



QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TRIGO EM RESPOSTA A APLICAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* E ÁCIDO HÚMICO

M. F. Cotrim*, R. C. F. Alvarez, A. C. C. Seron

UFMS - Univ Federal do Mato Grosso do Sul, Faculdade em Agronomia, Campus Chapadão do Sul, MS, Brasil

Article history: Received 31 August 2016; Received in revised form 18 October 2016; Accepted 24 October 2016; Available online 27 December 2016.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação via semente de *Azospirillum brasilense* e ácido húmico na qualidade fisiológica de sementes de trigo. Os tratamentos foram: testemunha, inoculação da bactéria *Azospirillum brasilense* (AZO), aplicação de ácido húmico (AH) e associação de AZO + AH. As sementes foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, comprimento de raiz e parte aérea e massa seca da raiz e parte aérea. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4 (duas cultivares e quatro tratamentos), com quatro repetições. Concluiu-se que o AZO e o AH isolados, não alteraram a germinação das sementes de trigo, porém, a inoculação via semente do AZO promove benefício no vigor, conferindo maior resistência às sementes quando expostas as condições adversas de alta temperatura e umidade, no entanto, esse efeito depende da cultivar. A aplicação do AH e a associação AZO + AH beneficia o crescimento e peso em massa seca da parte aérea das plântulas de trigo.

Palavras-chave: bactéria diazotrófica, substâncias húmicas, *Triticum aestivum*

PHYSIOLOGICAL QUALITY OF WHEAT SEEDS IN RESPONSE TO APPLICATION OF *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* AND HUMIC ACID

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the application via *Azospirillum brasilense* seed and humic acid on physiological quality of wheat seeds. The treatments were: control, inoculation of bacteria *Azospirillum brasilense* (AZO), application of humic acid (HA) and AZO + AH association. The seeds were submitted to germination, first count, accelerated aging, cold test, root length and shoot and root dry mass and shoot. The design was completely randomized in a 2x4 factorial design (two cultivars and four treatments) with four replications. It was concluded that the AZO and AH isolated, did not affect the germination of wheat seeds, however, inoculation via AZO seed promotes benefit in force, providing greater resistance to seeds when exposed to adverse conditions of high temperature and humidity, in However, this effect depends on the cultivar. The application of AH and AH + AZO association benefits the growth and dry weight mass of shoots of wheat seedlings.

Keywords: diazotrophic bacteria, humic substances, *Triticum aestivum* L.

* mayara_cotrim@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma das principais culturas alimentares, sendo cultivado em diversos ambientes e regiões geográficas. Amplamente utilizado na alimentação humana e animal, além de aplicações em produtos não alimentícios (Fornasieri Filho, 2008).

Dentre os aspectos que merecem atenção para melhor aproveitamento do potencial produtivo, destaca-se a utilização de sementes de alta qualidade, principalmente quanto aos componentes genéticos e fisiológicos (Fanan et al., 2006). Segundo Hossen et al. (2014), o tratamento de sementes pode ser uma alternativa promissora para se ter plântulas vigorosas, proporcionando estandes uniformes, em função da maior percentagem de germinação e, com isso, melhores produtividades de trigo. Logo, torna-se imprescindível ajustar tecnologias para a produção de sementes que permitam homogeneizar o processo de germinação, bem como reduzir o tempo de germinação entre lotes, facilitando tomadas de decisão em relação à origem e ao destino dos lotes (Oliveira et al., 2012).

Neste sentido, dentro das opções de manejo, algumas técnicas surgem como possíveis alternativas para aumento da produtividade, como a disponibilização de nitrogênio. Para atingir esse objetivo, a disponibilização do nitrogênio pode ser realizada por meio da fixação biológica. Essa fixação pode ser realizada por microrganismos procarióticos do solo conhecidos como diazotróficos. Os estudos com bactérias diazotróficas são de grande importância, devido à contribuição destas para o fornecimento de nitrogênio a diversos ecossistemas, naturais ou manejados. Dentre as bactérias diazotróficas, a *Azospirillum brasilense* vem ganhando destaque quando inoculada em sementes, devido ao aumento de produtividade de grãos (Hungria et al., 2010; Novakowski et al., 2011; Braccini et al., 2012).

Diversos estudos mostram o efeito da inoculação dessa bactéria na qualidade

fisiológica das sementes, sendo verificado efeitos positivos no estabelecimento inicial das plântulas e por consequência na produtividade da cultura. Segundo Dartora et al. (2013), a influência do tratamento de sementes de trigo, inoculadas com diferentes estirpes de *A. brasilense*, no desenvolvimento inicial das plântulas, foram de suma importância, visto que os resultados forneceram evidências diretas a respeito da capacidade de colonização radicular sendo compatível com fungicidas-inseticidas na fase de desenvolvimento inicial radicular da cultura. Segundo Santos et al. (2014), para a cultura do girassol, a inoculação de sementes com bactérias endofíticas, melhora o desempenho das plantas sob condições de estresse e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das culturas.

Em trabalho envolvendo sementes de trigo com o *Azospirillum* sp., Sala et al. (2008) observaram interferência no acúmulo de matéria seca com a utilização desta bactéria no tratamento de sementes da cultura. Rodrigues et al. (2000) verificaram que a inoculação de *Azospirillum* sp. em trigo incrementou o teor de nitrogênio nos grãos colhidos, assim como alteração na morfologia de raízes e no desenvolvimento das plantas. Além dos efeitos supracitados, trabalhos envolvendo a bactéria *Azospirillum* sp. e outras gramíneas, neste caso o arroz (*Oryza sativa* L.), demonstram efeitos sobre a velocidade de germinação das sementes e menor contaminação por fungos (Araújo et al., 2010).

A maior parte da matéria orgânica dos solos é composta por huminas, ácidos fúlvicos e húmicos (Guerra et al., 2008). Os efeitos positivos dessas substâncias no solo são evidenciados pela maior estabilidade de agregados, maior atividade biológica, maior concentração de nutrientes, entre outros (Vendruscolo et al., 2014). De acordo com Büyükköskün et al. (2015) em estudos com *Vicia faba*, popularmente chamada de fava, fava-comum, feijão-fava, a aplicação de ácido

húmico supriu os efeitos tóxicos do alumínio sobre o crescimento das raízes laterais e principais e ao mesmo tempo permitiu maior absorção de nutrientes. Os efeitos da aplicação das substâncias húmicas na germinação e na qualidade fisiológica das sementes tem sido relatado em trabalhos recentes com *Leucena* (Baldotto et al., 2013) e em culturas anuais como soja (Weber, 2011) e sorgo

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Chapadão do Sul – MS (UFMS/CPCS), desenvolvido no período de janeiro à maio de 2015. Foram utilizadas sementes de duas cultivares comerciais de trigo, a CD 1440 e a CD 1550, recomendadas para regiões com altitudes acima de 600 metros, como o município de local do estudo (Chapadão do Sul-MS, média de 810 m), fornecidas pela Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC).

O experimento foi conduzido em delineamento estatístico inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4 (duas cultivares de trigo e quatro tratamentos de sementes) com quatro repetições.

Os tratamentos foram: testemunha (sem inoculação); AZO (sementes com inoculação de *Azospirillum brasilense*, na dose 2 mL 1000 kg de sementes⁻¹); AH (aplicação de ácido húmico, na dose de 200 mL 1000 kg sementes⁻¹) e AZO + AH (inoculação de *Azospirillum brasilense* mais o ácido húmico, nas mesmas doses citadas acima). As doses foram recomendadas pelo fabricante do produto para a cultura. O tratamento das sementes foi realizado manualmente, misturando os respectivos tratamentos dentro de sacos plásticos. Após a aplicação, o conjunto foi agitado para homogeneizar a cobertura.

O produto contendo AZO apresenta na sua constituição 5 bilhões de bactérias *A. brasilense* por grama ou mL, e o AH é constituído de ácido húmico (18%), ácido fúlvico (3%), humato solúvel (98%),

(Vendrusculo et al., 2014). Com isso, a aplicação de ácido húmico vem crescendo em função das respostas obtidas especialmente em cultivos com alto nível tecnológico (Rodrigues et al., 2014).

Portanto, o presente estudo visa abordar o efeito da aplicação via semente do *Azospirillum brasilense* e ácido húmico na qualidade fisiológica de sementes de trigo.

densidade (1,2 g cm³), carbono orgânico (12%) e CTA (60%).

As características avaliadas foram: teste de germinação, quatro repetições com sub amostras de 50 sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato não hidratado, e as avaliações foram realizadas aos quatro e oito dias após a implantação do teste. A primeira contagem foi conduzida juntamente com o teste de germinação, computando se a porcentagem de plântulas normais obtidas aos quatro dias após a semeadura (Brasil, 2009).

Já para o teste de envelhecimento acelerado, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, por tratamento, distribuídas sobre tela suspensa no interior de caixa plástica (11x11x3,0cm), tipo gerbox, contendo 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em incubadora tipo Mangelsdorf, regulada a 41°C por 72 horas. Posteriormente, as sementes foram submetidas ao teste de germinação conforme Brasil (2009), posteriormente determinado a porcentagem de plântulas normais, aos cinco dias após a semeadura (Hampton & Tekrony, 1995)

No teste de frio, foram utilizados quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, distribuídas em rolos de papel umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato. Os tratamentos foram acondicionados em sacos plásticos para manter a umidade, permanecendo por sete dias à temperatura de 10°C, e em seguida

foram transferidos a temperatura de 25°C durante cinco dias, e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais (Loeffler et al., 1985).

Para comprimento de plântulas, foram dispostas 20 sementes de 4 repetições sobre uma linha traçada longitudinalmente a 2,0 cm da borda superior do papel em rolos de papel umedecido, utilizando três folhas umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel não hidratado; comprimento das plântulas foi medido oito dias após a semeadura, onde efetuou-se as medidas das plântulas com auxílio de régua milimetrada, expressos em centímetros. Foram mensuradas as partes das plântulas pela

medida tomada entre o colo da planta e a ponta da maior raiz com os resultados expressos em centímetros (cm). Estas mesmas plântulas foram acondicionadas em sacos de papel, e colocadas em estufa com circulação de ar à temperatura de 80°C por 24 horas. Após este período, ambas as partes das plântulas foram pesadas em balança analítica, obtendo-se a massa da matéria seca (em miligramas) (Nakagawa, 1999).

A análise de variância foi efetuada separadamente para cada teste e cultivar. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo software Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de germinação (Tabela 1), não houve diferença entre as fontes de variação, todavia as sementes apresentaram alto potencial germinativo, observa-se a superioridade de qualidade fisiológica inicial das sementes. Ressaltando, que para testes fisiológicos sem submissão de

variações de temperatura em sementes até o estágio de plântula, o eixo embrionário utiliza seu próprio recurso adquirido no processo de maturação, deste modo, nas fases iniciais de germinação e emergência, estes produtos não conferem considerável eficácia.

Tabela 1. Quadro de análise de variância para germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA) e teste de frio (TF) de plântulas de trigo tratadas com *Azospirillum brasilense* (AZO) e ácido húmico (AH)

Variáveis	G %	PCG %	EA %	TF $\mu\text{S.cm}^1\text{g}^{-1}$
Cultivares				
CD1440	90,13 ¹ a	49,37 a	85,38 a	94,50a
CD1550	92,06 a	14,25 b	56,63 b	86,63b
Tratamentos				
Testemunha	90,25 a	39,25 a	67,50	90,00 a
AZO	91,75 a	32,75 ab	73,25	93,00 a
AH	91,75 a	31,50 ab	75,75	92,50 a
AZO +AH	90,62 a	23,75 b	67,50	86,75 a
Cultivar (C)	0,97 ^{ns}	125,80 ^{**}	125,16 [*]	90,89 [*]
Tratamento(T)	0,16 ^{ns}	4,11 [*]	3,53 ^{**}	1,58 ^{ns}
C x T	0,49 ^{ns}	7,02 ^{**}	21,80 ^{**}	1,41 ^{ns}
CV%	5,96	27,89	8,84	7,10

¹Valores seguidos da mesma letra na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. *significativo à 5% de probabilidade pelo Teste F. **significativo à 1% de probabilidade pelo Teste F. ^{ns} não significativo. Coeficiente de Variação (CV).

Nas avaliações de primeira contagem de germinação (Tabela 1), houve significância entre cultivares, tratamentos e na interação entre estes. Para esta variável, a cultivar CD 1440 foi superior à CD 1550. Para os tratamentos com aplicação de AZO e AH isolados apresentaram maior desempenho, porém, não diferiram da testemunha, já a interação entre os produtos em análise obtiveram resultado negativo, demonstrando que o efeito do produto depende, também, da qualidade fisiológica das sementes.

Nota-se que para envelhecimento acelerado (Tabela 1), averiguou se interação significativa entre todas as fontes de variação avaliadas. Deste modo, as diferenças analisadas entre os resultados para essa variável, que não haviam sido detectadas pelo teste de germinação, podem ser atribuídas à queda do vigor que precede à perda da germinação, de modo que lotes com percentagens de germinação semelhantes podem diferir quanto ao desempenho em campo, principalmente quando as condições de ambiente desviam-se das mais adequadas. (Torres, 2002). Contudo, o teste de envelhecimento acelerado é de extrema importância para diferenciação de lotes de sementes de trigo quanto ao vigor (FANAN et al., 2006).

Ao analisarmos o desdobramento (Tabela 2), entre os tratamentos, o maior número de plântulas normais foi alcançado

na cultivar CD 1440 inoculadas com AZO e na associação de AZO + AH, demonstrando acréscimo no vigor. O efeito da temperatura sobre o desenvolvimento e a produção de trigo varia entre cultivares, sendo esta, recomendada para o cerrado sul mato grossense (recomendadas para altitudes maiores ou iguais á 600 m, o município do presente estudo está localizado em Chapadão do Sul-MS que apresenta média de 810 m).

De acordo com Almeida et al. (2009), explicam que em tratamento de sementes com inoculação de *Azospirillum brasilense*, ativa várias reações fisiológicas, como a expressão de proteínas, sendo que estas interagem com vários mecanismos de defesa, permitindo que a planta suporte melhor as condições adversas do meio ambiente. Outros autores, como Piccinin et al. (2015), trabalhando com doses de nitrogênio, conjugadas à inoculação com *Azospirillum brasilense*, independente do veículo líquido ou turfoso, observaram acréscimos no vigor e ganhos satisfatórios na qualidade fisiológica das sementes de trigo, com isso, concluíram que a inoculação com bactérias endofíticas pode ser uma tecnologia alternativa de cultivo para quem almeja obter sementes com maior qualidade, sendo estas danificadas por estresse quando expostas em altas temperaturas.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre tratamentos e cultivares de trigo em relação ao teste de envelhecimento acelerado.

	Envelhecimento acelerado (%)			
	Testemunha	AZO	AH	AZO + AH
CD 1440	79,50 ¹ aBC	94,50 aA	76,50 aC	91,00 aAB
CD 1550	55,50 bB	52,00 bB	75,00 aA	44,00 bB
CV%	8,84	8,84	8,84	8,84

¹Valores seguidos da mesma letra minúscula (coluna) e maiúscula (linha), não diferem pelo teste Tukey a 5% e a 1% de probabilidade.

Avaliando os tratamentos, a aplicação de AH, favoreceu a cultivar CD 1550, porém não diferiu da cultivar CD1440. Ainda não está claro como o ácido húmico pode modificar a bioquímica

e o metabolismo das plantas. Para Visser (1984), o aumento na permeabilidade das membranas celulares é provocado pela ação surfactante que o AH apresenta, assim, as membranas biológicas em contato

com o AH teriam sua permeabilidade aumentada, conseqüentemente, a entrada de íons e a nutrição celular seriam facilitadas. Vendrusculo et al. (2014), trabalhando com duas variedades de sementes de sorgo sob tratamento de diferentes dosagens de Humykos, observaram que não houve efeito das dosagens de substâncias húmicas na germinação e no crescimento inicial de plântulas de sorgo. Destaca-se com os resultados citados acima que os efeitos dos tratamentos são incertos e depende, além da espécie testada, das dosagens das substâncias usadas, grau de purificação do material e das condições em que foi realizado o estudo.

Para Marcos Filho (2005), vários fatores como genótipo, grau de umidade inicial das sementes, temperatura e período de permanência das sementes no interior da

câmara de envelhecimento, dentre outros, influenciam o resultado do teste de envelhecimento acelerado.

Já no teste de frio (Tabela 1), apenas a cultivar CD 1440 apresentou valores de F significativos, demonstrando superioridade à CD 1550, aferindo maior qualidade fisiológica atribuída a cultivar destacada.

No comprimento de raiz e parte aérea de plântulas de trigo (Tabela 1), não houve interação entre cultivar e tratamento. Entretanto, o tratamento com a aplicação de AH isolado (Tabela 3) apresentou desempenho no crescimento da raiz, todavia não diferiu da testemunha e da aplicação de AZO. Já para comprimento de parte aérea a combinação AZO + AH e AH isolado aumentou o crescimento da parte aérea. No entanto, a aplicação isolada de AZO não obteve diferença estatística da testemunha.

Tabela 3. Quadro de análise de variância para Comprimento de raiz (CRA), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de raiz (MSRA), massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas de trigo tratadas com *Azospirillum brasilense* e ácido húmico.

Variáveis	CRA cm	CPA cm	MSRA mg	MSPA mg
Cultivares				
CD1440	13,10 ¹ a	7,15 a	72,52 a	79,19 a
CD1550	11,80 b	6,44 b	67,14 a	66,01 b
Tratamentos				
Testemunha	12,71 ab	6,32 b	65,96 a	65,95 b
AZO	12,27 ab	6,72 ab	68,20 a	72,44 ab
AH	13,11 a	7,14 a	70,70 a	75,95 a
AZO +AH	11,78 b	7,03 a	74,46 a	77,06 a
Cultivar (C)	31,75*	77,15*	1,36 ^{ns}	13,89**
Tratamento (T)	5,79*	8,32*	1,94 ^{ns}	4,20**
C x T	0,21 ^{ns}	1,62 ^{ns}	2,46 ^{ns}	1,97 ^{ns}
CV%	5,39	5,31	10,6	9,62

¹Valores seguidos da mesma letra na coluna, não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. *significativo à 5% de probabilidade pelo Teste F. **significativo à 1% de probabilidade pelo Teste F. ^{ns} não significativo. Coeficiente de Variação (CV).

Em contrapartida, Conceição et al. (2008), observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas em sementes de milho, embora não tenha afetado a germinação das sementes, aumentou o desenvolvimento da parte aérea das

plantas, provavelmente devido à ação das bactérias sobre o alongamento celular, pela turgescência vacuolar.

Os efeitos fisiológicos dos AH são a promoção do crescimento radicular (Façanha et al., 2002), e os efeitos

bioestimulantes do AH tem sido creditada à sua atividade similar a auxinas (Chen & A vaid 1990; Façanha et al., 2002). Porém, recomendam-se estudos aprofundados para sua indicação em diferentes variedades e híbridos.

Considerando os valores para massa seca (Tabela 3), observou-se significância somente no acúmulo de massa seca da parte aérea de plântulas de trigo, sendo significativo entre as cultivares e para tratamentos, demonstrando mais uma vez o vigor no lote de sementes da cultivar CD 1440. Enquanto, a associação de AZO + AH e AH isolado conferiu melhor performance, entretanto não diferiu da

CONCLUSÕES

A inoculação via semente do *Azospirillum brasilense* e a associação do *A. brasilense* com o ácido húmico promovem benefícios no vigor das sementes de trigo, conferindo maior resistência quando expostas as condições de alta temperatura e umidade, no entanto esse efeito depende da cultivar.

A aplicação via tratamento de sementes de ácido húmico aumenta o

aplicação de AZO isolado. Nota-se que a testemunha demonstrou menor desempenho entre os tratamentos.

Com os resultados verificou-se que a inoculação via semente do *Azospirillum brasilense* e do ácido húmico não influenciaram a germinação das sementes de trigo, porém promoveram melhora no vigor das sementes em condições de altas temperaturas e umidade.

Benefícios no crescimento da raiz, da parte aérea e matéria seca de parte aérea das plântulas de trigo também foram constatados nas sementes tratadas com ácido húmico e na associação do *Azospirillum brasilense* mais ácido húmico.

crescimento da raiz, parte aérea, e massa seca de parte aérea de plântulas trigo.

A associação *Azospirillum brasilense* mais ácido húmico aplicados via sementes aumenta o crescimento da parte aérea nas plântulas de trigo.

As sementes do lote de alto vigor (CD 1440) são superiores as de baixo vigor (CD 1550) em todas as variáveis estudadas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. S. et al. Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 87-95. 2009.

ARAÚJO, A. E. S.; ROSSETO, C. A. V.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 932-939, 2010.

BALDOTTO, M. A.; GOBO, A. A. R.; SALOMÃO, M. S.M. B.; REZENDE, C. E.; CAMARGO, P. B. Frações da matéria orgânica e propriedades redox de substâncias húmicas em sedimentos de oceanos profundos. **Química Nova**, São Paulo, v.36, n.9, p.1288-1295, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS. 2009.

BRACCINI, A. L.; DAN, L. G. M.; PICCININ, G. G.; ALBRECHT, L. P.; BARBOSA, M. C.; ORTIZ, A. H. T. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

BÜYÜKKESKIN, T.; AKINCI, S. EROGLU, A.E. Effects of humic acid on root development and nutrient uptake of *Vicia faba* L. (Broad Bean) seedlings grown under aluminium toxicity. **Communications in Soil Science and**

- Plant Analysis**, New York, v. 46, p. 277-292, 2015.
- CHEN, Y.; AVIAD, T. Effects of humic substances on plant growth. In: Maccarthy, P., Clapp, C.E., Malcom, R.L., Bloom, P.R. (Eds.), *Humic Substances in Soils and Crop Science: Selected Readings*. **Soil Science Society of America**. Madison, p.161-1186. 1990.
- CONCEIÇÃO, P. M. et al. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Campos dos Goytacazes, RJ, v.43, p.545-548. 2008.
- DARTORA, J. et al. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. **Global Science and Technology**. Rio Verde, GO, v.06, n. 03, p.190-201. 2013.
- FAÇANHA, A. R. et al. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, DF, v.37, p.1301-1310. 2002.
- FANAN, S. et al. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, RS, v.28, n.2, p.152-158. 2006.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35(6): p 1039-1042, 2011.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do trigo**. Jaboticabal: Funep, 338p. 2008.
- GUERRA, J. C. M. et al. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G. A., ed. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. Porto Alegre, RS, p.19-26. 2008.
- HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. **Handbook of vigour test methods**. 3 ed. Zurich: ISTA, 117P. 1995.
- HOSSEN, D. C. et al. Tratamento químico de sementes de trigo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, GO, v. 44, n. 1, p. 104-109. 2014.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.
- LOEFFLER, N. L.; MEIER, J. L.; BURRIS, J. S. Comparison of two cold test procedures for use in maize drying studies. **Seed Science and Technology**, Zürich, SUISSE, v.13, n.3, p.653-658. 1985.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. **Abrates**. Londrina, cap.3, p.1-24. 1999.
- NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina**, Londrina, v. 32, supl. 1, p. 1687-1698, 2011.
- OLIVEIRA, F. N. et al. Qualidade fisiológica de sementes de girassol avaliadas por condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 42, n. 3, p. 279-287. 2012.
- PICCININ, G.G. et al. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação de biorregulador. **Informativo Abrates**, Maringá, PR, vol.25, nº1. 2015.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; GOUVEIA, J. A.; SOARES, R. C. Nitrogen translocation in wheat inoculated

with *Azospirillum* fertilized with nitrogen.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1473-1481, 2000.

RODRIGUES, L. F. O. S. et al. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v.18, n.1, p.31-37. 2014.

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

SANTOS, J. F. et al. Crescimento de girassol em função da inoculação de sementes com bactérias endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 44, n. 2, p.142-150. 2014.

TORRES, S.B. **Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão**. 2002. 103f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

VENDRUSCOLO, E. P.; SANTOS, O. F.; ALVES, C. Z. Substâncias húmicas na qualidade fisiológica de sementes de sorgo. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n.2, p.169-177. 2014.

VISSER, S. A. Effect of humic acids on numbers and actives of microorganisms within physiological groups. **Organic Geochemistry**, Quebec, p.81-85. 1984.

WEBER, F. Uso de bioestimulantes no tratamento de sementes de soja. Pelotas, 2011. 28f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2011.