liberação depende do processo de mineralização.

É importante destacar que esta quantidade de nutrientes acumulada nos grãos compreende à fração que é exportada da lavoura juntamente com o produto colhido; assim, torna-se relevante sua avaliação em estudos agronômicos que envolvam fertilidade do solo e nutrição de plantas, para notar práticas de manejos e a tomada de decisão na recomendação de adubação, para a reposição de nutrientes ao solo, visando a manutenção dos estoques no solo e do potencial produtivo do solo em longo prazo (Tabela 11).

Table 10. Mean squares of the analysis of variance for accumulated nutrients quantity by grain of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	DF	Mean Square - Accumulated Macronutrient (Grain)						Mean Square - Accumulated Micronutrient (Grain)				
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
PGPBs*	3	617,64**	26,05**	143,057**	3,977**	9,142**	5,325**	491,12**	25598,82**	8508975,36**	36143,63**	17555,81**
N Rate	4	2952,29**	38,425**	134,208**	14,055**	14,827**	11,719**	155,02**	28166,02**	10996116,12**	29127,78**	11412,59**
PGPBxN	12	124,16*	5,901**	21,045 ^{ns}	0,806*	2,186*	0,399 ^{ns}	57,39**	10748,37*	4466699,78*	5941,96 ^{ns}	3631,483**
Blocks	3	74,47 ^{ns}	1,972 ^{ns}	16,781 ^{ns}	0,210 ^{ns}	0,722 ^{ns}	0,362 ^{ns}	42,082	2133,502 ^{ns}	5358114,69 ^{ns}	905,81 ^{ns}	1184,369
Residue	57	56,24	2,264	12,425	0,396	1,122	0,280	22,288	4665,433	1872132,47	4106,89 ^{ns}	599,964
C.V.		6,1	8,4	11,8	7,5	10,1	6,6	13,8	29	27	19,1	13,3

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

Table 11. Accumulated nutrient quantity by grains of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	— Accumulated Macronutrient (Grain) —						— Accumulated Micronutrient (Grain) —				
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- (kg ha ⁻¹) -----						----- (g ha ⁻¹) -----				
Without Inoculation	117,6	18,8	32,2	8,6	10,9	7,9	34,4	141,7	1225,1	364,4	215,1
<i>Azospirillum</i>	129,1	18,4	31,2	8,7	10,9	8,5	40,3	144,2	2038,7	371,1	191,1
<i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	121,0	16,2	26,1	7,8	9,6	7,3	28,1	70,1	465,8	278,5	143,8
<i>Azos.</i> + <i>Pseudomona</i>	128,0	17,9	29,8	8,7	11,0	8,2	34,1	98,9	1015,6	327,1	183,2
Overall Mean	124,0	17,8	29,8	8,4	10,6	8,0	34,2	113,7	1186,3	335,3	183,3

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

A análise de variância mostrou efeito significativo isolado da inoculação com BPCPS sobre os acúmulos na palha do trigo dos micronutrientes N, P, Ca, Mg e S (restos culturais); enquanto para os macronutrientes, foi observado efeito significativo apenas para a quantidade de boro acumulado na palha (Tabela 12). Com relação às doses de N (N rate), não foi observado efeito significativo deste fator somente sobre o acúmulo na palha do trigo de P, Cu e Mn. Já quanto à interação entre os fatores (PGPBxNrate), foi observado efeito significativo apenas sobre os acúmulos dos macronutrientes N, K, Ca e Mg. Para os micronutrientes, não houve efeito significativo da interação entre os dois fatores, ou seja, apenas efeito isolado (Tabela 12).

Quanto ao acúmulo de macronutrientes e micronutrientes na palha do trigo, observa-se pela Tabela 13, que os acúmulos seguiu a ordem decrescente: K (85,4 kg ha⁻¹) > N (32,8 kg ha⁻¹) > Ca (19,6 kg ha⁻¹) > Mg (7,7 kg ha⁻¹) > S (7,6 kg ha⁻¹) > P (2,5 kg ha⁻¹) >> Fe (2218,4 g ha⁻¹) > Mn (415,9 g ha⁻¹) > B (92,8 g ha⁻¹) > Cu (89,0 g ha⁻¹) > Zn (50,4 g ha⁻¹). Vale ressaltar que os nutrientes contidos na palha do trigo, referem-se à fração que é restituída ao solo pelos restos culturais. Normalmente, a cultura do trigo produz uma boa quantidade de palha, que proporciona boa cobertura do solo e promove a reciclagem de nutrientes, em especial de potássio, que como é possível de ser observado na Tabela 13, a quantidade desse nutriente contida nos restos culturais equivale mais do que 2,5 vezes àquela de N na palha e muito superior à dos demais macronutrientes.

Considerando-se a redistribuição do N absorvido nas partes da planta, em média 79% do N foi alocado nos grãos, e 21% na palha. Isto, evidencia que a maior parte do N absorvido e exportada juntamente com os grãos colhidos e apenas pouco mais de um quinto desse nutriente é restituído ao solo pelos restos culturais. Já com relação ao potássio ocorreu o inverso, ou seja, menor quantidade foi exportada nos grãos (25%), enquanto a maior parte acumulada (75%) na palha do trigo, foi restituída ao solo pelos restos culturais. Neste aspecto, vale ressaltar que o Brasil é responsável por cerca de 8% do consumo global de fertilizantes, ocupando a quarta posição, atrás apenas da China, Índia e dos Estados Unidos. Soja, milho e cana-de-açúcar respondem por mais de 73% do consumo de fertilizantes no país (MAPA, 2023), cuja maior parte é importada.

Neste contexto, a Associação Nacional para a Difusão de Adubos (ANDA) revelou que mais de 70% dos fertilizantes usados na agricultura brasileira são importados, sendo as maiores dependências externas do país, o cloreto de potássio (95%), nitrogênio (80%) e fosfato (60%). O desembolso passou de US\$ 8,59 bilhões, em 2018, para US\$ 24,76 bilhões em 2022 (ANDA, 2023). Isto justifica a busca de fontes alternativas de nutrientes, como de tecnologias e práticas de manejo que promovam o aporte e a reciclagem de nutrientes, assim como aumentem a eficiência de uso dos nutrientes pelas plantas, visando racionalizar o uso de fertilizantes minerais e reduzir custos, sem prescindir as culturas de produtividade elevadas.

Table 12. Mean squares of the analysis of variance for accumulated nutrients quantity by straw (crop residue) of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	DF	Mean Square - Accumulated Macronutrient (Straw)						Mean Square - Accumulated Micronutrient (Straw)				
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		----- (kg ha ⁻¹) -----						----- (g ha ⁻¹) -----				
PGPBs*	3	613,618**	8,274**	315,135 ^{ns}	120,564**	7,180**	8,583**	3687,48**	372,136 ^{ns}	6021623,11 ^{ns}	22503,46 ^{ns}	2462,63**
N Rate	4	403,955**	0,964 ^{ns}	1936,220**	54,471**	6,571**	12,276**	5408,05**	17891,136 ^{ns}	10900427,87**	34898,20 ^{ns}	729,71**
PGPBxN	12	56,591**	0,576 ^{ns}	463,417**	35,271**	2,753**	1,9052 ^{ns}	843,592 ^{ns}	11700,776 ^{ns}	4881873,98 ^{ns}	26767,61 ^{ns}	309,83 ^{ns}
Blocks	3	6,260 ^{ns}	0,354 ^{ns}	90,164 ^{ns}	3,072 ^{ns}	0,674 ^{ns}	0,0383 ^{ns}	854,114 ^{ns}	7015,580 ^{ns}	1757694,06 ^{ns}	32485,51 ^{ns}	269,29 ^{ns}
Residue	57	21,573	0,492	158,436	6,946	0,751	1,1902	643,143	8826,006	2587091,83 ^{ns}	14130,14	189,72
C.V.		14,15	28,5	14,7		11,2	14,3	27,3	105	72	28,6	27,3

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

Table 13. Accumulated nutrient quantity by straw (crop residue) of irrigated wheat for macronutrient (N, P, K, Ca, Mg and S) and micronutrient (B, Cu, Fe, Mn and Zn), as affected by the N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

FV	— Accumulated Macronutrient (Straw) —						— Accumulated Micronutrient (Straw) —					
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
		----- (kg ha ⁻¹) -----						----- (g ha ⁻¹) -----				
Without Inoculation	28,3	1,7	79,8	17,2	7,1	6,6	91,9	87,1	1674,3	366,6	48,1	
<i>Azospirillum</i>	28,4	3,0	86,6	18,2	7,3	7,8	83,8	95,5	2185,0	431,8	43,6	
<i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	35,0	2,0	85,8	20,4	7,8	8,1	112,3	87,1	2975,9	424,6	43,2	
<i>Azos.</i> + <i>Pseudomona</i>	39,8	3,1	89,1	22,8	8,5	7,8	83,3	86,4	2086,3	442,7	67,4	
Overall Mean	32,8	2,5	85,4	3,0	86,6	18,2	92,8	89,0	2218,4	415,9	50,4	

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively. *PGPBs were: *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *brasilense*+*Pseudomona fluorescens* and Without Inoculation with PGPB. C.V. = coefficient of variation.

5.3 Eficiência de Utilização do Nitrogênio do Fertilizante (^{15}N) e do Solo pelo Trigo sob Inoculação com Bactéria Promotoras de Crescimento e Adubação Nitrogenada

Os resultados da Tabela 14, indicam efeitos significativos dos tratamentos em várias das variáveis analisadas. Observações essas que evidenciam que para o Conteúdo de Nitrogênio (N content straw e grain - g kg^{-1}), houve efeitos significativos tanto dos tratamentos BPCPs (PGPBs) quanto de Dose N (N Rate), indicando a influência destes na concentração de nitrogênio tanto na palha quanto nos grãos de trigo. Para a Massa Seca de Palha (Straw dry mass - kg ha^{-1}) e Rendimento de Grãos (Grain yield - kg ha^{-1}), ambos os fatores proporcionaram efeitos significativos, sugerindo um impacto direto desses na produção de biomassa de palha e na produtividade de grãos.

Quanto à porcentagem e quantidade de nitrogênio na planta derivada do fertilizante (NPdff, % e ANPdff, kg ha^{-1}), os tratamentos tiveram efeitos significativos tanto na palha quanto nos grãos, influenciando a quantidade e a distribuição do nitrogênio na planta (Tabela 14). Em algumas variáveis como massa seca de palha, N acumulado, quantidade de N na planta derivado do fertilizante, teor de N e quantidade de N na planta proveniente do solo (Straw dry mass, Accumulated N, ANPdff Straw, N Content grain, and NPdfs), a interação entre fatores/tratamentos (PGPB*N rate) mostrou ser significativa, sugerindo que a combinação dos fatores afeta de maneira diferente as variáveis em comparação com os tratamentos individuais.

Com relação à eficiência no uso do nitrogênio (NUE, %), também cognominada de aproveitamento ou recuperação do nitrogênio (N Recovery), observou-se que, tanto para palha (Straw) quanto para grãos (Grain) de trigo, o uso das BPCPs e de diferentes doses de N mostraram efeitos significativos (Tabela 14). Isso implica uma melhoria potencial na eficiência do uso de nitrogênio devido aos tratamentos. Para o Nitrogênio Acumulado (Accumulated N, kg ha^{-1}), observou-se significância em todos os tratamentos e interações tanto para palha como para grãos, indicando alterações substanciais no nitrogênio absorvido e acumulado pela planta de trigo devido aos diferentes tratamentos.

De maneira geral, a análise de variância revelou que tanto os tratamentos BPCPs quanto Dose de N tiveram impactos significativos em várias variáveis relacionadas ao nitrogênio na planta de trigo derivado do fertilizante e do N do solo (“N native”) e outras fontes (Tabela 14). As interações entre esses tratamentos também mostraram efeitos significativos em algumas variáveis, o que evidencia a importância de considerar a combinação de fatores em estudos agrônômicos, a

exemplo do uso de BPCPS. Pesquisas dessa natureza são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de manejo eficientes que maximizam a eficiência do uso de nitrogênio, aumente a produtividade de culturas e racionalize o uso de fertilizantes minerais, com menores impactos ambientais.

Table 14. Analysis of variance (ANOVA) of the effects of treatments plant growth-promoting bacteria – PGPB (Without Inoculation, *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; and *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*), by seeds, and nitrogen rate (0, 30; 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹) on grain and straw yield, N content, accumulated N, ¹⁵N concentration in plant, percentage and amount of N in plant derived from fertilizer and from soil (N uptake), N fertilizer recovery or nitrogen use efficiency (NUE) by wheat plant, using the ¹⁵N isotopic dilution technique, by irrigated wheat, Selvíria, MS, 2023.

Variable Analyzed	Medium Square		
	PGPB1	N Rate	PGPB * N Rate
N contente straw	8.677240*	2.531823*	0.432378 ^{ns}
Straw dry mass	854028.765625 ^{ns}	927792.182292 ^{ns}	761632.168403*
Accumulated N	486.386250 ^{ns}	31.683750 ^{ns}	54.938333*
¹⁵ N in straw	0.032240*	0.386823*	0.007517 ^{ns}
NPdff Straw	153.766042*	1895.982708*	41.140903 ^{ns}
ANPdff Straw	90.223906 ^{ns}	290.688073 ^{ns}	15.248628*
NUE Straw	84.920573*	146.558906*	4.082378 ^{ns}
N contente grain	0.152917 ^{ns}	1.729167 ^{ns}	0.742917*
Grain yield	805210.729167*	1061169.062500*	135581.895833 ^{ns}
Accumulated N	647.654375 ^{ns}	791.819375 ^{ns}	91.559792*
¹⁵ N in grain	0.057292*	0.301875*	0.013542 ^{ns}
NPdff grain	253.910573*	1507.305573*	69.984462 ^{ns}
ANPdff grain	657.867917*	3116.005417*	114.227222 ^{ns}
NUE grain	388.852083*	1443.397083*	73.961111 ^{ns}
NUE grain+palha	820.481823*	2568.540156*	66.354045 ^{ns}
ANPdff grain+straw	1158.279375*	5292.722708*	177.679792 ^{ns}
N accumulated	1567.828542*	988.321875*	144.780347 ^{ns}
NPDFS	42.800573 ^{ns}	1654.815990 ^{ns}	432.685573*

Obs. Ns, ** and *: No significant and significant by the F test at 1 and 5%, respectively.

Observou-se para o conteúdo (teor) de N na palha (N Content in Straw, g kg⁻¹), que o tratamento "Azos+Pseudo" destacou-se significativamente dos demais, apresentando a maior média de conteúdo de N palha, que compreende os restos culturais que permanece no campo, passíveis de reciclar nutrientes ao solo, além de outros efeitos benéficos (Figura 9A). Tal observação sugere uma maior eficiência desse tratamento na absorção e consequente acúmulo de N nessa parte da planta. Por outro lado, os tratamentos inoculados com "Azos", "Azos+Bac" ou "Sem BPCPs", não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. Isso indica uma similaridade na eficiência desses tratamentos em relação à absorção e acúmulo de nitrogênio na palha.

Quanto à concentração de ¹⁵N na palha (¹⁵N in Straw, % de átomos de ¹⁵N), valor este utilizado na equação da diluição isotópica para calcular a %NPdff, o maior valor de concentração de ¹⁵N foi observada no tratamento "Azos+Pseudo" (Figura 9B). Isso pode refletir uma maior absorção e melhor assimilação ou menor perda de N proveniente do fertilizante nesse tratamento em que se inoculou com essas duas bactérias conjuntamente. Por sua vez, as inoculações com "Azos" e "Azos+Bac" apresentaram médias intermediárias e não diferiram estatisticamente entre si, indicando um desempenho similar. Já o tratamento "Sem BPCPs" apresentou a menor concentração de ¹⁵N. Isto sugere que a absorção de N do fertilizante foi inferior aos tratamentos que receberam inoculação de BPCPs, sobretudo de "Azos+Pseudo", do qual diferiu significativamente.

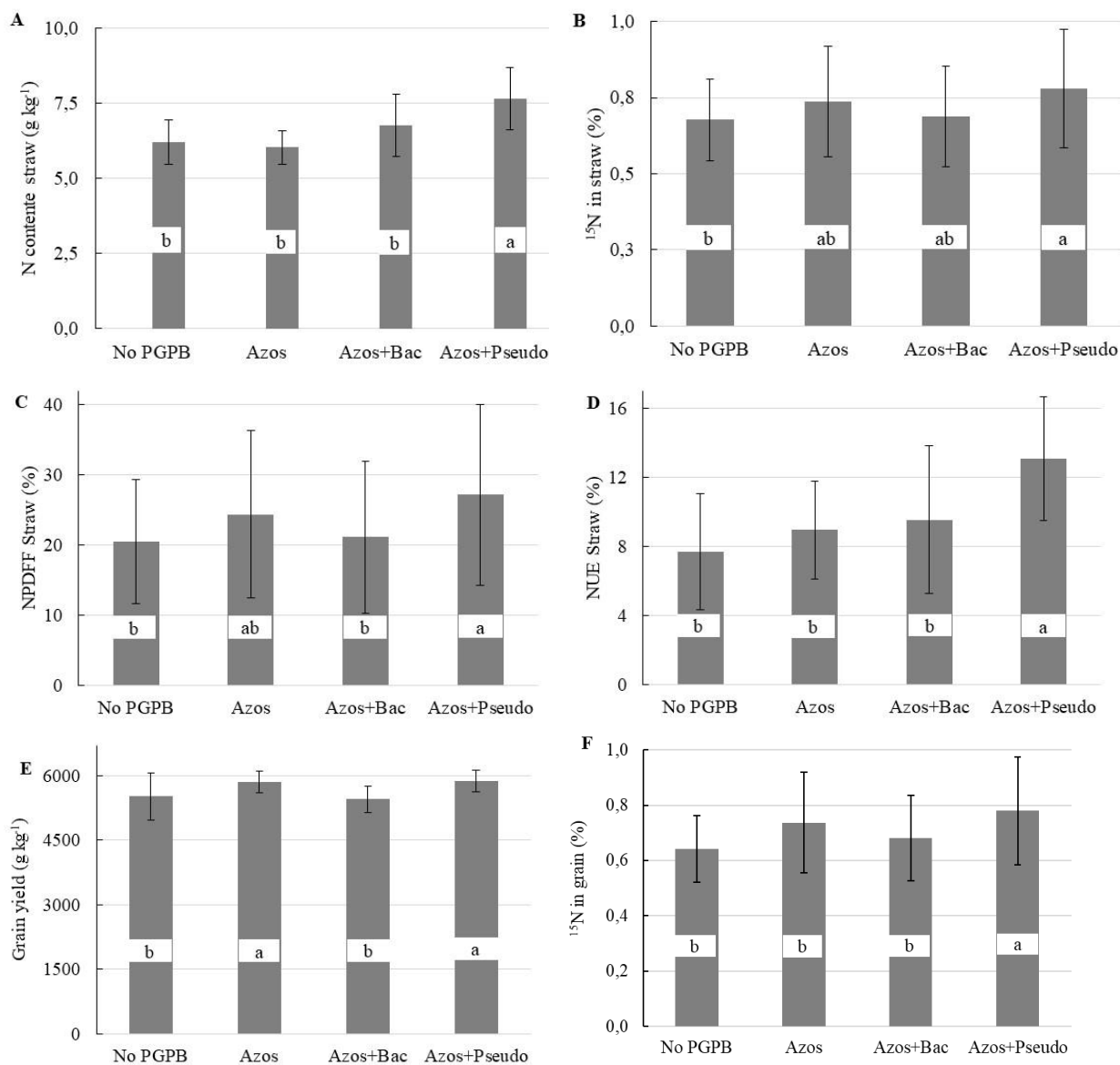
Para a porcentagem de nitrogênio na palha proveniente do fertilizante (NPdff Straw, %), o tratamento inoculado com "Azos+Pseudo" mostrou valor superior de NPdff (Nitrogen in Plant Derived From Fertilizer) na palha de trigo (Figura 9C), o que evidencia uma maior absorção do nitrogênio do fertilizante com a inoculação dessas duas bactérias conjuntamente. A inoculação somente de "Azos" também apresentou uma diferença significativa em relação ao tratamento "Sem BPCPs" e "Azos+Bac", indicando uma eficiência maior na utilização do nitrogênio do fertilizante.

Com relação à eficiência de utilização de nitrogênio, aproveitamento ou recuperação do N do fertilizante na palha de trigo - NUE Straw (%), ou seja, valor relativo às respectivas doses de N aplicadas, a inoculação de "Azos+Pseudo" se destacou com a maior média de NUE pela palha (Figura 9D). Este resultado é um indicativo de que a associação dessas duas bactérias favoreceu por diferentes mecanismos a capacidade da planta em absorver o N do fertilizante. Os demais tratamentos não mostraram diferenças significativas entre si, sugerindo uma eficiência semelhante

das distintas inoculações e a ausência dessa prática para a NUE na palha. Estudos demonstram que as BPCPs influenciam o desenvolvimento das plantas por diversos mecanismos (ações), sobretudo o crescimento do sistema radicular, responsável pela absorção de água e nutrientes (HUNGRIA et al., 2016; GALINDO et al., 2016; MARTINS et al., 2018; GALINDO; TEIXEIRA FILHO, 2019).

Quanto à Produtividade de grãos de trigo - Grain Yield (kg ha^{-1}), os tratamentos com a inoculação conjunta de Azos+Pseudo" e somente de "Azos" tiveram maior rendimento de grãos comparados aos demais tratamentos, diferindo significativamente de "Azos+Bac" e "Sem BPCPs" (Figura 9E). Tal fato, possivelmente foi devido as essas bactérias terem favorecido o desenvolvimento da planta de trigo por diversos mecanismos, sobretudo maior desenvolvimento do sistema radicular; assim, proporcionando maior absorção de N e outros nutrientes de plantas, além de, possivelmente, mitigação de estresses abióticos, que são fatores que afetam o rendimento das culturas (BASHAN; DE-BASHAN, 2010; MEZA et al., 2015; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016), o que refletiu positivamente em maior produtividade de grãos, assim como de palha, como ficou demonstrado anteriormente mais detalhadamente nas Figuras 6B e 6D.)

Observou-se para a concentração de ^{15}N (^{15}N in Grain, %), que os tratamentos com a inoculação de "AzosPseudo" e "Azos" apresentaram as maiores concentrações de ^{15}N nos grãos, o que pode refletir uma maior absorção e melhor translocação de N para os grãos nesses tratamentos (Figura 9F), uma vez que o grão de cereais, a exemplo do trigo, é o principal dreno de nitrogênio (Teixeira et al., 2010). Já os tratamentos não inoculados ("SemBPCPs") mostrou a menor concentração de ^{15}N nos grãos, o que indica menor absorção e consequentemente, uma menor translocação de nitrogênio marcado para os grãos.



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 9. Effects of treatments plant growth-promoting bacteria – PGPB (*Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* and without inoculation), by seeds, and nitrogen rate (0, 30; 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹), applied in topdressing to irrigated wheat on the nitrogen content in straw (A); ¹⁵N concentration in straw plant (B); percentage of N in straw plant derived from fertilizer – NPDF (C); nitrogen from fertilizer recovery or nitrogen use efficiency (NUE) by straw (D); grain yield plant (E) and ¹⁵N concentration in grain plant in irrigated wheat (F), Selvíria, MS, 2023.

Observa-se na Figura 10A que a inoculação conjunta de "Azos+Pseudo" e de "Azos" isoladamente, proporcionaram maiores %NPdff nos grãos de trigo; enquanto "Azos+Bac" e "Sem BPCPs" apresentam menores valores, o que se deve, em parte, ao menor rendimento de grãos obtidos nesses tratamentos e, conseqüentemente menor quantidade de N acumulada nesse tratamento.

Os tratamentos "Azos+Pseudo" e "Azos" propiciaram maiores quantidades de N nos grãos proveniente do fertilizante nos grãos de trigo – ANdff, kg ha⁻¹ (Figura 10B), o que certamente foi graças a diversas ações benéficas ao desenvolvimento e metabolismo da planta que essas BPCPs promoveram, sobretudo maior desenvolvimento radicular, que favoreceu a maior absorção do N fertilizante, além de a de água e outros nutrientes, que possivelmente refletiu de forma positiva no desenvolvimento da planta, com reflexo, também, em maior produtividade de grãos e de palha (GALINDO; TEIXEIRA et al., 2019). Com isso, proporcionaram maiores quantidades de nitrogênio do fertilizante e do solo absorvido pela planta, refletindo numa maior eficiência na conversão do nitrogênio aplicado em biomassa de grãos. A ausência de inoculação ("SemBPCPs") proporcionou a menor ANdff Grain (kg ha⁻¹), assim como demonstrado anteriormente para a palha, o que evidencia o benefício do uso de BPCPs.

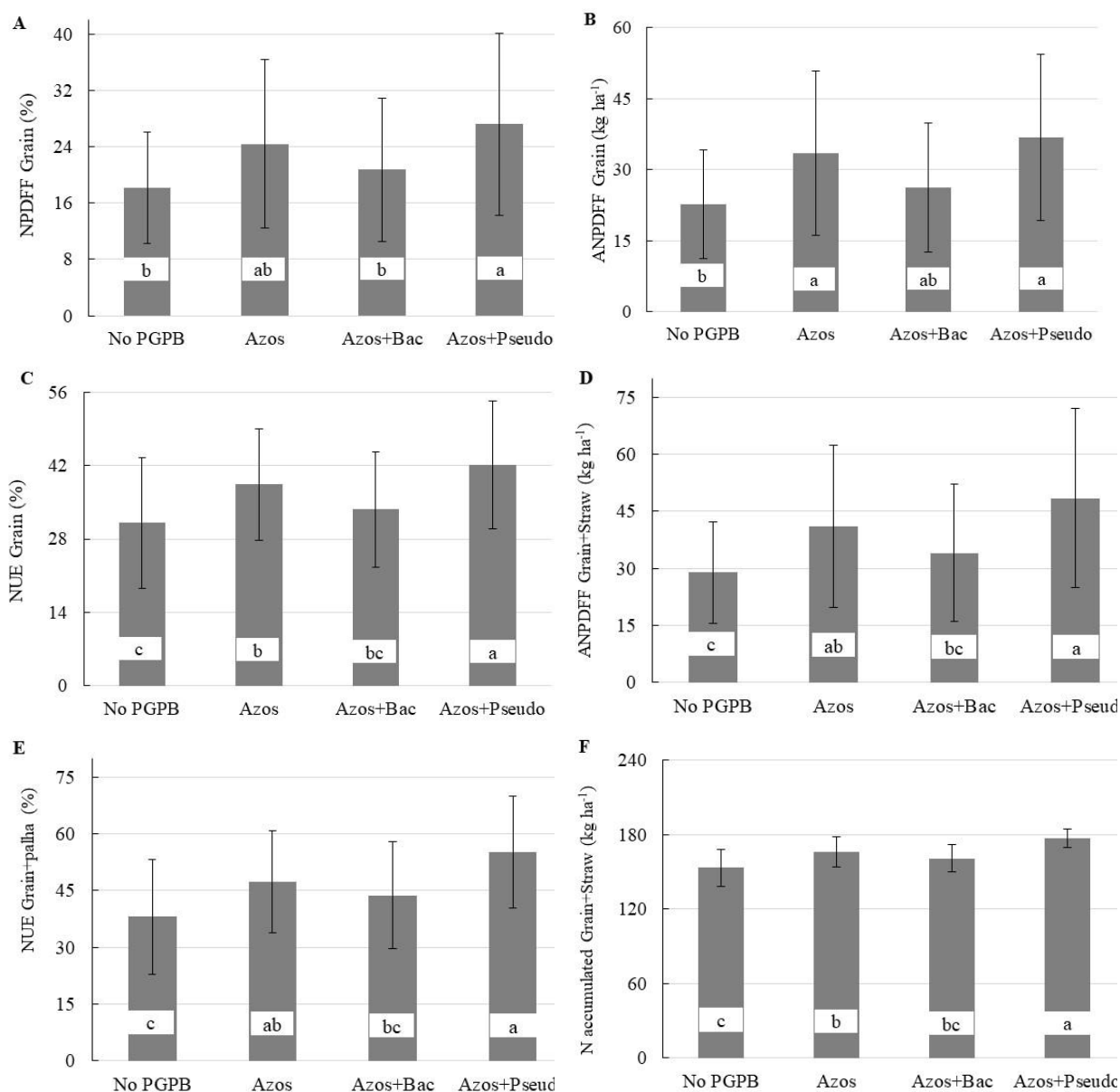
A recuperação do N do fertilizante ou NUE pelos grãos de trigo, nos tratamentos com a inoculação de "Azos+Pseudo", seguiu a mesma tendência de o observada para a %NPdff e ANdff, com a maior eficiência de utilização de nitrogênio nos grãos, seguido por "Azos" (Figura 10C). A ausência de inoculação "Sem BPCPs" e "Azos+Bac" não diferem significativamente entre si, apontando para uma eficiência similar na utilização de nitrogênio nos grãos. Semelhantemente, as inoculações conjuntas de "Azos+Pseudo" e isolada somente com "Azos" proporcionaram as maiores médias de quantidades de nitrogênio derivado do fertilizante acumulado na planta inteira, ou seja, soma de grãos e palha (Figura 10D). Já na ausência de inoculação ("SemBPCPs"), obteve-se a menor quantidade de N derivada do fertilizante aplicada, que indica menor absorção do N-fertilizante aplicado. Isto é indicativo de que as BPCPs, favoreceram o desenvolvimento do trigo por diversos mecanismos e, provavelmente, mais pelo desenvolvimento das raízes, responsáveis pela absorção de água e nutrientes (BASHAN; DE-BASHAN, 2010; MEZA et al., 2015; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016).

A inoculação com "Azos+Pseudo" proporcionou maior eficiência total de utilização de nitrogênio pelo trigo, considerando-se grãos e palha. Já a inoculação com "Azos" e "Azos+ Bac"

não mostraram diferenças significativas entre si, mas para ambas inoculações foram obtidas maiores NUE, comparadas aos tratamentos com a ausência de inoculação, ou seja, "Sem BPCPs" (Figura 10E). Estudos indicam que esses microrganismos podem, além de promover o crescimento radicular (GALINDO; TEIXEIRA FILHO, 2019), estimular outros reguladores de crescimento de plantas, como ácido abscísico (COHEN et al., 2008), óxido nítrico (FIBACH-PALDI et al., 2012) e poliaminas como espermidina, espermina e cadaverina (CASSÁN et al., 2009). Além disso, por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes (HUNGRIA et al., 2010), solubilização de fosfato EUN (PUENTE et al., 2004; GALINDO et al., 2016), FBN (SANTOS et al., 2017) e aumento da EUN (HUNGRIA et al., 2016; GALINDO et al., 2016; MARTINS et al., 2018).

A inoculação com "Azos+Pseudo" foi o tratamento que se destacou com a maior média de total de nitrogênio acumulado, que evidencia uma maior absorção de N tanto do fertilizante como do solo e outras fontes (Figura 10F). Já à inoculação com "Azos+Bac" e "Azos", apresentaram médias similares, indicando uma eficiência intermediária, mas ainda superior à ausência de inoculação ("SemBPCPs"). Isto evidencia a importância do incentivo à adoção dessa tecnologia em cultivo de trigo e de outras culturas, que apresenta baixo custo, fácil aplicação e não-poluente.

Algumas pesquisas reportaram efeitos benéficos em função da inoculação de BPCPs no biocontrole de patógenos e doenças de plantas (YASUDA et al., 2009; BASHAN; DE-BASHAN, 2010; TORTORA et al., 2011) e proteção de plantas contra o estresse salino e tóxico componentes do solo (CREUS et al., 1997; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016). A resposta positiva à inoculação foi descrita como a teoria de múltiplos mecanismos, dependente da interação inoculante-planta-ambiente (SALVO et al., 2018; ANDRADE et al., 2023). Dessa forma, considerar a interação entre ambiente x genótipos x estirpes (bactérias) é a chave para o sucesso no desenvolvimento de novas recomendações e aplicabilidade de inoculantes na agricultura, que anseia por tecnologias sustentáveis de baixo custo.



Obs.: Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

Figure 10. Effects of treatments plant growth-promoting bacteria – PGPB (*Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* and without inoculation), by seeds, and nitrogen rate (0, 30; 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹), applied in topdressing to irrigated wheat on the percentage of nitrogen in plant (grain) derived from fertilizer NPDDFF (A); amount nitrogen in plant (grain) derived from fertilizer - ANPDDFF (B); nitrogen use efficiency by plant (grain) - NUE (C); Amount nitrogen in plant derived from fertilizer shoot plant F (total) - grain and straw ANPDDFF (D); nitrogen use efficiency by plant (total) grain and straw NUE (E), and nitrogen accumulated (total uptake) N from soil, fertilizer others sources (F), in the irrigated wheat, Selvíria, MS, 2023.

Para os dados da variável conteúdo de nitrogênio na palha (N content in Straw, g kg⁻¹), observou-se que o incremento por unidade de nitrogênio (kg) aplicado foi de 0.0047 g kg⁻¹ (Figura 11A). Este resultado sugere que com o aumento da aplicação de N, ocorre um incremento linear na absorção e alocação de N na palha. Vale destacar que a palha das culturas corresponde aos restos culturais; assim, quanto maior o teor de N na palha, maior será a quantidade de N, juntamente com outros nutrientes de plantas, com potencial de ser reciclado (mineralizado), passível de ser aproveitado (absorvido) pelos cultivos subsequentes. A quantidade de N na palha, também, influencia a relação C/N dos restos culturais que permanecem no solo após a colheita. Isto é um dos fatores que controla o processo de decomposição/mineralização e, conseqüentemente a liberação de N e outros nutrientes no sistema, à exceção do potássio, que não faz parte de nenhum composto estrutural na planta, acumulando-se no vacúolo da célula; assim, sendo liberado mais rapidamente.

Quanto ao nitrogênio marcado na palha (¹⁵N in Straw, %), a análise de regressão mostrou um incremento de 0.0023% por unidade (kg) de N aplicado (Figura 11B). Este resultado indica que com o aumento da dose de N aplicada, ocorre um incremento proporcional na incorporação do ¹⁵N na planta, reflexo da maior absorção, assimilação e translocação de nitrogênio dentro da planta. É importante destacar que o ¹⁵N e o ¹⁴N são absorvidos de forma indiscriminada pelas plantas, uma vez que possuem o mesmo número de prótons no núcleo, igual a sete (7), ou seja, mesmo número atômico, que determina as propriedades químicas dos elementos, e apenas um (1) nêutron a mais no núcleo do átomo (BODDEY, 1987; MOHAMMED et al., 1995; ALVES et al., 2006). Tal resultado, evidencia uma informação de grande importância sobre o ponto de vista técnico e econômico, pois demonstra que em estudos com emprego de ¹⁵N, é possível de utilizar uma fonte com enriquecimento menor em ¹⁵N no fertilizante, à medida em que se aumenta a dose de N-fertilizante, o que é muito interessante, uma vez que o isótopo tem um elevado custo para sua produção e aquisição para pesquisas (cerca de U\$ 400,00 o grama do isótopo).

Para a variável nitrogênio na planta derivado do fertilizante (NPdff Straw,%), os dados ajustaram a um modelo linear crescente, com incremento por unidade de N de 0.1624% (Figura 11C). Isto é reflexo da concentração de ¹⁵N na palha e a quantidade de N acumulado na palha, que como demonstrado anteriormente nas Figuras 11A e 11B, também aumentou à medida em que houve incremento da dose de N aplicada, que é a premissa comprovada pelo princípio da equação da diluição isotópica de ¹⁵N (IAEA, 2001).

Com relação à eficiência de utilização de nitrogênio na palha (NUE Straw, %) ou recuperação do N (recovery), os dados ajustaram ao modelo quadrático, com o decréscimo na NUE com o incremento da dose de N aplicada (Figura 11D), o que é comum de ocorrência, uma vez que se refere a um valor relativo, ou seja, à dose de N aplicada, onde a planta aproveita (absorve) menos o N-fertilizante à medida em que se aumenta a dose aplicada. No entanto, a quantidade de N na planta proveniente do fertilizante ANPDFF (Valor absoluto) geralmente aumenta com o incremento da dose de N aplicada, como ocorreu no presente estudo. De maneira geral, observa-se que houve aumento de N derivado do fertilizante na planta com o incremento da dos de N-fertilizante aplicada.

Os dados de rendimento de grãos (Grain Yield, kg ha⁻¹) em função do incremento da dose nitrogênio ajustaram ao modelo quadrático, em que o nível ótimo de nitrogênio para a máxima produtividade de grãos seria alcançado com a dose de 123,2 kg ha⁻¹ de N, equivalente a 5.946 kg ha⁻¹ de grãos (Figura 11E). Teixeira et al. (2010), em estudo com trigo, também na região de cerrado e em Latossolo Vermelho, encontraram a dose ótimo de 124 kg ha⁻¹ de N. Já Galindo et al. (2017) obtiveram o ponto de máximo em cultivo de trigo inoculado com *Azospirillum brasilense* com a dose de 139 kg ha⁻¹ de N. Ressalta que esta respectiva produtividade de grãos, bem como a produtividade de palha, referem-se aos tratamentos que receberam as doses de N marcado- ¹⁵N (enriquecido), ou seja, 30, 60, 120 e 180 kg ha⁻¹, ou seja, não inclui o nível 0 (zero) de N, uma vez que, como demonstrado nas Figuras 6A e 6B, a produtividade de grãos com a inclusão do nível zero (0) e foi, em média, menor, de 5.472 kg ha⁻¹, enquanto a dose para a máxima produtividade foi de 113 kg ha⁻¹ de N (6.007 kg ha⁻¹ de grãos).

A concentração de ¹⁵N nos grãos aumentou de forma linear com o incremento da dose de N, cujo incremento por unidade de nitrogênio marcado nos grãos (¹⁵N in Grain) foi de 0.0047%. Este resultado sugere que o aumento da aplicação de nitrogênio está associado a um aumento proporcional na concentração de ¹⁵N nos grãos, o que se deve à maior disponibilidade de N-fertilizante no solo e conseqüentemente maior absorção e uma maior translocação de N para os grãos, semelhantemente ao que foi observado também para a concentração de ¹⁵N na palha do trigo.

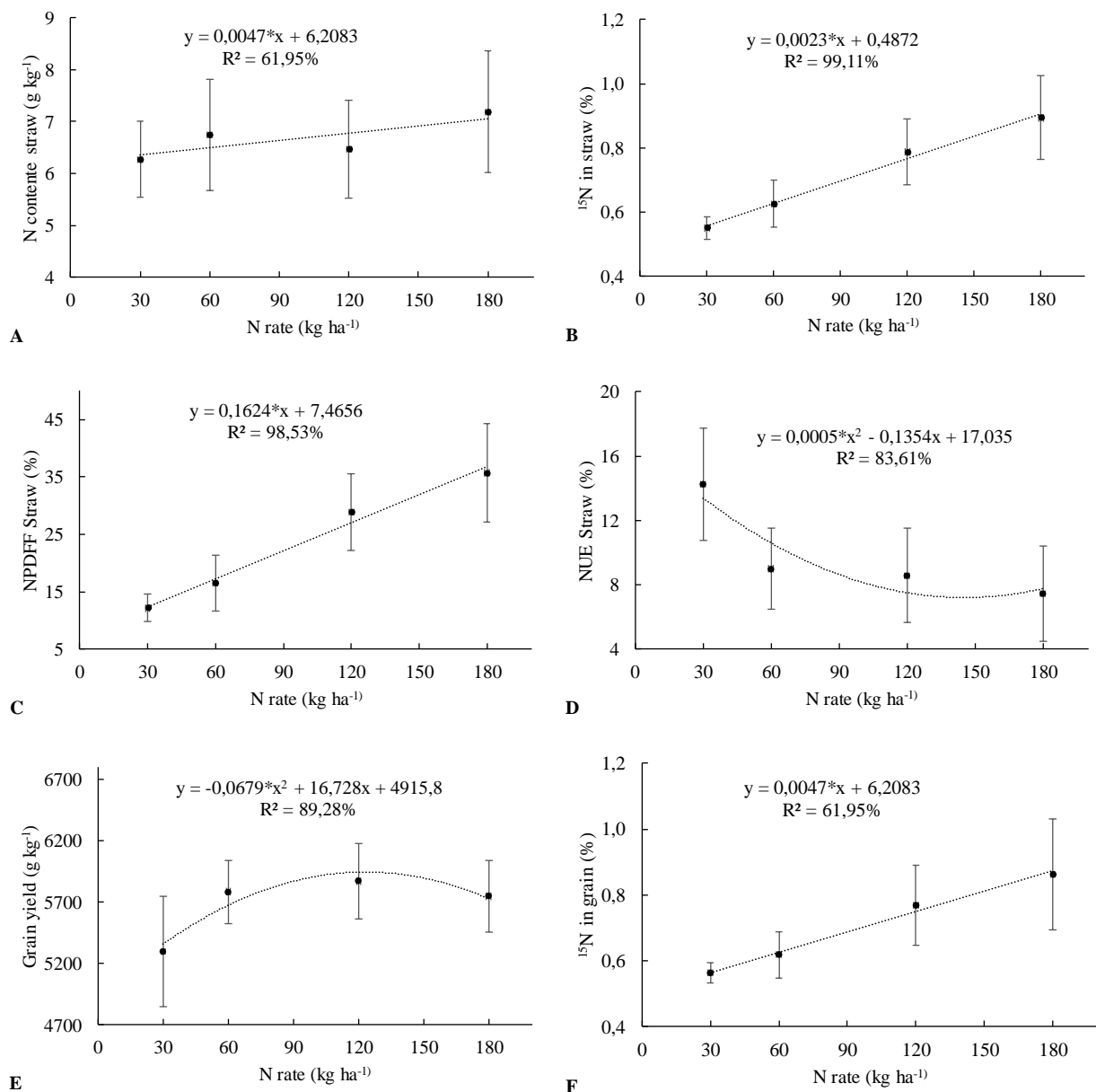


Figure 11. Effects of treatments plant growth-promoting bacteria – PGPB (*Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* and without inoculation), by seeds, and nitrogen rate (0, 30; 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹), applied in topdressing to irrigated wheat on nitrogen content in straw (A); ¹⁵N concentration in straw plant (B); percentagem of N in straw plant derived from fertilizer NPdff (C); nitrogen N fertilizer recovery or nitrogen use efficiency (NUE) by straw (D); Grain yield plant (E) and ¹⁵N concentration in grain plant in irrigated wheat (F), Selvíria, MS, 2023.

Observou-se um incremento linear de 0.01448% por unidade de nitrogênio aplicado na percentagem de nitrogênio na planta derivado do fertilizante (NPdff, %) nos grãos de trigo (Figure 12A). Este resultado indica que o aumento na aplicação de nitrogênio melhora disponibilidade de N e conseqüente absorção e utilização (alocação) do nitrogênio do fertilizante

nessa parte da planta, pois como demonstrado anteriormente, os grãos compreendem o principal órgão da planta para dreno de nitrogênio, independentemente da fonte absorvida (solo ou fertilizante).

Quanto à quantidade de nitrogênio do fertilizante na palha (ANPDFF, kg ha^{-1}), os valores nos grãos de trigo aumentaram linearmente em $0.02074 \text{ kg ha}^{-1}$ por unidade de nitrogênio aplicado (Figure 12B). Este resultado sugere uma relação direta entre a dose aplicada de nitrogênio e a eficiência de absorção, translocação e acúmulo desse nutriente para os grãos de trigo. Ao mesmo tempo, esse nutriente favoreceu o maior acúmulo de biomassa tanto de palha como de grãos, uma vez que é constituinte de enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, além de fazer parte da molécula de clorofila e atuar nos processos de divisão e expansão celular (MALAVOLTA et al., 1997; TAIZ et al., 2017).

A análise de regressão da eficiência de utilização de nitrogênio (NUE, %) pelos grãos demonstrou melhor ajuste ao modelo quadrático, com decréscimo da NUE à medida em que se aumento a dose de N aplicada (Figure 12C). De forma similar, a NUE conjunta de grãos e palha apresentou também um comportamento quadrático (Figura 12D). Esses resultados demonstram a necessidade de equilibrar a aplicação de nitrogênio para maximizar a eficiência total de uso de nitrogênio pela planta de trigo. Com relação à ANPDFF nos grãos de trigo e na palha de trigo (parte aérea total), houve um incremento linear de $0.0271 \text{ kg ha}^{-1}$ por unidade N-fertilizante aplicada, no N acumulado nos grãos (Figure 12E). Esse resultado indica uma eficiente translocação de nitrogênio para os grãos com o aumento da aplicação de nitrogênio.

Para a quantidade de nitrogênio acumulada na parte aérea da planta de trigo (grãos + palha), a análise de regressão mostrou ajuste ao modelo quadrático com um nível ótimo de aplicação de nitrogênio de aproximadamente $157.91 \text{ kg ha}^{-1}$ de N (Figure 12F). Este padrão sugere que existe um ponto de equilíbrio na aplicação de nitrogênio que maximiza a acumulação total de nitrogênio. Contudo, como demonstrado anteriormente na Figura 11F, o nível ótimo de nitrogênio para a máxima produtividade de grãos seria alcançado com a dose de 123.2 kg ha^{-1} de N. Tal fato demonstra que havendo disponibilidade de N, a planta absorve quantidade maior do que precisa para atingir a máxima produtividade de biomassa.

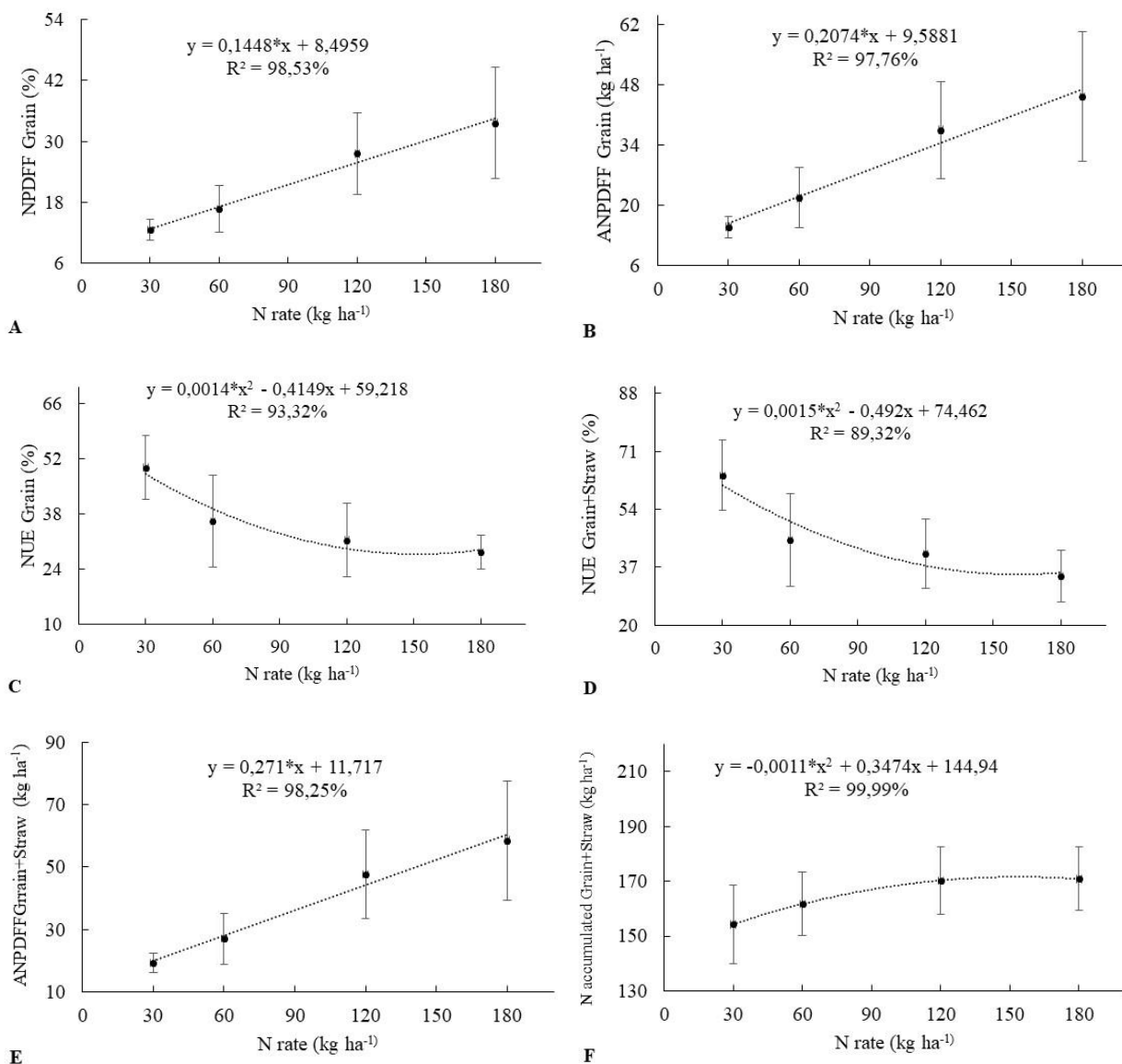


Figure 12. Effects of treatments plant growth-promoting bacteria – PGPB (*Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* and without inoculation), by seeds, and nitrogen rate (0, 30; 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹) applied in topdressing to irrigated wheat on the percentage of nitrogen in plant (grain) derived from fertilizer - NPDFFF (A); Amount nitrogen in plant (grain) derived from fertilizer - ANPDFFF (B); Nitrogen use efficiency by plant grain - NUE (C); Nitrogen use efficiency by shoot plant (total) grain and straw - NUE (D); Amount nitrogen in plant derived from fertilizer shoot plant (total) - grain and straw - ANPDFFF (E), and Nitrogen accumulated (total uptake = N from soil, fertilizer others sources) by irrigated wheat, Selvíria, MS, 2023. (F).

Nas Tabelas 14 e 15, encontram-se as respectivas médias de todas as variáveis utilizadas para se calcular a eficiência de utilização do nitrogênio do fertilizante – NUE pelo trigo (Nitrogen Derived From Fertilizer - NUE), também denominada recuperação ou aproveitamento do N do N do fertilizante, com emprego da técnica de diluição isotópica de ¹⁵N, utilizando-se uma fonte

enriquecida em átomos de ^{15}N (IAEA, 2001), que no caso do presente estudo, foi utilizada a ureia, com uma concentração de 1,885% em porcentagem de átomos de ^{15}N . A técnica permite calcular além de o N na planta derivado do fertilizante, também o N derivado do solo e de outras fontes, a exemplo do N proveniente da fixação biológica.

Considerando as quantidades de N na planta de trigo proveniente do fertilizante (ANPDFF), observa-se que as inoculações com *Azospirillum brasilense*; *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*; *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens* proporcionara uma quantidade de N derivado do fertilizante de:12,13; 5,12 e 19,55 kg a mais de N comparada à ausência de inoculação. As inoculações também favoreceram uma maior absorção de N (“nativo do solo”). Estudos evidenciam que as bactérias promotoras de crescimento estimulam o crescimento das plantas por uma série de mecanismos, como a produção e secreção de fitormônios, incluindo ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno (BASHAN; DE-BASHAN, 2010; MEZA et al., 2015; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016). Esses microrganismos podem estimular outros reguladores de crescimento de plantas, como ácido abscísico (COHEN et al., 2008), óxido nítrico (FIBACH-PALDI et al., 2012) e poliaminas como espermidina, espermina e cadaverina (CASSÁN et al., 2009). Além disso, por meio do aumento da disponibilidade de nutrientes (HUNGRIA et al., 2010), solubilização de fosfato (PUENTE et al., 2004; GALINDO et al., 2016), FBN (SANTOS et al., 2017; ANDRADE et al., 2023) e aumento da EUN (HUNGRIA et al., 2016; GALINDO et al., 2016; MARTINS et al., 2018). Entre as diversas ações benéficas promovidas pelas BPCPs destaca-se, também, os benefícios ao crescimento radicular das plantas, principal órgão responsável pela absorção de água e nutrientes.

Assim, uma estratégia que tem o potencial de melhorar a EUN, mediante a fixação e absorção de N, é o uso de bactérias diazotróficas que podem fixar o N atmosférico, levando a um melhor desenvolvimento das culturas, nutrição e aumento da produtividade de grãos (HARTMANN; BASHAN, 2009; HUNGRIA et al., 2016; ANDRADE et al., 2023). As principais bactérias estudadas atualmente são as BPCPs, destacando-se os gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*. As BPCPs são organismos epífitos ou endógenos residentes, não patogênicos, de plantas ou de solo que atuam diretamente para promover o crescimento ou indiretamente como agentes de controle biológico de doenças de plantas (MARIANO et al., 2004).

Table 14. Grain yield, straw dry mass and N accumulated in the above ground plant of wheat (grains and straw), as affected by N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

N rate (kg ha ⁻¹)	Yield		N Content		N Accumulated		
	kg ha ⁻¹		g kg ⁻¹		kg ha ⁻¹		
	Grain	Straw	Grain	Straw	Grain	Straw	Total
30	5297,9 ⁽¹⁾	5297,94	22,7	6,27 ⁽²⁾	118,99	35,3	154,29 ⁽
60	5784,9	5784,94	22,9	6,74	128,71	33,1	161,81
120	5872,8	5872,69	23,4	6,47	135,25	35,1	170,35
180	5750,8	5750,06	23,4	7,19	134,24	36,6	170,84
Inoculation - PGPB*	Grain	Straw	Grain	Straw	Grain	Straw	Total
Without Inoculation	5516,4b	5126,6a	23,0a	6,20b	121,7a	31,7a	153,37c
<i>Azospirillum</i>	5859,9b	5215,9a	23,2a	6,04b	133,7a	32,58a	166,28ab
<i>Azospirillum+Bacillus</i>	5450,9a	5518,2a	23,0a	6,76b	124,8a	35,95a	160,75bc
<i>Azos+Pseudomona</i>	5878,8a	5605,0a	23,1a	7,67a	134,4a	42,45a	176,86a

*Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$). L.S.D. = Least significant difference and C.V. = coefficient of variation.

Table 15. Concentration of ¹⁵N in the above ground plant of wheat (grains and straw), percentage of nitrogen in plant derived from fertilizer (%NPdff), amount of nitrogen in plant derived from fertilizer (NPdff), nitrogen recovery from fertilizer by wheat plant (N Recovery) and amount nitrogen in plant derived from soil (ANPDFS), as a function of N rates associated with the absence of inoculation and inoculation alone or with two plant growth-promoting bacteria (PGPBs), by seeds, Selvíria, MS, 2023.

N rate (kg ha ⁻¹)	¹⁵ N in Plant		%NPdff		ANPDFF			N Recovery			N accumulated	ANPDFS
	Atoms% Excesso		%		kg ha ⁻¹			%			kg ha ⁻¹	
	Grain	Straw	Grain	Straw	Grain	Straw	Total	Grain	Straw	Total	Npdf+Ndff	Solo
30	0,5632	0,551	12,56	12,13	14,93 ⁾	4,26	19,19 ⁽	49,71 ⁾	14,24	63,95 ⁽	154,29	135,11
60	0,618	0,625	16,68	16,51	21,63	5,41	27,04	36,05	8,99	45,04	161,81	134,77
120	0,768	0,787	27,59	28,88	37,500	10,26	47,76	31,26	8,56	39,82	170,29	122,53
180	0,862	0,893	33,64	35,69	45,19	13,39	58,58	28,21	7,44	35,65	170,87	112,29
Inoculation - PGPB	Grain	Straw	Grain	Straw	Grain	Straw	Total	Grain	Straw	Total	Ndff+Nds	Solo
Without Inoculation	0,6311b	0,668b	18,13c	20,48b	22,78c	6,16b	28,94c	31,07b	7,69b	38,7c	153,37c	124,4
<i>Azospirillum</i>	0,731a	0,713ab	24,38ab	24,37ab	33,43ab	7,64ab	41,07ab	38,38ab	9,54b	47,9ab	168,28ab	127,1
<i>Azos+Bacillus</i>	0,681ab	0,687ab	20,78bc	21,16b	26,28bc	7,78ab	34,06bc	33,64b	8,94b	42,6bc	160,76bc	126,7
<i>Azos+Pseudomona</i>	0,768a	0,768a	27,19a	27,19a	36,76a	11,73a	48,49a	42,14a	13,06a	55,2a	176,86a	128,4

*Means within the column followed by different letters are significantly different by Tukey Test ($p \leq 0.05$).

De maneira geral, obteve-se boas produtividades de grãos, mesmo com as menores doses de N, o que, possivelmente, foi em razão do cultivo do trigo ter sido após a cultura da soja cultivada no verão (2022/2023), cultura que aporta consideráveis quantidades de N, além de outros nutrientes em menores quantidades, ao solo pelos restos culturais (parte aérea e sistema radicular). Além de os restos culturais desta leguminosa possuírem baixa relação C/N, que favorece o processo de decomposição/mineralização e liberação de nutrientes, principalmente em condições de clima quente associado à alta umidade, a exemplo da região de Cerrado, em que foi conduzido o presente estudo.

Em síntese, os resultados demonstram a complexa interação entre a aplicação de nitrogênio e a eficiência de utilização (EUN) por diferentes partes da planta. Esses resultados ressaltam a importância de um manejo equilibrado e preciso de fertilizantes nitrogenados, visando aumentar a EUN e otimizar tanto a produção agrícola quanto a sustentabilidade ambiental.

5.4 Considerações Finais

De maneira geral, as bactérias promotoras de crescimento promoveram incrementos na absorção e acúmulo de N na planta de trigo, com reflexo positivo na eficiência de uso do nitrogênio do fertilizante (EUN), assim como na absorção do N do solo, que contribuíram para um melhor desenvolvimento da planta, que proporcionou resposta em maior produtividade de grãos e de palha. Inclusive seria interessante a realização de novos estudos abrangendo o uso associado com outras espécies de bactérias, assim como outras fontes de N, seja minerais, orgânicas ou organominerais, o que é importante no conceito de “Agricultura Sustentável”, tanto sob aspectos técnicos-econômicos quanto ambientais.

Na atualidade, o desenvolvimento rural está atrelado à inovação de tecnologias para garantia da segurança alimentar e desenvolvimento econômico; contudo, faz-se necessário dar ênfase às práticas agrícolas sustentáveis, necessitando, considerar, ainda, a agricultura no contexto das mudanças climáticas globais. Outro aspecto importante, no caso do trigo, é otimizar a oferta de N, considerando-se a qualidade tecnológica do grão, uma vez que esse nutriente melhora a qualidade da matéria prima (farinha), por sua influência direta no teor de proteína e força do glúten. Pois, como observado neste estudo, o acúmulo de N nos grãos aumenta com o incremento da dose de fertilizante nitrogenado. Com isso, a redução da dose de N mineral implica, necessariamente, em uso de tecnologias e práticas de manejos que aumentem a eficiência de utilização do N do fertilizante, que no mundo é, média de 33%, até inferior à obtida neste estudo, que foi de 45%. Neste aspecto, faz-se necessária a implementação de práticas de manejo e de tecnologias que promovam o aporte N em

níveis adequados ao sistema solo-planta, a exemplo da fixação biológica de N e incentivo ao uso de BPCPs, uso de plantas de cobertura e adubos verdes (reciclagem de nutrientes e fixação biológica de N), dentre outras, ou seja, deve ser implementado um conjunto de medidas e ações, que atuem para melhorar os atributos físicos, químicos e biológicos do solo e condicionar um melhor desenvolvimento radicular e da parte aérea das plantas. Isto é relevante, uma vez que os fertilizantes representam expressiva parcela no custo de produção, sendo alguns nutrientes susceptíveis a perdas e passíveis de poluição do meio ambiente, a exemplo do N, que foi objeto de estudo deste projeto. Outro aspecto a ser considerado são situações de estresses abióticos, que têm sido comuns em cultivo de gramíneas e leguminosas, sobretudo relacionadas à irregularidade na precipitação pluvial (ocorrência de “veranicos”) associadas a altas temperaturas, em especial na região de Cerrado, cujo uso de BPCPs pode mitigar os efeitos negativos de estresses bióticos e abióticos às plantas.

Assim, entre os vários desafios, faz-se necessário dar enfoques para questões de manejo de água e solo, de adubação e nutrição equilibrada, buscando-se maior eficiência de uso dos nutrientes. Neste aspecto, pesquisas em diferentes condições edáficas e climáticas relativas à respostas ao uso de diferentes BPCPs associadas a fontes nitrogenadas, na busca de otimizar doses de N e racionalizar o uso desses fertilizantes sem prescindir altas produtividade e qualidade do trigo, são interessantes, uma vez que a inoculação e coinoculação de BPCPs consistem em uma tecnologia bastante acessível (~R\$ 20,00 por hectare), de fácil aplicação e não poluente, o que é importante no contexto de Agricultura Sustentável e Mudança Climáticas.

6. CONCLUSÕES

Independentemente da dose de nitrogênio aplicada e da inoculação ou coinoculação com as bactérias promotoras de crescimento, a extração (acúmulo) de macronutrientes e micronutrientes pela planta de trigo (palha + grãos) seguiu a ordem decrescente: N > K > Ca > P > Mg > S > Fe > Mn > Zn > Cu > B.

A máxima produtividade de grãos do trigo foi estimada com a dose de 113 kg ha⁻¹ de N fertilizante (ureia), equivalente a 6.007 kg ha⁻¹ de grãos.

A exportação de nitrogênio pelos restos culturais (palha) do trigo foi de 79% (124 kg ha⁻¹ de N) do total acumulado nos grãos, enquanto a de potássio foi de 25,8% do total acumulado nos grãos (29,8 kg ha⁻¹ de K), com a maior parte deste nutriente restituída ao solo pela palha (restos culturais).

A inoculações isolada de *Azospirillum brasilense* e associada de *A. brasilense*+*Pseudomonas fluorescens*, via sementes, proporcionaram maiores produtividades de grãos de trigo irrigado comparadas à ausência de inoculação ou inoculação associada de *A. brasilense*+*Bacillus subtilis*.

A eficiência de uso nitrogênio do fertilizante (NUE) pelo trigo foi, em média, de 45,34% da dose aplicada, compreendendo 9,81% pela palha, e 35,53% pelos grãos, cujos grãos foi o principal dreno do N absorvido, independente da fonte (solo ou fertilizante).

Independentemente da dose de N e da inoculação isolada ou associada de duas bactérias promotoras de crescimento, o solo foi a principal fonte de N para o trigo, equivalente, em média, a 77,1 do total de N acumulado na planta; enquanto o N absorvido do fertilizante (ureia) foi equivalente a 22,9% do N extraído pela planta.

A eficiência de utilização do N do fertilizante pelo trigo decresceu acentuadamente com o incremento da dose fertilizante nitrogenado aplicada; embora a quantidade de N na planta de trigo proveniente do fertilizante tenha aumentado com o incremento da dose.

7. RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALOS, D.; JEFFERY, S.; SANZ-COBENA, A.; GUARDIA, G.; VALLEJO, A. Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.189, p.136-144, 2014. doi: 10.1016/j.agee.2014.03.036.
- ABRANTES, F.A.; SÁ, M.E; SOUZA, L.C.D.; SILVA, M.P; SIMIDU, H.M.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; VALÉRIO FILHO, W.V.; ARRUDA, N. Uso do regulador de crescimento em cultivares de feijão de inverno. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, n.21, p.148-154, 2011. DOI: 10.5216/pat.v41i2.8287).
- ALBRECHT, J.C.; SILVA, M.S.; ANDRADE, J.M.V. et al. **Trigo BRS 264: Cultivar precoce com alto rendimentos de grãos indicada para o Cerrado do Brasil Central**. Planaltina, DF, Embrapa Cerrados, 2006. 21 p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, 174. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2009/27848/1/doc_174.pdf. Acesso em: 02 jan. 2024.
- ALTAF, M.M.; AHMAD, I.; KHAN, M.A.; GROHMANN, E. *Bacillus* Biofilms and Their Role in Plant Health. **Biofilms in Plant and Soil Health**, v.20, n.22, p.55, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119246329.ch4>
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.D.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, p.711–728, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- ALVES, B.J.R.; MARTINS, M.R.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S. Importância da fixação biológica de nitrogênio para a sustentabilidade agrícola no Cerrado. In:

- FLORES, R.A.; CUNHA, P.P. **Práticas de manejo do solo para adequada nutrição de plantas no cerrado**. Goiânia: UFG; 2016. p. 253-290.
- ALVES, B.J.R.; ZOTARELLI, L.; FERNANDES, F.M.; HECKLER, J.C.; MACEDO, R.A.T.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de N em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.3, p.449-456, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300011>
- ALVES, C.J.; ARF, O.; RAMOS, A.F.; GALINDO, F.S.; NOGUEIRA, L.M.; RODRIGUES, R.A.F. Irrigated wheat subjected to inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen doses as top-dressing. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.21, n.8, p.537-542, 2017. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n8p537-542>
- AMBROSANO, E.J.; TANAKA, R.T.; MASCARENHAS, H.A.A.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A. & CANTARELA, H. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. van; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J.A. & FURLANI, A.M.C., eds. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas, Instituto Agrônômico e Fundação IAC, 1997. 285p. (Boletim técnico, 100).
- ANDA – ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DIFUSÃO DE ADUBOS. https://anda.org.br/wp-content/uploads/2024/01/Principais_Indicadores_2023.pdf
- ANDRADE, L.A.; SANTOS, C.H.B.; FREZARIN, E.T.; SALES, L.R.; RIGOBELLO, E.C. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. **Microorganisms**. v.11, n.4, 1088, 2023, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>
- ANJOS, D. D. N.; MENDES, H. T. A.; VASCONCELOS, R. C.; MOREIRA, P. M.; CANGUSSU, A. C. V.; PIRES, E. S. Avaliação do feijoeiro comum em função dos bioestimulantes, NPK e micronutrientes em Vitória da Conquista – BA. **Revista Agrarian**, Dourados, v.10, n.35, p.1-9, 2017. DOI:10.30612/agrarian.v10i35.4062
- ARAÚJO, A. S. F.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. D. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v.40, n.1, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000249>
- ARAÚJO, A. S. F.; TEIXEIRA, G. M.; CAMPOS, A. X.; SILVA, F. C.; AMBROSANO, E. J. TRIVELIN. P. C. O. Utilização de nitrogênio pelo trigo cultivado em solo fertilizado com adubo verde (*Crotalaria juncea*) e/ou uréia. **Ciência Rural**, v.35, n.2, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000200006>
- BARRIE, A.; PROSSER, S.J. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (Ed.). **Mass Spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996, p.1-46.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy** v.108, p.77-136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- BECHE, E.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; DALLÓ, S. C.; SASSI, L. H. S.; OLIVEIRA, R. Eficiência de uso de nitrogênio em cultivares de trigo pioneiras e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.49, n.12, p.948-957, 2014. DOI: 10.1590/S0100-204X2014001200005
- BLAKE, G. R.; HARTGE, K. H. Particle density. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. 2. ed. Madison: ASA/SSSA, 1986. p.377-382. (Agronomy monograph, 9).

- BODDEY R. M. Methods for the quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences*, v.6, p.209-266, 1987. <https://doi.org/10.1080/07352688709382251>
- BOSSOLANI, J. W.; SÁ, M. E.; MERLOTI, L. F.; BETTIOL, J. V. T.; OLIVEIRA, G. R. F.; PEREIRA, D. S. Bioestimulante vegetal associado a indutor de resistência nos componentes da produção de feijoeiro. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v.11, n.4, p.307-314, 2017. doi: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i4.4094>
- BOTTOMLEY, P.J.; MYROLD, D.D. Biological N inputs. In: Paul EA, editor. **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. 3rd ed. Oxfor: Academic Press; 2007. p.365-88.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Estádios fenológicos do trigo para a adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 2, p. 317–323, 2001. ISSN 0100-0683. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832001000200008&lng=pt&tlng=pt.
- CAIERAO, E.; PIRES, J. L. F. Atenção aos detalhes: manejo específico por cultivar é chave para a rentabilidade em trigo. **Revista Cultivar**, n. 290, 2023. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1158817/1/Artigo-Revista-Cultivar.pdf>
- CANTARELLA, H.; MATTOS JUNIOR, D. Nitrogênio. In.: CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATTOS JUNIOR, D.; BOARETTO, R. M.; van RAIJ, B. Boletim 100: **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), 2022. p. 86-94.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. Van; CAMARGO, C. E. O. Cereais. In: RAIJ, B. Van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1997, 285p. (Boletim técnico, 100).
- CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S.; VITTI, G.C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI Brasil, 2007. p.355-412.
- CARGNIN, A.; SOUZA, M. A.; ROCHA, V. S.; MACHADO, J. C.; PICCINI, E. Tolerância ao estresse térmico em genótipos de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 41, n. 8, p. 1269-1276, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000800009>
- CASSÁN, B.; DIAZ-ZORITA M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: from the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry** v.103, p.117-130, 2016. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.08.020.
- CASSÁN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI, O.; VIDAL, A.; LUNA, V.; RUIZ, O. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal of Soil Biology**, v.45, p.12-19, 2009. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.003.
- CAZETTA, D.A.; FORNASIERI FILHO, D.; ARF, O. Resposta de DOI: <https://doi.org/10.15361/1984-5529.2007v35n2p155%20-%20165> cultivares de trigo e triticales ao nitrogênio no sistema de plantio direto. **Científica**, v.35, p.155-165, 2007.
- CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v.89, p.557-562, 1997. <https://doi.org/10.2134/agronj1997.00021962008900040004x>

- COHEN, A.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in *Arabidopsis* plants. **Plant Growth Regulators**, v.54, p.97-103, 2008. doi: 10.1007/s10725-007-9232-9.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, Trigo Série Histórica. [S.l.], 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>. Acesso em: 20 out. 2023.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Safra do feijão 2018/2019**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 16 de ago. 2021.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. 2021. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos Safra 2020/21 – quarto levantamento**. Brasília: CONAB. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 20 jun. 2021.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. Boletim Safra de Grãos: Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Brasília, DF: CONAB, 2023. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 18 jan. 2024.
- CREUS C, SUELDO R, BARASSI C. Shoot growth and water status in *Azospirillum* inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. **Plant Physiology Biochemistry**, v.35, p.939-944, 1997. D: 89143832
- CUI, Z.; ZHANG, F.; CHEN, X.; DOU, Z.; LI, J. In-season nitrogen management strategy for winter wheat: maximizing yields, minimizing environmental impact in an over-fertilization context. **Field Crops Research**, v.116, p.140–146, 2010. doi: 10.1016/j.fcr.2009.12.004.
- DAY, P.R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLACK, C. A. Methods of soil analysis. **American Society of Agronomy**, v.1, p.545-566, 1965.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa Soja. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/trigo1>>. Acesso em 13 de jul. 2021.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Memória Embrapa Johanna Döbereiner**. Brasília, DF: 2018a [acesso 30 out 2018]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/memoria-embrapa/personagens/johanna-dobereiner>.
- ERISMAN, J.W.; GALLOWAY, J.N.; SEITZINGER, S.; BLEEKER, A.; DISE, N.B.; PETRESCU, A.M.R.; LEACH, A.M.; DE VRIES, W. 2013. Consequences of human modification of the global nitrogen cycle. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 368:20130116. doi:10.1098/rstb.2013.0116.
- FALKER Automação Agrícola Ltda. **Manual do medidor eletrônico de teor clorofla (ClorofLOG / CFL 1030)**. Porto Alegre: Falker, 2008. 33p.
- FERRETI, K.; FERNANDES, F.S.C. Avaliação da produtividade da cultura do trigo (*Triticum aestivum*) a aplicação de nitrogênio em cobertura. **Revista Cultivando o Saber**, v. 4, p. 47–53, 2011. Disponível em: <https://cultivandosaber.fag.edu.br/index.php/cultivando/article/view/356/269>. Acesso em: 24 nov. 2021.
- FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letter** v.326, p.99-108, 2012. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02407.x.

- FIGUEIREDO, S.L.; RODRIGUES, J.D. Efeito da densidade de semeadura e de reguladores vegetais sobre os caracteres morfofisiológicos da folha bandeira do trigo. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.7, p.89-96, 2012. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v7i1a1594>
- 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, p.687-697, 1992. <https://doi.org/10.1080/00103629209368619>
- FUKAMI, J.; DE LA OSA, C.; OLLERO, F.J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici* as a strategy to mitigate salinity stress. *Functional Plant Biology*. v.45, n.3, p.328-39, 2018. DOI: 10.1071/FP17167
- FUKAMI, J.; OLLERO, F.J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. *AMB Express* 7:153-163, 2017. doi: 10.1186/s13568-017-0453 7.
- GALINDO, F.S.; SILVA, E.C. da; PAGLIARI, P.H.; FERNANDES, G.C.; RODRIGUES, W.L.; BIAGINI, A.L.C.; BARATELLA, E.B.; SILVA JUNIOR, C.A.; MORETTI NETO, M.J.; SILVA, V.M.; MURAOKA, T.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M. Nitrogen use efficiency and recovery in a wheat-corn rotation under tropical savannah conditions. *Nutrient Cycling In Agroecosystems*. v.119, p.291-305, 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/s10705-020-10115-4>
- GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; PAGLIARI, P.H.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; MEGDA, M.M.; NOGUEIRA, T.A.R.; ANDREOTTI, M.; ARF, O. Maize yield response to nitrogen rates and sources associated with *Azospirillum brasilense*. *Agronomy Journal*. v.111, p.1985-1997, 2019. doi.org/10.2134/agronj2018.07.0481
- GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.J.; NOGUEIRA, L.M.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.L.M. Maize yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 40:e015036. 2016. doi: 10.1590/18069657rbcs20150364
- GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C. J.; LUDKIEWICZ, M.G.Z. 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, 2017. doi.org/10.1590/S0100-204X2017000900012
- GALINDO, F.S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; TARSITANO, M.A.A.; BUZETTI, S., SANTINI, J. M.K.; LUDKIEWICZ, M.G.Z.; ALVES, C.J. Technical and economic feasibility of irrigated wheat as a function of nitrogen doses, sources, and inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Semina: Ciências Agrárias*, v.39, n.1, p.51-66, 2018. doi: 10.5433/1679-0359.2018v39n1p51
- GU, B.; JU, X.; CHANG, J.; GE, Y.; VITOUSEK, P.M. Integrated reactive nitrogen budgets and future trends in China. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v.112, p.8792-8797, 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.151021111>
- GUARIENTI, E.M.; DE BONA, F.D.; PIRES, J.L.F.; NICOLAU, M.; STRIEDER, M.L.; SCHEEREN, P.L.; WIETHÖLTER, S. Nitrogênio e qualidade tecnológica do trigo. Embrapa trigo. 20123. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1727107/artigo--nitrogenio-e-qualidade-tecnologica-do-trigo>. Acesso em: 22 jan. 2023.

- HARTMANN, A.; BASHAN, Y. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB). **European Journal of Soil Biology**. v.45, p.1-2, 2009. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.11.004.
- HASSAN, M. S.; KHAIR, A.; HAQUE, M. M.; AZAD, A. K.; HAMID, A. Genotypic variation in traditional rice varieties for chlorophyll content, spad value and nitrogen use efficiency. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v.34, p.505-515, 2009. DOI:10.3329/bjar.v34i3.3977
- HERRIDGE, D.F.; PEOPLES, M.B.; BODDEY, R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v.311, p.1-18, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9668-3>
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**. v.331, p.413-425, 2010. doi: 10.1007/s11104-009-0262-0.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**. v.221, p.125-131, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>
- IAEA/FAO. International Atomic Energy Agency. **Use of isotope and radiation methods in soil and water management and crop nutrition**. Vienna: IAEA, (Training course series, 14), 247p. 2001. <https://www.iaea.org/publications/6423/use-of-isotope-and-radiation-methods-in-soil-and-water-management-and-crop-nutrition>
- KANEKO, F.H.; ARF, O.; GITTI, D. de C.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; BUZETTI, S. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, v.69, p.125-133, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000100017>
- KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.
- LACERDA, M.C.; NASCENTE, A.S.; PEREIRA, E.T.L. Adubação nitrogenada afeta a produtividade e a qualidade comercial de grãos do feijoeiro em sistema de plantio direto. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.42, n.2, p.71-80, 2019. <https://doi.org/10.19084/rca.15649>
- LADHA, J.K.; TIROL-PADRE, A.; REDDY, C.K.; CASSMAN, K.G.; VERMA, S.; POWLSON, D.S.; VAN KESSEL, C.; RICHTER, D.B.; CHAKRABORTY, D.; PATHAK, H. Global nitrogen budgets in cereals: A 50-year assessment for maize, rice, and wheat production systems. **Scientific Reports**. v.6:19355. 2016. doi: 10.1038/srep19355.
- LEMOS, M.S.; MAIA, E.; FERREIRA, E.; STACHIW, R. Uso da cama de frango como adubo na agricultura. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia**, v.3, n.1, p. 57-68, 2014.
- LINQUIST, B.A.; LIU, L.; VAN KESSEL, C.; VAN GROENIGEN, K.J. Enhanced efficiency nitrogen fertilizers for rice systems: Meta-analysis of yield and nitrogen uptake. **Field Crops Research**, v.154, p.246-254, 2013. doi: 10.1016/j.fcr.2013.08.014
- LIU, J.; FENG, H.; HE, J.; CHEN, H.; DING, D. The effects of nitrogen and water stress on the nitrogen-to-protein conversion factor of winter wheat. **Agricultural Water Management**. v. 210, p. 217-223. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.07.042>

- LOPEZ-BELLIDO, R.J.; SHEPHERD, C.E.; BARRACLOUGH, P.B. Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. **European Journal of Agronomy**, v.20, p.313-320, 2004. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(03\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(03)00025-X)
- LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plantgrowth-promoting rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, 63(1), 541-556, 2009. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.
- MARIANO, R.L.R.; SILVEIRA, E.B.; ASSIS, S.M.P.; GOMES, A.M.A.; NASCIMENTO A.R.P.; DONATO, V.M.T.S. Importance of plant growth-promoting rhizobacteria for a sustainable agriculture. **Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônomicas** v.1, p.89-111, 2004. file:///C:/Users/Edson%20Cabral/Downloads/Importancia_De_Bacterias_Promotoras_De_C.pdf
- MARKS, B.B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F.J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express** v.5, p.71-82, 2015. DOI: 10.1186/s13568-015-0154-z
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 1995. 874p.
- MARTINS, M.R.; JANTALIA, C.P.; REIS, V.M.; DÖWICH, I.; POLIDORO, J.C.; ALVES BJR, BODDEY RM, URQUIAGA S. Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-¹⁵N recovery by maize in Cerrado Oxisol. **Plant and Soil**, v.422, p.239-250, 2018. doi: 10.1007/s11104-017-3193-1
- MEZA, B.; DE-BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Involvement of indole-3-acetic acid produced by *Azospirillum brasilense* in accumulating intracellular ammonium in *Chlorella vulgaris*. **Research in Microbiology**. v.166, p.72-83, 2015. doi: 10.1016/j.resmic.2014.12.010.
- MINGOTI, R.; HOLLER, W. A.; SPADOTTO, C. A.; LOPES, V.A.V.; BRASCO, M.A. Metodologia de análise crítica dos dados históricos de estatística de produção agropecuária. Campinas: Embrapa Gestão Territorial, 2014. 16 p. No prelo
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Plano Nacional de Fertilizantes — Ministério da Agricultura e Pecuária (www.gov.br) – Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/plano-nacional-de-fertilizantes/>
- MINOLTA CAMERA Co. Ltda. **Manual for chlorophyll meter SPAD 502**. Osaka, Minolta, Radiometric Instruments divisions. p.22, 1989.
- MOHAMMED, I.; JAMAL I. KARIMA, EL A. The use of ¹⁵N and ³²P isotopes in investigation of soil fertility under different cropping systems. **Applied Radiology Isotopic**, v.46, p.611-612, 1995. DOI:10.1016/0969-8043(95)00105-0
- MOREIRA, J.A.A.; STONE, L.F.; TRINDADE, M.G.; CANOVAS, A.D. A cultura do trigo irrigado no sistema plantio direto. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 2006. 16p. (EMBRAPA-CNPAP. Circular Técnica, 78).
- NUNES, P.H.M.P.; AQUINO L.A.; SANTOS, L.P.D.D.; XAVIER, F.O.; DEZORDI, L.R.; ASSUNÇÃO, N.S. Yield of the irrigated wheat crop subjected to nitrogen application and to inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.39, p.174-182, 2015. DOI: 10.1590/0100683rbc20150354

- OZTURK, A.; CAGLAR, O.; BULUT, S. Growth and yield response of facultative wheat to winter sowing, freezing sowing and spring sowing at different seeding rates. **Journal of Agronomy Crop Science**, v.192, p.10-16, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2006.00187.x>
- PASINATO, A.; CUNHA, G.R. da; FONTANA, D.C.; MONTEIRO, J.E.B. de A.; NAKAI, A.M.; OLIVEIRA, A.F. de. Potential area and limitations for the expansion of rainfed wheat in the Cerrado biome of Central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.53, n.7, p.779-790 2018. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X201800070000>
- PENN, C.J.; CAMBERATO, J.A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. **Agriculture**, v.9, art.120 2019. <https://doi.org/10.3390/agriculture9060120>
- PEREIRA, J.F.; CUNHA, G.R.; MORESCO E.R. Improved drought tolerance in wheat is required to unlock the production potential of the Brazilian Cerrado. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.19, p. 217-225, 2019. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n2r30>
- PEREIRA, L.C.; PIANA, S.C.; BRACCINI, A.L; GARCIA, M.M; FERRI, G.C.; FELBER, P.H.; MARTELI, D.C.V.; BIANCHETTI, P.A.; DAMETTO, I.B. Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v.40, n.1, p.105-113, 2017. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA16089>
- PICCININ, G.G.; BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.; SCAPIM, C.A.; RICCI, T.T.; BAZO, G.L. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. **Industrial Crops and Products**, v.43, p.393- 397, 2013. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.07.052
- PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v.51, n.4, p.403-415, 2015. doi: 10.1007/ s00374-015-0996-1
- PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais: exposição com exemplos e orientação para uso de aplicativos**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309 p.
- PINNOW, C.; BENIN, G.; VIOLA, R.; SILVA, C.L; GUTKOSKI, L.C.; CASSOL, L.C. Qualidade industrial do trigo em resposta à adubação verde e doses de nitrogênio. **Bragantia**, v.72, n.1, p.20-28, 2013. <https://www.redalyc.org/pdf/908/90826421012.pdf>
- PRANDO, A.M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V. BASSOI, M.C.; OLIVEIRA, F.A. Formas de ureia e doses de nitrogênio em cobertura no desempenho agrônômico de genótipos de trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.621-632, 2012a. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n2p621
- PRANDO, A.M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V.; OLIVEIRA, A.A.P.; PANOFF, B. Formas de ureia e doses de nitrogênio em cobertura na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34 n.2, p.272-279, 2012b. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200012>
- PRANDO, A.M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V.; OLIVEIRA, F.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. Características produtivas do trigo em função de fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.43, p.34-41, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pat/a/CjYQ5VmpTmxZCVgT5XXPYp/abstract/?lang=pt>.

- PUENTE, M.; LI, C.; BASHAN, Y. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. **Plant Biology** 6:643-650, 2004. DOI: 10.1055/s-2004-821101
- RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para Avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2001. 285 p.
- RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas. 285p. (1996). (Boletim técnico, 100).
- RAUN, W.R.; JOHNSON, G.V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, v.91, p.357-363, 1999. <https://doi.org/10.2134/agronj1999.00021962009100030001x>
- REIS, V.M.; JESUS, E.C.; SCHWAB, S.; OLIVEIRA, A.L.M.; OLIVARES, F.L., BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R.; SANTOS, L.A. editores. **Nutrição mineral de plantas**. 2.ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; 2018. p.280-307.
- REMANS, R.; RAMAEKERS, L.; SCHELKENS, S.; HERNANDEZ, G.; GARCIA, A.; REYES, J.L.; MENDEZ, N.; TOSCANO, V.; MULLING, M.; VANDERLEYDEN, J. Effect of *Rhizobium–Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus vulgaris* L. genotypes cultivated across different environments in Cuba. **Plant and Soil**, v.312, p.25-37, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9606-4>
- REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2012, Londrina, PR. Informações técnicas para trigo e triticale. Atas e resumos... Londrina: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale: Embrapa Trigo: 2012., 225p; 2013.
- RUAN, J.; WU, X.; HARDTER, R. Effects of potassium and magnesium nutrition on the quality components of diffents types of tea. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.47-52, 1999. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199901\)79:1<47:AID-JSFA172>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199901)79:1<47:AID-JSFA172>3.0.CO;2-A)
- SALVO, L.P.; FERRANDO, L.; FERNANDÉZ-SCAVINO, A., SALAMONE, I.E.G. Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. **Plant and Soil**, v.424, p.405-417, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3548-7>
- SANTOS, C.L.R.; ALVES, G.C.; MACEDO, A.V.M.; GIORI, F.G.; PEREIRA, W.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Contribution of a mixed inoculant containing strains of *Burkholderia* spp. and *Herbaspirillum* ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied Soil Ecology**, v.113, p.96-106, 2017. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.02.008.
- SANTOS, H.G. dos; JACOMINE P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R; ALMEIDA, J.A. de; ARAUJO FILHO, J.C. de; OLIVEIRA, J.B. de; CUNHA, T.J.F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa, 5 ed. ver. amp., 2018.
- SAS Institute. **Procedure Guide for Personal Computers**. Version 9.4. Cary, 2015.
- SCHLICHTING, A.F.; BONFIM-SILVA, E.M.; SILVA, M.C.; -SOUZA, W.P.; SILVA, T.J.A.; FARIAS, L.N. 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, 2015. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n12p1148-1151>

- SCHULTZ, N.; MORAIS, R.F.; SILVA, J.A.; BAPTISTA, R.B.; OLIVEIRA, R.P.; LEITE, J.M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J.B.; ALVES, B.J.R.; BALDANI, J.I.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Agronomic evaluation of varieties of sugar cane inoculated with diazotrophic bacteria and fertilized with nitrogen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.261-268, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000200015>
- SILVA E.C.; MURAOKA T.; MONTEIRO R.O.C.; BUZETTI, S. Análise econômica da adubação nitrogenada no milho sob plantio direto em sucessão a plantas de cobertura em Latossolo Vermelho. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.29, p.445-52, 2007. doi:10.4025/actasciagron.v29i4.395.
- SILVA, A.N; RAMOS, L.M.G; RIBEIRO JUNIOR, W.Q; ALENCAR, E.R; SILVA, P.C; LIMA, C.A; VINSON, C.C; SILVA, M.A.V. Water stress alters physical and chemical quality in grains of common bean, triticale and wheat. **Agricultural Water Management**, v.231, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106023>
- SILVEIRA, G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; VALÉRIO, I.P.; GIOVANI, B.; RIBEIRO, G.; CRESTANI, M.; LUCHE, H.S.; SILVA, J.A.G. Efeito da densidade de semeadura e potencial de afillamento sobre a adaptabilidade e estabilidade em trigo. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.1, p.63-70, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000100009>
- SOARES, G.F.; RIBEIRO JÚNIOR, W.Q.; PEREIRA, L.F.; LIMA, C.A.; SOARES, D.S.; MULLER, O.; RASCHER, U; RAMOS, M.L.G. Characterization of wheat genotypes for drought tolerance and water use efficiency. **Scientia Agrícola**, v.78, p.1-11, 2021. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2019-0304>
- SOIL SURVEY STAFF. **Keys to soil taxonomy**. Washington: Natural Resources Conservation Service and Agriculture Department, 2014.
- SORATTO, R.P.; FERNANDES, A.M.; SANTOS, L.A.; JOB, A.L.G. Nutrient extraction and exportation by common bean cultivars under different fertilization levels: I - Macronutrients. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.37, n.4, p.1027-1042, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000400020>
- SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. (Eds). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica/Embrapa-CPA, 2004. 416p.
- SOUZA, H.A.; VIEIRA, L.V.; PRIMO, A.A.; MELO, M.D.; FEITOSA, T.S.; SOUZA, I.M.; PEREIRA, G.A.C.; GUEDES, F.L.; POMPEU, R.C.F.F.; NATALE, W. **Dose econômica e eficiência agrônômica de composto orgânico proveniente de resíduos da criação e abate de pequenos ruminantes e de adubo nitrogenado na produção de grãos de milho em Luvisolo Háplico, no semiárido cearense**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos; 2015.
- STAJKOVIC, O.; DELIC, D.; JOSIC, D.; KUZMANOVIC, D.; RASULIC, N.; KNEZEVIC-VUKCEVIC, J. Improvement of common bean growth by coinoculation with *Rhizobium* and plant growth-promoting bacteria. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucurest, v.16, n.1, p.5919-5926, 2011. <https://www.researchgate.net/publication/228349703>
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6ª.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.
- TAN, K.Z.; RADZIAH, O.; HALIMI, M.S; KHAIRUDDIN, A.R.; SHAMSUDDIN, Z.H. Assessment of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and rhizobia as multi-strain biofertilizer on growth and N₂ fixation of rice plant. **Australian Journal of Crop Science**. v.9, p.1257-1264, 2015. <https://www.researchgate.net/publication/299957560>

- TEIXEIRA FILHO M.C.M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; BENETT, C.G.S; ARF, O.; SÁ, M.E. Wheat nitrogen fertilization under no till on the low altitude Brazilian Cerrado. **Journal of Plant Nutrition**. v.37, p.1732-48, 2014. DOI: 10.1080/01904167.2014.889150.
- TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. de C.F.; FREITAS, J. G. de; ARF, O.; SÁ, M.E. de. Resposta de cultivares de trigo irrigado por aspersão ao nitrogênio em cobertura na região do Cerrado. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.29, p.421-425, 2007. DOI: 10.4025/actasciagron.v29i3.471.
- TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. de C.F.; FREITAS, J.G. de; ARF, O.; SÁ, M.E. Desempenho agrônômico de cultivares de trigo em resposta a população de plantas e a adubação nitrogenada. **Científica**, v.36, p.97-106, 2008. DOI: <https://doi.org/10.15361/1984-5529.2008v36n2p97%20-%20106>
- TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C.G.S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.45, p.797-804, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000800004>
- TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; GALINDO, F.S. Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal. In: SEVERIANO, E.C.; MORAES, M.F.; PAULA, A.M. (Org.). **Tópicos em Ciência do Solo**. 1ed. Viçosa - MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), 2019. v.10, p.577-648.
- TEIXEIRA, W. G. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3ª edição revista e ampliada. Embrapa, Brasília, DF, 574 p., 2017.
- THEAGO, E.Q.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; ANDREOTTI, M.; MEGDA, M.M.; BENETT, C.G.S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio influenciando teores de clorofila e produtividade do trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, p.1826-1835, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832014000600017>
- TORTORA, M.; DIAZ-RICCI, J.C.; PEDRAZA, R. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. **Archives Microbiology** v.193, p.275-286, 2011. DOI: 10.1007/s00203-010-0672-7
- UL-ALLAH, S.; IQBAL, M.; MAQSOOD, S.; NAEEM, M.; IJAZ, M.; ASHFAQ, W.; HUSSAIN, M. Improving the performance of bread wheat genotypes by managing irrigation and nitrogen under semi-arid conditions. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.64, n.12, 1678-1689, 2018. doi: 10.1080/03650340.2018.1450974
- URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; SÁ, J.M.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, v.356, n.1-2, p.1-17, 2011. DOI 10.1007/s11104-011-1016-3.
- USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. National agricultural statistics service. Crop production. Disponible in: <http://www.nass.usda.gov/Publications/index.php>. Access: 20 March 2020.
- VAGHAR, M.; EHSANZADEH, P. Comparative photosynthetic attributes of emmer and modern wheats in response to water and nitrogen supply. **Photosynthetica**, v.56, n.4, p.1224-1234, 2018. doi: 10.1007/s11099-018-0825-5

- VIANA, E.M.; KIEHL, J.C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.4, p.975-982, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000400024>
- VOMOCIL, J.A.; FLOKER, W.J. Effect of soil compaction on storage and movement of soil, air and water. **Transactions of the ASAE**, v.4, p.242-246, 1961. DOI:10.13031/2013.41066
- XIA, L.; LAM, S.K.; CHEN, D.; WANG, J.; TANG, Q.; YAN, X. Can knowledge-based N management produce more staple grain with lower greenhouse gas emission and reactive nitrogen pollution? A meta-analysis. **Global Change Biology**, v.23, p.1917-1925, 2016. doi: 10.1111/gcb.13455.
- XU, G.; WOLF, S.; KAFKAFI, U. Ammonium on potassium interaction in sweet pepper. **Journal of Plant Nutrition**, v.25, p.719-734, 2002. <https://doi.org/10.1081/PLN-120002954>
- YADEGARI, M. Inoculation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds with *Rizobium phaseoli* and plant growth promoting rhizobacteria. **Advances in Environmental Biology**, v.8, n.2, p.419-424, 2014. <https://www.aensiweb.com/old/aeb/2014/419-424.pdf>
- YADEGARI, M.; RAHMANI, H.A.; NOORMOHAMMADI, G.; AYNEBAND, A. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.33, n.12, p.1733-1743, 2010. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.503776>
- YASUDA, M.; ISAWA, T.; MINAMISAWA, K.; SHINOZAKI, S.; NAKASHITA, H. Effects of colonization of a bacterial endophyte, *Azospirillum* sp B510 on disease resistance in rice. **Bioscience, Biotechnoloy Biochemistry** v.73, p.2595-2599, 2009. doi: 10.1271/bbb.90402.
- ZEFFA, D.M.; FANTIN, L.H.; SANTOS, O.J.A.P.D.; OLIVEIRA, A.L.M.D.; CANTERI, M.G.; SCAPIM, C.A.; GONÇALVES, L.S.A. The influence of topdressing nitrogen on *Azospirillum* spp. inoculation in maize crops through meta-analysis. **Bragantia**, v.77, n.3, p.493-500, 2018. doi: 10.1590/1678- 4499.2017273
- ZEFFA, D.M.; PERINI, L.J.; SILVA, M.B.; SOUSA, N.V.; SCAPIM, C.A.; OLIVEIRA, A.L.M.; GONCALVES, L.S.A. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. **PloS One**, v.14, n.4, 2019. e0215332. doi: 10.1371/journal.pone.0215332
- ZORB, C.; LUDEWIG, U.; HAWKESFORD, M.J. Perspective on wheat yield and Quality with reduced nitrogen supply. **Trends in Plant Science**. v.23, p.1029-1037. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.08.012>