



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

THIAGO MONTAGNER SOUZA

**IMPACTO DE MANEJO E TRATOS CULTURAIS NA
COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CONTAMINAÇÃO POR
DESOXINIVALENOL-DON E QUALIDADE TECNOLÓGICA
DE TRIGO NO ESTADO DO PARANÁ-BRASIL**

Londrina
2013

THIAGO MONTAGNER SOUZA

**IMPACTO DE MANEJO E TRATOS CULTURAIS NA
COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CONTAMINAÇÃO POR
DESOXINIVALENOL-DON E QUALIDADE TECNOLÓGICA
DE TRIGO NO ESTADO DO PARANÁ-BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S729i Souza, Thiago Montagner.
Impacto de manejo e tratos culturais na composição química, contaminação por desoxinivalenol-DON e qualidade tecnológica de trigo no estado do Paraná-Brasil / Thiago Montagner Souza. – Londrina, 2013. 124 f. : il.

Orientador: Elisa Yoko Hirooka.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos – Microbiologia – Teses. 2. Alimentos – Contaminação – Teses. 3. Rotação de cultivos – Teses. 4. Trigo como alimento – Teses. 5. Fertilizantes nitrogenados – Teses. I. Hirooka, Elisa Yoko. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CDU 641:579

THIAGO MONTAGNER SOUZA

**IMPACTO DE MANEJO E TRATOS CULTURAIS NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA, CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL-DON E
QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGO NO ESTADO DO PARANÁ-
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos. Bolsa concedida pelo CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; apoio financeiro pelo projeto nº 5784542008-4 do CNPq- MAPA/SDA e projeto nº 23 da CAPES/NANOBIO.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong
Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 05 de Abril de 2013.

DEDICO

A Deus, por ter iluminado meu caminho e permitido completar mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, José Amarildo Souza e Elizabete Terezinha Montagner Souza pelo amor, compreensão, dedicação, força e incentivo a me aprimorar dia a dia nos estudos.

Aos meus irmãos Thamara e Thierre, pelo eterno apoio, amizade, força, companheirismo, alegria e compreensão.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka pela oportunidade da realização desse trabalho, confiança, auxílio em todos os momentos e orientação;

À Profa. Dra. Luciana Pereira Bernd primeiramente por ter confiado em mim e ter me dado à oportunidade de ser seu estagiário, pela paciência despendida, conhecimentos repassados, conselhos, apoio e, sobretudo amizade;

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pelos ensinamentos e colaboração durante o desenvolvimento do Curso de Mestrado;

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CNPq-MAPA/SDA, CAPES/NANOBIIO e Programa MARCA pelas bolsas e apoio concedido;

Ao Prof. Dr. Claudemir Zucareli e Dr. André Mateus Prando pelos conhecimentos repassados, conselhos, apoio e, por ceder às amostras e tornar possível a realização deste trabalho;

A Dra. Martha Zavariz de Miranda da Embrapa-CNPT, pelas análises de qualidade tecnológica, conselhos e prontidão, e Paola Lopes da Granotec/Granolab do Brasil pela colaboração;

Ao Dr. Osamu Kawamura da *Kagawa University*, Japão, pelo fornecimento de hibridoma anti-DON.3 e pelas importantes informações a respeito de produção de reagentes imunológicos, sem os quais o trabalho não seria possível;

Ao Prof. Dr. Fábio Yamashita e Profa. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca, pelos conselhos e apoio na análise estatística, e Profa. Dra. Marta Benassi pelos ensinamentos, conselhos e prontidão;

Aos colegas de trabalho e amigos, Joice Sifuentes dos Santos, Cássia Reika Takabayashi, Wagner Risso, Tatiana Ávila Miguel, Angélica Tieme Ishikawa, Ana Lúcia de Souza Madureira Felício, Lígia Manoel Martins e Gervásio Hitoshi Saito, pelo auxílio, colaboração, amizade e momentos de descontração;

Aos estagiários Ágata Barradas Rodrigues, Felipe Pedote Fracalossi, Michel Yudi Shinkai Kanemaru e Renata Yumi Hamada, pela colaboração, amizade e descontração;

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos desta Instituição, em especial a Sandra Rezende, Patrícia Sambatti, Elza Youssef e Neusa Cassula, pelo apoio técnico e administrativo;

Aos meus amigos, Cleusa weber, Eduardo Hatada, Denis Marchi, Samira Prado, Taís Martins, Nicholas Reyes, Bárbara Panoff, Nathalie Maluta e a todos os outros que estiveram ao meu lado em todas as ocasiões. Obrigado pela amizade, alegria e companheirismo;

Aos colegas da Turma 2011 de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Mônica Reis, Juliano Zanela, Diogo Pedrollo, Gleice Almeida, Juliana Nunes, Daiana Rosso, pela amizade e convivência, que jamais serão esquecidos. Em especial a Cíntia Ladeira Handa, pela amizade, conselhos e alegrias;

Enfim, a todos que contribuíram de alguma maneira para realização deste trabalho.

**"Quando a gente acha que tem
todas as respostas, vem a vida e
muda todas a perguntas."**

(Luís Fernando Veríssimo)

SOUZA, Thiago Montagner. **Impacto de manejo e tratos culturais na composição química, contaminação por desoxinivalenol - don e qualidade tecnologica de trigo no estado do Paraná-Brasil.** 2013. 124f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2013.

RESUMO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) destaca-se entre os cereais de maior cultivo mundial, cujo agronegócio globalizado exige alta produtividade aliado a qualidade nutricional, tecnológica e segurança. Visando avaliar o impacto de manejo e tratos culturais na qualidade de grão produzido, campos experimentais foram conduzidos com trigo (BRS 220 e BRS Tangará) na região Norte (Município de Londrina) e Centro-Sul (Município de Ponta Grossa) do Estado do Paraná-Brasil, nos anos de 2010 e 2011. O cultivo foi realizado em sucessão a cultura do milho ou soja em Londrina (2010 e 2011); soja (2010) e milho (2011) em Ponta Grossa, sendo que em ambos procedeu-se a inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹). Os fatores avaliados no grão consistiram de composição química (atividade de água, proteína, lipídeo, cinza, amido, carboidrato total) e contaminação por desoxinivalenol-DON (Londrina e Ponta Grossa), e análise de qualidade tecnológica em Londrina por método primário e secundário-NIR (peso hectolítrico, índice de dureza e diâmetro do grão, e extração experimental, número de queda, alveografia e cor da farinha). Avaliando efeito de sucessão de cultura (milho ou soja) em Londrina (BRS 220), observou-se diferença na composição do grão, exceto no teor de lipídeo e contaminação por DON (p<0,05). A inoculação com *A. brasilense* em Ponta Grossa (BRS Tangará) resultou em aumento no teor de proteína em 2010 (16,9 g/100g) e 2011 (15,7 g/100g). Analisando o efeito de adubação nitrogenada em Londrina, o incremento na dose de nitrogênio resultou em aumento no teor de proteína em 2010 (16,0 g/100g) e 2011 (16,5 g/100g), e redução no teor de carboidrato total em 2010 (68,4 g/100g) e 2011 (68,2 g/100g). Resultado semelhante foi observado em Ponta Grossa, onde o incremento da dose também resultou em aumento no teor de proteína em 2010 (17,7 g/100g) e 2011 (16,4 g/100g). Em resposta a dose de nitrogênio, o teor de proteína foi o fator com maior variação, seja em Londrina (12,7 a 16,5 g/100g, incremento de 30,3% em 2011) como em Ponta Grossa (14,0 a 16,4 g/100g, incremento de 17,2% em 2011) e esteve diretamente correlacionado com o incremento na adubação (Londrina r=0,78; Ponta Grossa r=0,75; p<0,05). Diferença na composição química do grão em Londrina (teor de proteína) resultou em alterações na qualidade tecnológica do grão, principalmente nas características alveográficas da massa em 2011, com aumento na força de glúten (333,1x10⁻⁴j), extensibilidade (117,7 mm), índice de intumescimento (24,0 mm) e índice de elasticidade (58,3%), e redução da tenacidade (90,1 mm) (p<0,05). Em relação à contaminação por DON, 95% (2010) e 100% (2011) das amostras de Londrina, e 62,5% (2010 e 2011) das amostras de Ponta Grossa, apresentaram nível de contaminação inferior ao limite máximo estabelecido pela legislação brasileira (2000 µg.kg⁻¹). A análise por NIR apresentou-se adequada na determinação de proteína (r=0,96), diâmetro de grão (r=0,90) e coordenadas de cor (a*=0,91; b*=0,85), sendo indicado para triagem rápida na recepção e linha de processamento (p<0,05). Em adição ao melhoramento genético, o manejo de nitrogênio no solo seria recomendado como procedimento adicional para obtenção de matérias prima com perfil desejado perante composição química e consequente característica tecnológica de trigo. Os resultados demonstraram a importância de estudos sobre manejo adequado visando maximizar a produtividade e qualidade de grão.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* (L.). Sucessão de cultura. *Azospirillum brasilense*. Adubação nitrogenada. Composição química. Qualidade tecnológica. DON.

SOUZA, Thiago Montagner. **Impact of agricultural management practices in the chemical composition, deoxynivalenol-don contamination and technological quality of wheat in paraná State-Brazil.** 2013. 124p.Dissertation (Master's Degree in Food Science) - State University of Londrina, Londrina. 2013.

ABSTRACT

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important cereal crop worldwide, and due to its importance, globalized agribusiness requires high productivity combined with nutritional quality, technology and safety. To evaluate the impact of agricultural management practices in the quality of grain produced, field trials were conducted with wheat (BRS 220 and BRS Tangara) in the North (City of Londrina) and South Central (City of Ponta Grossa) of Paraná State-Brazil, in 2010 and 2011. Cultivation system was carried out in succession to corn or soybeans in Londrina (2010 and 2011); soybean (2010) and corn (2011) in Ponta Grossa, and in both locations proceeded inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen rates in coverage (0, 30, 60, 90, 120 kg.ha⁻¹). The parameters evaluated in the grain consisted of chemical composition (water activity, protein, fat, ash, starch, total carbohydrate) and deoxynivalenol-DON contamination (Londrina and Ponta Grossa), and analysis of the technological quality in Londrina by primary and secondary method-NIR (hectoliter weight, diameter and hardness of the grain, and experimental mill, falling number, alveograph and color flour). Evaluating the effect of crops succession (corn and soybeans) in Londrina (BRS 220), differences were observed in the composition of the grain, except for component as lipid and contamination by DON ($p < 0.05$). The inoculation with *A. brasilense* in Ponta Grossa (BRS Tangara) resulted in an increase in protein content in 2010 (16.9 g/100g) and 2011 (15.7 g/100g). Analyzing the effect of nitrogen fertilization in Londrina, increasing in nitrogen rates resulted in increase in protein content in 2010 (16.0 g/100g) and 2011 (16.5 g/100g), and decrease in carbohydrate content total in 2010 (68.4 g/100g) and 2011 (68.2 g/100g). Similar results were observed in Ponta Grossa, when increasing in nitrogen rates also resulted in increase in protein content in 2010 (17.7 g/100g) and 2011 (16.4 g/100g). In response to nitrogen rates, the protein content was the factor with the greatest variation in Londrina (12.7 to 16.5 g/100g, an increase of 30.3% in 2011) and in Ponta Grossa (14.0 to 16.4 g/100g, an increase of 17.2% in 2011), being directly correlated with gradual increase in fertilization (Londrina $r = 0.78$; Ponta Grossa $r = 0.75$; $p < 0.05$). Modifying in the chemical composition of the grain in Londrina (protein) resulted in changes in the technological quality of the grain, particularly in the alveograph characteristics in 2011, with an increase in gluten strength (333.1×10^{-4} J), dough extensibility (117.7 mm), swelling index (24.0 mm) and elasticity index (58.3%), and a reduction in tenacity (90.1 mm) ($p < 0.05$). In regard to DON contamination, 95% (2010) and 100% (2011) of samples from Londrina, and 62.5% (2010 e 2011) of samples from Ponta Grossa, showed levels of contamination below the 2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ limit established by Brazilian legislation. The analysis by NIR appeared to be suitable to measure grain protein content ($r = 0.96$), grain diameter ($r = 0.90$) and flour color ($a^* = 0.91$, $b^* = 0.85$), for rapid screening at reception and processing line. In addition to breeding, management of soil nitrogen would be recommended as additional procedure to obtain raw materials with desired profile in relation to chemical composition and consequent wheat technological characteristics. The results demonstrated the importance of studies on appropriate management to maximize productivity and grain quality.

Keywords: *Triticum aestivum* (L.). Crop succession. *Azospirillum brasilense*. Nitrogen fertilization. Chemical composition. Technological quality. DON.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Partes componentes do grão de trigo	22
Figura 2 – Estrutura química de tricotecenos	34
Figura 3 – Mapa climático do Estado do Paraná.....	42
Figura 4 – Fluxograma geral do experimento.....	44
Figura 5 – Croqui da área experimental em Londrina – PR.....	45
Figura 6 – Croqui da área experimental em Ponta Grossa – PR.....	46
Figura 7 – Extração de amido disponível	50
Figura 8 – Extração de DON para quantificação por ic-ELISA.....	53
Figura 9 – Quantificação de DON por ic-ELISA	54

Capítulo I

Figura 1 – Dados climáticos (temperatura e precipitação pluvial), Londrina-PR (2010 e 2011)	78
Figura 2 – Teor de proteína no grão de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a nitrogênio em cobertura (dose) e sucessão de cultura (milho e soja), Londrina-PR.....	79
Figura 3 – Curvas padrão para detecção de DON por ic-ELISA.....	80
Figura 4 – Região Norte do Estado do Paraná (Londrina, 2010 e 2011): A) Distribuição dos níveis de DON em amostras (n=160) de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220); B) Precipitação pluvial mensal acumulada (14/05 a 15/09/2010 e 04/05 a 19/09/2011).....	81

Capítulo III

Figura 1 – Dados climáticos (temperatura e precipitação pluvial) em Ponta Grossa- PR (2010 e 2011)	107
Figura 2 – Teor de proteína no grão de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará), em resposta a nitrogênio em cobertura (dose) em 2010 e 2011, Ponta Grossa- PR.....	108
Figura 3 – Região Centro Sul do Estado do Paraná (Ponta Grossa, 2010 e 2011): A) Distribuição dos níveis de DON em amostras (n=80) de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará); B) Precipitação pluvial mensal acumulada (24/06 a 15/11/2010 e 15/06 a 18/11/2011)	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química das partes do grão de trigo	23
Tabela 2 – Classificação da dureza do grão de trigo	30
Tabela 3 – Tipos de trigo do Grupo II destinado à moagem e a outra finalidade	31
Tabela 4 – Classes de trigo do Grupo II destinado à moagem e a outra finalidade	32
Tabela 5 – Limite máximo tolerado (LMT) para DON em alimento brasileiro	35

Capítulo I

Tabela 1 – Análise química do solo da área experimental: Pré-implantação do experimento com trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), Londrina-PR (2010).....	69
Tabela 2 – Análise de variância (Prob.>F) – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (milho ou soja), inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR	70
Tabela 3 – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (palhada de milho ou soja), Londrina-PR	71
Tabela 4 – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a interação precedente cultural x dose de nitrogênio, Londrina-PR	72
Tabela 5 – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> , Londrina-PR	73
Tabela 6 – Atividade de água e composição química em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a interação <i>Azospirillum brasilense</i> x dose de nitrogênio, Londrina-PR.....	74

Tabela 7 – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a dose de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR.....	75
Tabela 8 – Correlação (<i>Pearson</i>) entre dose de nitrogênio, atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), Londrina-PR (2010 e 2011)	76
Tabela 9 – Recuperação de desoxinivalenol (DON) em trigo por ic-ELISA	77

Capítulo II

Tabela 1 – Análise de variância (Prob.>F) - Qualidade tecnológica de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (milho ou soja), inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.....	91
Tabela 2 – Indicadores de qualidade tecnológica de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (milho ou soja), inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.....	92
Tabela 3 – Alveografia de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (milho ou soja), inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.....	93
Tabela 4 – Cor de farinha de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), em resposta a precedente cultural (milho ou soja), inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.....	94
Tabela 5 – Correlação (<i>Pearson</i>) entre dose de nitrogênio, qualidade tecnológica e composição química de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS 220), Londrina-PR (2010 e 2011)	95
Tabela 6 – Correlação de <i>Pearson</i> entre método primário e secundário (NIR).....	96

Capítulo III

Tabela 1 – Análise de variância (Prob.>F) – Atividade de água, umidade, proteína e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará), em resposta a inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio em cobertura (dose), Ponta Grossa-PR.....	103
--	-----

Tabela 2 – Atividade de água, umidade, proteína e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará), em resposta a inoculação (<i>Azospirillum brasilense</i>) e nitrogênio (dose), Ponta Grossa-PR	104
Tabela 3 – Atividade de água, umidade e contaminação por desoxinivalenol em trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará), em resposta a interação <i>Azospirillum brasilense</i> x dose de nitrogênio, Ponta Grossa-PR.....	105
Tabela 4 – Estimativa por ic-ELISA de nível de contaminação por desoxinivalenol em amostras (N=80 amostras) de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L. BRS Tangará), Ponta Grossa-PR (2010 e 2011).....	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
a.C	Antes de Cristo
AACC	<i>American Association of Cereal Chemistry</i>
AOAC	<i>American Organization of Analytical Chemists</i>
BSA	Albumina de soro bovino - <i>Bovine Serum Albumine</i>
cmol_c.dm³	Centimol de Carga por Decímetro Cúbico
CNPSo	Centro Nacional de Pesquisa de Soja
CNPT	Centro Nacional de Pesquisa de Trigo
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
DON	Desoxinivalenol
DPR	Desvio Padrão Relativo
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ha	Hectare
IAPAR	Instituto Agronômico do Paraná
ic-ELISA	<i>ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) Indirect competitive</i>
IDE	Ingestão Diária Estimada
IgG	Imunoglobulina G
Kg.ha⁻¹	Quilograma por Hectare
kg.hL⁻¹	Quilograma por Hectolitro
LC-MS	Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa
mg.dm³	Miligrama por decímetro cúbico
NIR	Espectroscopia de Infravermelho Próximo - <i>Near-Infrared</i>
NQ	Número de Queda

PBS	Tampão Fosfato de Sódio
PBST	Tampão Fosfato de Sódio – Tween
PH	Peso Hectolítrico
pH	Potencial Hidrogeniônico
PR	Paraná
s	Segundo
SB	Soma de Bases
SCKS	Sistema de Caracterização Individual de Grão - <i>Single Characterization Kernel System</i>
SPM	Produtos e Mercado
UV	Radiação Ultravioleta
V	Saturação por Base
VCU	Valor de Cultivo e Uso

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVO	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	A CULTURA DE TRIGO	20
3.2	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE GRÃOS DE TRIGO.....	21
3.2.1	Umidade	23
3.2.2	Proteína	24
3.2.3	Lipídeo.....	25
3.2.4	Carboidratos	26
3.2.5	Micronutrientes	28
3.3	QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGO.....	29
3.3.1	Legislação Brasileira – Classificação Comercial de Trigo	31
3.4	FUSARIOSE E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL.....	33
3.5	ADUBAÇÃO	36
3.5.1	Fertilização Nitrogenada.....	37
3.5.2	Bactéria Promotora de Crescimento.....	39
4	MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1	MATERIAL.....	41
4.1.1	Infra-Estrutura.....	41
4.1.2	Localização e Caracterização da Área Experimental	41
4.1.3	Matéria-Prima e Insumos.....	43
4.1.4	Delineamento Experimental.....	44
4.1.5	Procedimento Operacional	46
4.2	MÉTODOS.....	47
4.2.1	Análises Físico-Químicas do Grão	47
4.2.1.1	Umidade	47
4.2.1.2	Atividade de água.....	47
4.2.1.3	Proteína (Método Kjeldahl)	48
4.2.1.4	Lipídeos (Método Soxhlet).....	48
4.2.1.5	Cinzas (Resíduos por incineração).....	48
4.2.1.6	Amido disponível	49

4.2.1.7	Carboidrato total	51
4.2.2	Determinação de Desoxivalenol-DON	51
4.2.2.1	Calibração de padrão	51
4.2.2.2	Teste recuperação.....	52
4.2.2.3	ELISA-competitivo indireto	52
4.2.3	Análises de Qualidade de Grão e Farinha.....	54
4.2.3.1	Peso hectolítrico (PH).....	54
4.2.3.2	Índice de dureza e diâmetro do grão (SKCS).....	55
4.2.3.3	Moagem experimental	55
4.2.3.4	Alveografia.....	55
4.2.3.5	Número de queda.....	56
4.2.3.6	Análise de cor.....	56
4.2.3.7	Espectroscopia por infravermelho próximo (NIR).....	56
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
CAPÍTULO I – ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL DE TRIGO CULTIVADO APÓS DIFERENTES CULTURAS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ		
		59
CAPÍTULO II – ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGO CULTIVADO APÓS DIFERENTES CULTURAS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ		
		82
CAPÍTULO III – ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> NA CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL-DON DE TRIGO DA REGIÃO CENTRO SUL DO ESTADO DO PARANÁ		
		97
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
	REFERÊNCIAS.....	111

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.), monocotiledônea pertencente à família Poaceae (Gramíneas), destaca-se entre os cereais de maior cultivo mundial e importância na alimentação humana. Ocupando o segundo lugar em volume de produção, com importante papel no agronegócio globalizado, pela adaptabilidade agrônômica, facilidade de armazenamento, qualidade nutricional e enorme diversidade de produtos alimentícios desenvolvidos.

Apesar do avanço gerado pela pesquisa e, conseqüente aumento na produtividade nacional, metade de trigo consumido no país é importado, devido à inconstância na produção. O fato requer estímulo para sobrepujar o déficit no suprimento nacional, com enfoque desde o início da cadeia produtiva. I.e., deve abranger o estudo sobre solo, fertilização, clima, práticas culturais, controle de praga, fungo e contaminação de micotoxinas, além de aprimorar o aspecto genético, capaz de repercutir na qualidade final de grão.

Frente à exigência do mercado, os segmentos da cadeia produtiva devem ser voltados para a produção de alimentos com qualidade, sendo este fator determinante na competitividade perante o mercado internacional. Portanto, o monitoramento adequado da contaminação por micotoxinas envolvendo desde a etapa de semeadura no campo, aliado às medidas preventivas, é essencial para garantir a segurança de produtos e subprodutos agropecuários comercializados.

A composição química quantitativa do grão é definida intrinsecamente pela genética. Não obstante, fatores podem provocar alterações na composição química e contaminação de grão, e conseqüentemente na qualidade; Condição climática, temperatura e precipitação pluvial, pode influir no enchimento do grão, com conseqüente alteração na qualidade tecnológica, podendo também proporcionar condição favorável para o aparecimento de doença e produção de micotoxina.

Salienta-se o nitrogênio entre constituinte determinante devido a contribuição no teor de proteína do grão, essencial na qualidade industrial desejada de trigo, somando-se ainda o benefício em minimizar os aditivos, contribuindo na segurança de alimentos. Assim, a variação qualitativa e quantitativa de proteínas, determinadas por fatores genéticos inerentes a cultivar (classificação de trigo),

poderiam ser influenciadas diretamente por fatores ambientais e de manejo como temperatura, fertilidade do solo e adubação nitrogenada.

A adubação nitrogenada de cobertura é uma importante prática de manejo para o desenvolvimento de planta. Entretanto, a aplicação de nitrogênio eleva o custo, somado ao baixo aproveitamento devido à perda por lixiviação, desnitrificação e volatilização, dependendo da fonte.

A sucessão de cultura é um recurso para reduzir a dependência da fertilização química, com ênfase à leguminosa, uma vez que proporciona maior nitrogênio residual, diminuindo a necessidade de adubação de cobertura. Considerando que as plantas leguminosas além de realizarem a fixação simbiótica de nitrogênio, apresentam maior velocidade de decomposição com conseqüente liberação de nutrientes, fornecendo assim, minerais para a cultura subsequente. Entretanto, essa prática pode proporcionar aumento na incidência de doença e conseqüente produção de micotoxina, principalmente quando culturas hospedeiras são utilizadas como antecessora ao cultivo do trigo (milho).

Além disso, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento pode reduzir a necessidade de aplicação de insumos químicos, diminuir estresse biótico e abiótico, e aumentar a produtividade da cultura. Em adição à fixação de nitrogênio atmosférico, *Azospirillum* spp. produz fitohormônios capazes de promover o crescimento radicular da planta, melhorando a absorção de água e nutrientes, com conseqüente aumento na resistência à seca, tornando-as vigorosas e produtivas.

Em face disto, o trabalho objetivou avaliar o impacto de manejo e tratos culturais na qualidade de grão produzido (composição química, contaminação por desoxinivalenol e qualidade tecnológica), com enfoque a sucessão de cultura (milho ou soja) em Londrina (2010 e 2011), e soja (2010) e milho (2011) em Ponta Grossa, inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹). Aliado a isso, procedeu-se a comparação da efetividade de método rápido com o método primário e clássico. O método secundário baseado em análise por NIR tem sido introduzido, apresentando crescente emprego, principalmente para a determinação da qualidade tecnológica de trigo.

2 OBJETIVO

- Avaliar impacto de sucessão de cultura (milho ou soja), inoculação de *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹) na composição química, contaminação por desoxinivalenol e qualidade tecnológica de grãos de trigo, região Norte do Estado do Paraná (Londrina);

- Avaliar impacto de inoculação de *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹) na composição química e contaminação por desoxinivalenol de grãos de trigo, região Centro-Sul do Estado do Paraná (Ponta Grossa);

- Avaliar a correlação (Pearson) existente entre as características avaliadas nos grãos de trigo (composição química, contaminação por desoxinivalenol e qualidade tecnológica), submetido a diferentes doses de nitrogênio (0–120 kg ha⁻¹);

- Comparar a efetividade do uso de método secundário (NIRs) em comparação com o método primário e clássico, na determinação da qualidade tecnológica de trigo (Correlação de Pearson).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A CULTURA DE TRIGO

O trigo, monocotiledônea pertencente à família Poaceae (Gramíneas), gênero *Triticum* e número diversificado de espécies, é uma das culturas mais antigas do mundo. *Triticum aestivum* (L.) é o tipo de maior interesse comercial (>90 % da produção mundial), destinando-se à panificação, produção de bolo, biscoito, massas e produtos de confeitaria, enquanto que *Triticum durum* (Desf.), com aproximadamente 5% da produção, é mais indicado para massas alimentícias por apresentar glúten mais resistente (GOODING, 2009).

Advindo de clima temperado, o trigo originou-se nas regiões montanhosas do Sudoeste Asiático há 10.000 anos a.C. Relatos bíblicos citam a importância deste grão na alimentação humana. O Egito, reconhecido como local de origem do pão, e os romanos, misturando fermentos à farinha de trigo, melhoraram as características deste alimento (GUARIENTI; DEL DUCA, 2002).

Em 1534, Martim Afonso de Souza introduziu a cultura do trigo no Brasil, especificamente na Capitania de São Vicente, onde a cultura se expandiu ao Planalto de Piratininga, atual Estado de São Paulo. Posteriormente introduzido a outras regiões pelo deslocamento dos missionários religiosos e colonos portugueses. Em 1737, com a colonização açoriana no Rio Grande do Sul, se iniciou o cultivo deste cereal com sucesso, chegando até a exportar para Portugal parte de sua produção (FORNASIERI FILHO, 2008).

Cereal de inverno no Brasil e/ou primavera em outras regiões, devido ao grande número de espécies, variedades e adaptabilidade, o trigo é amplamente cultivado por muitos países em todo o mundo (MCKEVITH, 2004). Devido à importância econômica mundial da cultura, pesquisadores procuram desenvolver cultivares adaptadas as mais diversas condições climáticas.

O trigo representa a segunda maior cultura de grãos em produção no mundo, superado pelo milho em 26,9% e, primeira em área de cultivo (221,90 milhões de hectares), segundo resultados da safra 2011/2012. Entre os principais países produtores do cereal encontra-se a União Europeia (27 países), China, Índia, Rússia e Estados Unidos, com participação de 19,7, 16,8, 12,5, 8,1 e 7,8% na produção mundial, respectivamente. Estimativas para safra 2012/2013 preveem

redução na produção mundial de trigo devido à redução de produção na Argentina (29,0%), maior produtor de trigo na América do sul (15,5 milhões de toneladas, 2,22%), e Rússia (33,0%) (USDA, 2013).

A área cultivada na safra 2011/2012 no Brasil foi de 2,17 milhões de hectares distribuídos em três regiões e oito estados da federação e, segundo levantamento de fevereiro 2013, para safra 2012/2013, houve redução de 12,5% (1,9 milhões de hectares). A maior concentração do cultivo está localizada no estado do Paraná (região sul), com 1 milhão de hectare na safra 2012/2013 (48,1% da área total), redução de 25,8% da área em relação ao ano anterior. Além disso, observou-se redução de 25,7% na produção nacional de trigo, com 15,5% para o Estado do Paraná (CONAB, 2013).

Embora o Brasil tenha condições de alcançar a autossuficiência no abastecimento de trigo, a produtividade e consequentemente a rentabilidade da cultura, é definida por uma série de fatores, como cultivar, quantidade de insumos, especialmente nitrogênio, técnicas de manejo, condições ambientais, pragas e doenças (TEIXEIRA FILHO et al., 2007).

A crescente demanda mundial por alimento causado, principalmente, pelo crescimento populacional, exige obtenção de elevada produtividade, com concomitante melhoria na qualidade nutricional e sanitária de grãos.

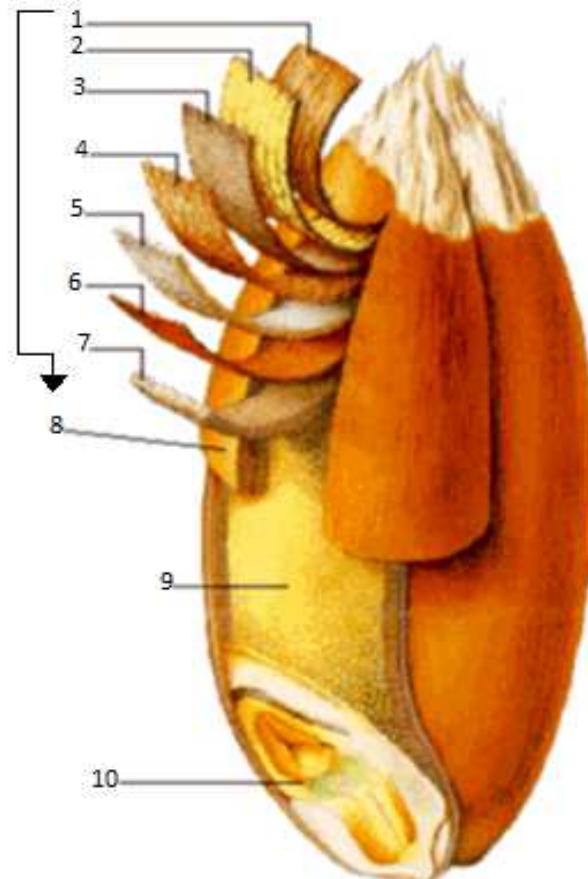
3.2 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE GRÃOS DE TRIGO

Devido à adaptabilidade agrônômica, facilidade de armazenagem, características nutricionais, e capacidade de produzir, a partir da farinha, uma variedade de alimentos saborosos, interessantes e satisfatórios, o trigo é um componente importante na maior parte das dietas no mundo (WRIGLEY, 2009).

A composição química do grão de trigo (umidade, proteína, carboidrato, lipídeo e mineral) afeta as características funcionais tecnológicas e nutricionais e, juntamente com as propriedades estruturais, define a qualidade da farinha de trigo (SCHEUER et al., 2011). A composição química do grão varia amplamente dependendo do ambiente, solo e variedade, e os constituintes não se distribuem uniformemente no grão (MIRANDA, 1998; MCKEVITH, 2004).

O grão de trigo (Figura 1) se desenvolve a partir da flor da Poácea, e se dividem tecnologicamente, em três partes: gérmen (2-3%), endosperma (80-85%) e pericarpo ou farelo (13-17%), em base seca (BELDEROK, 2000).

Figura 1 – Partes componentes do grão de trigo: 1 - epiderme, 2 - hipoderme, 3 - células cruzadas, 4 - células tubulares, 5 - testa ou tegumento, 6 - hialina, 7 - aleurona, 8 - farelo, 9 - endosperma, 10 - gérmen.



Fonte: Adaptado SATORRE et al. (2008).

O pericarpo, derivado do ovário da flor e constituído por seis camadas (epiderme, hipoderme, remanescentes da parede celular ou células finas, células intermediárias, células cruzadas e células tubulares) (MOUSIA et al., 2004), é rico em pentosanas, celulose e minerais; A aleurona, camada que circunda o endosperma, é constituída, principalmente, de minerais (fósforo, fitato), proteína, lipídeos, vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina) e enzimas; O endosperma, principal porção do grão, é composto basicamente de amido e proteínas de reserva; O gérmen, estrutura que contem o material genético para o desenvolvimento de uma nova planta, tem alto conteúdo de proteína, lipídeos, açúcares redutores, minerais e vitaminas do complexo B e E (MIRANDA, 1998; POSNER, 2000) (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição química das partes do grão de trigo.

Determinação	Grão (%)	Gérmen (%)	Farelo (%)	Endosperma (%)
Proteína	16	22	16	13
Lipídeo	2	7	5	1,5
Carboidratos	68	40	16	82
Fibras Alimentares	11	25	53	1,5
Minerais (Cinza)	1,8	4,5	7,2	0,5
Outros componentes	1,2	1,5	2,8	1,5
Total	100	100	100	100

*Porcentagens convertidas para base seca. Fonte: POMERANZ (1988).

O trigo contribui com aproximadamente 20% das calorias na dieta humana, ingerido através de derivados imediatos, a farinha branca e integral empregados na produção de pão, macarrão, bolo, massas (tortas, empadas, pastéis), panqueca, pizza; o trigoilho, utilizado no preparo de quibe, torta de quibe, tabule e produtos diversos. Além de fornecer proteínas de alto valor biológico, também é fonte de carboidratos complexos (amido e fibras), vitamina do complexo B e ferro (CORNELL; HOVELING, 1998).

O equilíbrio e interação entre diferentes componentes da farinha de trigo como água, proteínas, lipídios, amido, minerais, entre outros, são de grande importância para a qualidade de panificação (KUKTAITE, 2004).

3.2.1 Umidade

A umidade é um fator importante e diretamente ligado a qualidade do grão de trigo e seus produtos (RASPER; WALKER, 2000). Os grãos quando secos e sadios podem ser mantidos em armazenamento apropriado por muitos anos, mas quando úmidos podem se deteriorar rapidamente em poucos dias devido à ação de fungos e contaminação por micotoxina (MCKEVITH, 2004).

O teor de umidade corresponde à relação percentual entre a quantidade de água e massa total de dada quantidade de grão, entre 7,8-14,8% (POMERANZ, 1988). Para a perfeita conservação do grão, é necessária a redução deste teor a níveis que inibam as reações de seu metabolismo (respiração e transpiração), atividade enzimática, além de outras ações prejudiciais (SILVA, 2003).

Segundo Fessas e Schiraldi (2005), a água é responsável por propriedades físicas dos alimentos à base de trigo (exemplo: massas alimentícias frescas), incluindo o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, o qual produz processos degradativos e mudanças na sua textura.

Segundo Instrução Normativa n° 38 de 30 de novembro de 2010, é tecnicamente recomendável controlar a umidade do grão de trigo para que não ultrapasse 13%, sendo que, o trigo com umidade superior a 13% poderá ser comercializado, desde que não esteja ocasionando fatores de risco à saúde humana (BRASIL, 2010). Os limites são recomendados pela legislação brasileira, não só por motivos econômicos, uma vez que o trigo e as farinhas são comercializados em base úmida, mas também por sua importância na conservação e processamento.

O grão de trigo antes do processo de moagem, dependente da umidade da matéria-prima, passa pelo condicionamento do grão, seja ele por secagem ou umidificação. O condicionamento consiste no ajuste do teor de umidade para tornar o grão mais maleável, minimizando o consumo de energia, mas mantendo a necessária dureza do endosperma para produzir danos ao amido, melhorar a peneiração, a fim de facilitar a separação do farelo e gérmen do endosperma, e assegurar uma correta porcentagem de umidade no produto acabado (BECHTEL et al., 2009).

3.2.2 Proteína

Em escala global, aproximadamente 70% da proteína disponível para consumo humano é derivado de plantas, sendo os cereais responsáveis por 79% desse valor. No grão de trigo, o teor de proteína pode variar entre 8,3 e 19,3% da matéria seca total (POMERANZ, 1988). Entretanto, a qualidade nutricional de grãos de trigo, importante cereal na alimentação humana, é limitada devido ao baixo conteúdo de lisina, entre outros aminoácidos essenciais. Assim torna-se necessário a mistura de cereais ou outras fontes proteicas, como proteína animal ou sementes de leguminosas, para fornecer o equilíbrio de nutrientes (SHEWRY et al., 2009).

A qualidade de panificação do trigo é complexa e depende tanto de fatores genéticos como ambientais. A quantidade de proteína, fortemente influenciado pelo ambiente, e a composição proteica do grão, determinado por

fatores genéticos e ambientais, são os dois fatores determinantes da qualidade do trigo (DUPONT; ALTENBACH, 2003).

As proteínas do trigo são normalmente divididas em proteínas metabólicas ou estruturais e de reserva (WIESER et al., 2008). A albumina e globulina são proteínas metabólicas, que atuam no desenvolvimento do grão e no início da germinação. A principal função é nutricional, pois apresentam composição em aminoácidos razoavelmente balanceada. A albumina e globulina (proteínas solúveis) representam cerca de 10 a 15% da proteína total do trigo (endosperma) e ocorrem em estruturas dobradas compactamente (SGARBIERI, 1996; CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997).

A gliadina e glutenina representam cerca de 75% do teor proteico total do grão e localizam-se, principalmente, no endosperma do grão. Consideradas biologicamente ativas, apesar de não possuírem atividade enzimática, participam na formação da massa através da retenção dos gases, resultando em produtos cozidos esponjosos característicos de pão (BELDEROK, 2000).

A gliadina tem peso molecular entre 30.000 e 80.000 unidades, de cadeia simples e é extremamente gomosa quando hidratada, apresentando pouca ou nenhuma resistência à extensão, e sendo, portanto, responsável pela coesividade, uma importante característica reológica da massa (VERAVERBEKE; DELCOUR, 2002).

A glutenina, formada por várias cadeias ligadas entre si, apresenta peso molecular médio que varia de 100.000 a vários milhões, é elástica, mas coesiva fornecendo a propriedade de resistência à extensão da massa (VERAVERBEKE; DELCOUR, 2002).

3.2.3 Lipídeo

Os lipídeos são componentes essenciais e desempenham papéis vitais, bioquímicos e fisiológicos, como fonte de energia e importante componente estrutural da membrana celular. Sua utilização aumenta a palatabilidade dos alimentos, incluindo sabor, textura, aroma e suculência. Além disso, a sensação de saciedade dos alimentos aumenta com a adição de lipídeos, devido seu movimento lento no trato gastrointestinal (CHUNG et al., 2009).

Presente em baixa concentração nos cereais, os lipídeos afetam significativamente a qualidade e textura dos alimentos devido à sua capacidade de se associar com proteínas, devido sua natureza anfipática, e com o amido, formando complexos de inclusão (ŠRAMKOVÁ; GREGOVÁ; ŠTURDÍK, 2009).

O conteúdo de lipídeo no trigo encontra-se distribuído de maneira não homogênea no grão (2 a 4%), estando cerca de 30% localizado no gérmen, 25% e 45% na camada de aleurona e endosperma, respectivamente (CHUNG, 1986).

Os principais ácidos graxos encontrados no trigo são o ácido linoleico (C18:2) e em menor quantidade o ácido palmítico (C16:0) e o ácido oleico (C18:0) (ELIASSON, 2006).

Devido a variações na extração, purificação e quantificação, bem como na apresentação dos resultados, torna-se difícil à comparação entre os dados de lipídeos relatados por diferentes pesquisadores. Existem vários métodos para a extração de lipídeos, que incluem Soxhlet, Butt e Weibull-Stoldt, com hidrólise ácida seguida de extração (CHUNG et al., 2009).

Estudos sobre a composição lipídica das frações de trigo são escassos e, mesmo os dados disponíveis, não estão completos ou apresentam variação entre os resultados. A possível causa destas variações são os métodos e técnicas utilizadas na análise, assim como a utilização de diferentes genótipos e práticas no cultivo.

3.2.4 Carboidratos

O trigo constitui rica fonte de polissacarídeos complexos, sendo a principal fonte econômica de energia na alimentação (SHELTON; LEE, 2000). O amido é o principal polissacarídeo, constituindo entre 59,9-71,9% em base seca do grão, seguido de pentosanas, β -glucanos e fibra alimentar, além de pequenas quantidades de açúcares livres (1-2%), a exemplo de glicose, frutose e rafinose ou galactosilacarose (POMERANZ, 1988).

O amido, carboidrato de reserva amplamente distribuído em diversas espécies de vegetais, é abundante em grão de cereais, raízes e tubérculos, e apresenta grande importância nutricional e industrial. Fonte importante de carboidrato na alimentação humana, representando 80-90% de todos os

polissacarídeos da dieta, é o principal responsável pelas propriedades tecnológicas de parte dos produtos processados (WALTER; DA SILVA; EMANUELLI, 2005).

O amido tem os polímeros de glicose como maiores componentes: amilose e amilopectina (SVIHUS; UHLEN; HARSTAD, 2005). A amilose é uma molécula essencialmente linear, consistindo de ligações α -1,4 entre as unidades D-glicopiranosil com grau de polimerização de 500 a 6000 resíduos de glicose. Em massas alimentícias, a amilose é comumente perdida durante o cozimento, assim, o desenvolvimento de grãos de trigo com teores menores de amilose poderia apresentar menores perdas na água de cozimento, resultando em produto de elevada qualidade (GRANT et al., 2004).

A amilopectina é uma molécula de alto peso molecular, altamente ramificada, com ligações semelhantes à amilose, porém com grau de polimerização de 3×10^5 a 3×10^6 resíduos de glicose. A relação entre amilose e amilopectina difere entre os amidos de diferentes origens, mas o nível típico de amilose e amilopectina é 25-28% e 72-75%, respectivamente. Embora o amido ceroso (modificado geneticamente) possa conter 99 a 100% de amilopectina (GRANT et al., 2004; GOESAERT et al., 2005).

Amidos com diferentes teores de amilose são de interesse para o processamento de alimentos, devido ao potencial para modificar a textura e qualidade do produto final. Em culturas como milho e arroz, tem sido bem sucedida a manipulação do teor de amilose por modificação genética, com a obtenção de amidos que diferem em características relevantes industrialmente. No entanto, a natureza hexaplóide do genoma do trigo torna difícil encontrar e combinar mutações em genes que codificam enzimas biossintéticas de amido (REGINA et al., 2006).

Apresentando somente ligações α -glicosídicas, o amido é potencialmente digestível pelas enzimas amilolíticas secretadas no trato digestivo humano (ENGLYST; HUDSON, 1996). Devido à alta produção de α -amilase pancreática, se considerava que o amido era completamente hidrolisado por essa enzima, sendo absorvido no intestino delgado na forma de glicose. Entretanto, certos fatores tais como relação amilose:amilopectina, forma física do alimento e inibidores enzimáticos, entre outros, podem influenciar a sua taxa de hidrólise e absorção. Assim, quantidade significativa de amido pode escapar à digestão no intestino delgado e alcançar o cólon, onde é fermentado (WOLF; BAUER; FAHEY, 1999).

A subdivisão do amido por suas características nutricionais, amido disponível ou resistente, torna-se necessária. A classificação nutricional com base em análises *in vitro* de velocidade e extensão da digestão do amido é útil para prever a provável resposta glicêmica dos alimentos (ENGLYST; HUDSON, 1996).

3.2.5 Micronutrientes

O conteúdo mineral ou teor de cinza em trigo (1,1 a 2,9%) depende de genótipo, classe comercial, região e safra (OBERT et al., 2004). Gahoonia, Nielsen e Lyschede (1999) observaram variação no teor de minerais entre genótipos de cevada provavelmente relacionada a diferença na morfologia de raiz, relação entre pelos radiculares e absorção de fósforo, o que não foi observado em trigo. Ryan, Derrick e Dann (2004) detectaram diferença no teor de minerais em grão de trigo cultivado sob condição orgânica (sem fertilizante químico) comparado ao plantio convencional (com fertilizante), i.e. adição de minerais no solo elevou o teor de cinzas.

Os minerais distribuem-se principalmente na camada externa do grão de trigo, aleurona e pericarpo, resultando em maior teor de cinzas no farelo (GUARIENTI, 1996; ALONSO et al., 1997; POSNER, 2000). O trigo apresenta cerca de 410 mg de fósforo, 580 mg de potássio, 60 mg de cálcio, 180 mg de magnésio, 6 mg de ferro, 0,8 mg de cobre, 5,5 mg de manganês, 4,4 mg de zinco e 4,6 mg de sódio/100 g em base seca (BOCK, 2000).

A análise de cinzas é geralmente associada aos testes de moagem experimental e ao peso hectolítrico para a avaliação de potencial de moagem de um cultivar. A diferença no teor de minerais, entre grãos e farinha de trigo branco é, na maioria dos casos, entre duas a quatro vezes (2,7 vezes para potássio, 2,3 vezes para cálcio e 2,4 vezes para cobre), mas pode ser mais que cinco vezes (magnésio), ou mesmo nove vezes (manganês). Em alguns casos, a taxa de extração tem apenas efeito moderado sobre o conteúdo de traço de elementos, especialmente em elementos que não são essenciais para as plantas, a exemplo do cromo, flúor e alumínio (PIIRONEN et al., 2009).

3.3 QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGO

O termo qualidade de trigo pode ter diferentes interpretações, dependendo dos setores envolvidos: produtor, armazenador, moageiro, industrial, consumidores finais, que incluem sanitaristas e consumidores de produtos naturais, além de cientistas de cereais (MIRANDA, 2008).

Definida por diversas características, o termo qualidade de farinha assume diferentes significados dependendo da designação de uso ou tipo de produto. Estas características podem ser divididas em químicas, enzimáticas e físicas ou reológicas (KULP; PONTE, 2000). O termo 'qualidade tecnológica de trigo' geralmente é utilizado para indicar o desempenho de um cultivar de trigo e sua aptidão na elaboração de determinado produto.

Uma série de equipamentos e testes são utilizados para determinar as propriedades e características do grão e da farinha, entre eles:

Peso hectolítrico (PH) – É a massa de 100 litros de trigo expressa em quilogramas (GUARIENTI, 1996). É utilizado como medida tradicional de comercialização em vários países, e expressa indiretamente atributos de qualidade dos grãos em especial os relacionados com a moagem. A massa hectolítrica é um importante atributo, uma vez que, na prática, o valor recebido pelo produtor é menor quando a massa hectolítrica se apresenta abaixo de 78 kg.hL^{-1} (MEGDA et al., 2009).

Dureza e diâmetro do grão (*Single Kernel Characterization System – SKCS*) - A dureza pode ser definida como a dificuldade de desintegração do grão quando sobre ele é exercida uma pressão. A designação de trigo duro ou mole é um termo descritivo do grau relativo de dureza física apresentada pelo grão, sendo esta controlada por fatores genéticos (POMERANZ; WILLIAMS, 1990). Estudos realizados sob condições de moagem experimental demonstraram que a caracterização do grão por SKCS, juntamente com outras determinações como peso hectolítrico, pode ser usado na predição do desempenho de moagem de uma amostra de trigo (NAEGA, 2007). De acordo com o índice de dureza observado, o trigo pode ser classificado em diferentes categorias (Tabela 2).

Tabela 2 - Classificação da dureza do grão de trigo.

Categoria	Índice de Dureza
Extra duro	Acima de 90
Muito duro	81–90
Duro	65–80
Semi-duro	45–64
Semi-mole	35–44
Mole	25–34
Muito mole	10–24
Extra mole	Abaixo de 10

Fonte: Adaptado de AACC (2000).

Moagem Experimental – Pode ser definida como método capaz de alcançar os níveis de extração de farinha semelhantes às de um moinho comercial por trituração gradual, ao gerar farinha de melhor qualidade a partir do trigo testado (POSNER, 2009). A farinha produzida a partir do processo é utilizada em análises como alveografia, número de queda, farinografia, entre outros. As informações obtidas podem ser usadas por moinho comercial a fim de ajustar as condições do processo e otimizar a extração de farinha (NAEGA, 2007).

Alveografia – Com a finalidade de avaliar o comportamento reológico da massa, um pedaço da mesma é expandido por uma pressão (injeção de ar) até a sua ruptura. A alveografia tem como principais medidas a extensibilidade (L), a tenacidade (P) e a força de glúten (W). A extensibilidade é um indicativo do volume que a massa pode atingir e a tenacidade é um indicativo da pressão máxima de ruptura da massa. A força geral de glúten é obtida pela medida sob a área da curva do alveograma, multiplicada por uma constante do aparelho (CAZETTA et al., 2008).

Número de queda (NQ) – O número de queda caracteriza as farinhas de trigo quanto à atividade das α -amilases. Por meio desse índice pode-se estimar a capacidade de fermentação que a massa de uma determinada farinha possui (CAZETTA et al., 2008). O teste é fundamentado na rápida gelatinização do amido presente em uma suspensão aquosa de farinha trigo, quando submetida a um tratamento térmico, com subsequente liquefação do gel formado pela ação da α -amilase presença na amostra, a qual utiliza o amido da própria amostra como substrato. O resultado obtido, conhecido como número de queda, é inversamente

proporcional à atividade da enzima presente na farinha, ou seja, se a atividade enzimática é alta, o amido é quebrado rapidamente durante a gelatinização e o valor de NQ é baixo (POPPER; SCHAFFER; FREUND, 2006).

Cor – A cor da farinha está diretamente relacionada ao grau de extração do produto, ou seja, quanto mais periférica a farinha, mais próxima ao marrom será sua tonalidade, e ao tipo de trigo utilizado na moagem. Pode-se dizer que, quanto mais escura a farinha, mais periférica ela é e maior é o seu teor de cinzas. Através de análise em equipamentos adequados a cor é traduzida em número, podendo assim se comparar produtos (GUTKOSKI, 2009).

3.3.1 Legislação Brasileira – Classificação Comercial de Trigo

A classificação comercial do trigo no Brasil é realizada de acordo com a Instrução Normativa nº 38 de 30 de novembro de 2010, em vigor desde 1 de julho de 2012, a qual define o padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto de acordo com as condições físicas do produto entregue pelo produtor (BRASIL, 2010).

De acordo com o regulamento, o grão na recepção é classificado em Grupo I e II. O grão classificado como Grupo I é destinado diretamente para alimentação e o classificado como Grupo II passará por algum processamento antes de ser consumido. Além da divisão em grupo, o trigo também é classificado em Tipo 1, 2, 3 e fora de tipo, quando a característica estiver fora do padrão estabelecido pela normativa, conforme apresentado na Tabela 3 (BRASIL, 2010).

Tabela 3 – Tipos de trigo do Grupo II destinado à moagem e a outras finalidades.

Tipo	Peso Hectolítrico (Valor mínimo)	Matéria Estranha e Impureza (% máximo)	Danificado por Inseto	Danificados pelo Calor, Mofado e Ardido	Chocho, Triguilho e Quebrado	Total de Defeito (% Máximo)
			Defeitos (% máximo)			
1	78,0	1,0	0,5	0,5	1,5	2,0
2	75,0	1,5	1,0	1,0	2,5	3,5
3	72,0	2,0	2,0	2,0	5,0	7,0
Fora de Tipo	Menor que 72	Maior que 2,0	Maior que 2,0	10,0	Maior que 5,0	Maior que 7,0

Fonte: Instrução Normativa nº 38 de 30 de novembro de 2010.

Os grãos do Grupo II, ao contrário do Grupo I, passarão por processamento antes de consumido. Devido isso, torna-se necessário sua divisão em diferentes classes de acordo com a qualidade tecnológica de cada um. Segundo a Instrução Normativa, o trigo é dividido em cinco classes: melhorador, pão, doméstico, básico e outros usos. A nova classificação alterou os valores de força de glúten, estabilidade, número de queda e PH do trigo, influenciando diretamente na classe. As exigências ficaram maiores, com o objetivo de aumentar a qualidade do trigo que chega aos moinhos e conseqüentemente à mesa do brasileiro (Tabela 4) (BRASIL, 2010).

Tabela 4 - Classes de trigo do Grupo II destinado à moagem e a outras finalidades.

Classe	Força de Glúten (Valor mínimo expresso em 10^{-4} J)	Estabilidade (Valor mínimo expresso em minutos)	Número de Queda (Valor mínimo expresso em segundos)
Melhorador	300	14	250
Pão	220	10	220
Doméstico	160	6	220
Básico	100	3	200
Outros Usos	Qualquer	Qualquer	Qualquer

Fonte: Instrução Normativa nº 38 de 30 de novembro de 2010.

A Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005 também preconiza que, a farinha de trigo orgânica, não orgânica ou proveniente de trigo geneticamente modificado destinada ao mercado interno e à importação seja classificada em (BRASIL, 2005):

- a) Farinha Integral - Produto elaborado com grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.) ou outras espécies de trigo do gênero *Triticum* por meio de trituração, moagem ou outras tecnologias ou processos a partir do processamento completo do grão limpo contendo ou não o germe com no máximo 2,5% de cinzas (base seca), 100 mg de KOH/100g do produto de acidez graxa, 15% de umidade e no mínimo 8% de proteína bruta.
- b) Farinha Tipo 1 - Produto elaborado com grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.) ou outras espécies de trigo do gênero *Triticum* por meio de trituração, moagem ou outras tecnologias ou processos com no máximo 0,8% de cinzas (base seca), 50 mg de KOH/100g do produto de acidez graxa, 15% de umidade e no mínimo 7,5% de proteína bruta e que 95% do produto passe através de peneira com abertura de malha de 250 μ m.

c) Farinha Tipo 2. Produto elaborado com grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.) ou outras espécies de trigo do gênero *Triticum* por meio de trituração, moagem ou outras tecnologias ou processos com no máximo 1,4% de cinzas (base seca), 50 mg de KOH/100g do produto de acidez graxa, 15% de umidade e no mínimo 8,0% de proteína bruta e que 95% do produto passe através de peneira com abertura de malha de 250 µm.

3.4 FUSARIOSE E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL

As doenças estão entre os fatores que se apresentam como limitantes para o cultivo do trigo no Brasil. A fusariose (ou giberela) do trigo, cujo agente causal é o fungo *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (anam. *Fusarium graminearum* Schwabe), é uma doença que se manifesta mais intensamente em regiões com excesso de chuva e temperatura amena, durante o período de floração e maturação do grão (DEL PONTE et al., 2004), podendo ser encontrada de forma generalizada por todo o mundo.

A intensidade da fusariose é dependente das condições climáticas para o seu estabelecimento, por isso, as epidemias variam de ano para ano. O fungo sobrevive nas sementes e nos restos culturais de inúmeras gramíneas, e em uma ampla gama de hospedeiros, desde espécies de expressão econômica, como também muitas gramíneas nativas e plantas invasoras, o que favorece a continuidade do seu ciclo de vida (REIS; CASA, 1998).

A giberela, considerada doença de difícil controle, possui estratégias de controle baseadas no desenvolvimento de cultivares com melhor nível de resistência e uso de fungicidas aplicados na parte aérea, na fase de floração (REIS; CASA; MEDEIRA, 2001). A utilização de práticas agrícolas como, uso de variedades de trigo sensíveis, sem rotação de culturas, plantio direto ou reduzido preparo do solo, podem causar aumento no ataque por fungos e, possível produção de micotoxina (EDWARDS, 2004).

As toxinas podem ser definidas como substâncias sintetizadas por espécies de planta, animal ou micro-organismo, que são prejudiciais a outro organismo. As micotoxinas são metabolitos tóxicos produzidos por fungos, especialmente saprófitas, que crescem em uma variedade de alimento e são

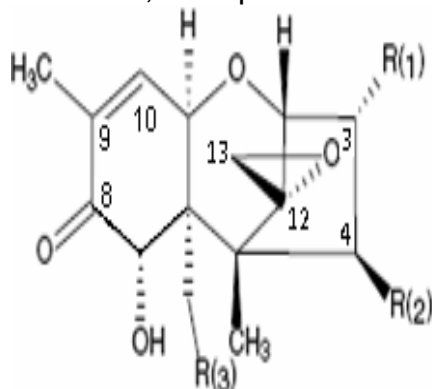
potencialmente perigosos para o homem e animais domésticos (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009).

A produção de micotoxina depende do crescimento fúngico e pode ocorrer em qualquer época de cultivo, colheita ou estocagem, permanecendo no grão mesmo após eliminação do fungo produtor. Entretanto, o crescimento fúngico e a produção de toxinas não são sinônimos, já que nem sempre as melhores condições de crescimento coincidem com a de síntese de toxina (TANIWAKI; SILVA, 2001). Diversos fatores influenciam a acumulação de micotoxina durante o período de cultivo, como o clima, a rotação de culturas, o preparo do solo, a escolha do cultivar e a aplicação de fungicidas (BEYER et al., 2006).

Ramirez, Chulze e Magan (2006), determinaram as condições ideais para o crescimento e produção de desoxinivalenol utilizando cepas de *F. graminearum* isoladas de trigo na Argentina. Segundo os autores, as condições ideais para crescimento e produção de toxina diferem, principalmente com relação à temperatura. Enquanto o crescimento ótimo foi a 25 °C e 0,995 de atividade de água (a_w), a máxima produção de DON para as duas cepas estudadas foi obtida em incubação a 30 °C e a_w de 0,995, após 42 dias de incubação de um total de 49 dias (135.462,0 e 98.446,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).

A toxina desoxinivalenol (DON) ou vomitoxina, pertence ao grupo de tricoteceno da família de sesquiterpenoide (tipo B), contendo uma dupla ligação entre a posição C_{9, 10}, um anel epóxido na posição C_{12, 13} e um número variável de grupos hidroxila e acetil (Figura 2).

Figura 2 - Estrutura química de tricotecenos. NIV= nivalenol, DON= desoxinivalenol, FUS X= fusarenona X, 3-ADON= 3- acetil desoxinivalenol, 15-ADON= 15-acetil desoxinivalenol, PM= peso molecular.



	PM	R ₍₁₎	R ₍₂₎	R ₍₃₎
NIV	312	OH	OH	OH
DON	296	OH	H	OH
FUS X	354	OH	OAc	OH
3-ADON	338	OAc	H	OH
15-ADON	338	OH	H	OAc

Fonte: FREIRE et al. (2007)

A elevada estabilidade química de DON dificulta a sua redução, seja na estocagem ou durante processamento térmico como cozimento, assamento ou fermentação (PRANGE et al., 2005). Uma elevada contaminação por *Fusarium* spp. em trigo tem sido associada à perda na qualidade de panificação e redução no volume de pão. Portanto, medidas preventivas desde o início do cultivo no campo tornam-se essenciais para evitar matéria-prima contaminada.

Os tricotecenos são classificados como toxinas gastrintestinais, dermatotoxinas, imunotoxinas, hematotoxinas e genotoxinas (CONKOVÁ et al., 2003). O efeito crônico consiste em atrofia ou hiperplasia de sistema hematopoiético, tumor em tireoide, ducto biliar e hipotálamo, hiperqueratose inflamatória estomacal, bem como papiloma e imunossupressão (PESTKA; SMOLINSKI, 2005). O principal efeito tóxico de DON consiste de decréscimo ou rejeição de alimentação, vômito e distúrbio digestivo com conseqüente perda de peso, sendo o suíno mais suscetível do que a ave e o ruminante.

A Resolução - RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011 dispõe limite máximo tolerado (LMT) para DON a partir de 2012, com a redução gradativa até atingir menores níveis em 2016 (Tabela 5) (BRASIL, 2011).

Tabela 5 - Limite máximo tolerado (LMT) para DON em alimento brasileiro.

A vigorar a partir de	Alimento	LMT ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
2012	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo.	2000
2014	Trigo e milho em grãos para posterior processamento.	3000
	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo.	1500
2016	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo.	1000

Fonte: Resolução - RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.

A Comunidade Europeia (regulador 1881/2006) tem fixado o limite de DON a $1250 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para cereais não processados (que não o milho, o trigo duro e aveia) e $1750 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para o trigo duro não processado e aveia (Comunidade Europeia, 2006a).

Em estudo avaliando a ocorrência de DON no norte e centro/sudoeste do Estado do Paraná, observou-se que 66,4% das 113 amostras

apresentaram contaminação por DON, em níveis variando de 206,3 - 4732,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (média de 1894,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (DOS SANTOS et al., 2013). Os autores também avaliaram a ingestão diária estimada (IDE) da micotoxina, através de pão e macarrão, por habitantes da cidade de Londrina no norte do estado do Paraná. O consumo médio destes habitantes foi de 0,79 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ peso vivo (PV) para o pão e 0,35 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de PV para massas. O IDE total foi de 1,13 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, o que é acima da ingestão diária máxima tolerável de 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de massa corporal.

3.5 ADUBAÇÃO

Macro e micronutrientes minerais, juntamente com fatores como luz, água e gás carbônico constituem a matéria prima essencial na biossíntese celular. Embora constituam apenas de 4 a 6% da matéria seca total, os elementos minerais constituem moléculas essenciais em membrana, estando envolvido na ativação enzimática, controle osmótico, transporte de elétrons, sistema tampão em protoplasma e controle de permeabilidade, entre outros (BONATO et al., 1998).

O incremento na produtividade de trigo, a partir da década de 70, deve principalmente ao melhoramento genético, com o lançamento de cultivares modernas e produtivas, com resposta positiva à aplicação de nitrogênio (FORNASIERI FILHO, 2008). Todavia, as cultivares modernas ainda não estão isentas do problema de acamamento, cuja ocorrência em maior ou menor intensidade depende do genótipo (altura, resistência do colmo e sistema radicular de planta), sendo influenciado principalmente pela dose de nitrogênio e excesso de chuva no final do ciclo da cultura (ZAGONEL et al., 2002).

Embora existam variações nas respostas às doses de nitrogênio de acordo com o cultivar, clima, solo e outros, a maioria dos resultados mostra que o uso desse nutriente, mesmo em doses baixas, resulta sempre em produtividades superiores em relação à ausência de uso do nutriente (VIEIRA et al., 1995). A utilização e manejo adequado de dose, época de aplicação, controle de doenças, pragas e plantas daninhas, uso de espaçamento entrelinhas e densidade de semeadura adequada, são alternativas que podem aumentar a eficiência do uso de nitrogênio.

3.5.1 Fertilização Nitrogenada

A importância do nitrogênio no desenvolvimento de planta deve principalmente à sua função estrutural, fazendo parte de moléculas de compostos orgânicos, como os aminoácidos e proteínas, e ativador de muitas enzimas (RAIJ, 1991). Tem importante função como ligante de íons metálicos, principalmente na forma de anéis heterocíclicos, como por exemplo, na clorofila. Participa na formação de pontes de hidrogênio, estabilizando e dando a conformação apropriada às proteínas (enzimas) e ácidos nucleicos, e formação da ligação peptídica entre os resíduos de aminoácidos, permitindo assim, a formação das proteínas (BONATO et al., 1998).

Por ser o nutriente mais absorvido e o mais exportado pelas plantas, deve ser frequentemente repostado ao solo (SILVA et al., 2000). A exigência de nitrogênio para a produção de três toneladas de trigo é de 70 kg, sendo 50 kg pelos grãos e 20 kg pela palha. Além disso, para cada tonelada adicional de grãos são necessários 25 kg de nitrogênio (MALAVOLTA, 2006).

O trigo, assim como outras gramíneas, demanda grande quantidade de nitrogênio. As indicações técnicas para a cultura do trigo no Estado do Paraná recomendam de 10 a 30 kg.ha⁻¹ de nitrogênio na semeadura após a cultura da soja, e de 25 a 50 kg.ha⁻¹ após a cultura do milho. Para adubação de cobertura recomenda-se de 30 a 60 kg.ha⁻¹ e 30 a 90 kg.ha⁻¹ de nitrogênio após a cultura da soja e milho, respectivamente (LAZZAROTTO et al., 2011).

O teor e a qualidade das proteínas são especialmente afetados pelas diferenças ambientais como clima, irrigação, temperatura, fertilidade, mobilidade do nutriente no solo e na planta, e disponibilidade de nitrogênio no solo (COELHO et al., 2001). Soares Sobrinho (1999) observou que as características físico-químicas e reológicas mais influenciadas positivamente pela adubação nitrogenada foram teor proteico e força de glúten.

Determinante da qualidade do trigo, a concentração protéica é sensível a condições do ambiente, podendo ser observado variações de 7 a 20% em um único cultivar, dependendo principalmente do ambiente de crescimento e uso de fertilizantes (KHAN; SHEWRY, 2009). Dowell e Maghirang (2002) demonstraram que sementes individuais em uma amostra com 12% de proteína variaram entre 6 e 16% em função da sua localização na espiga. No entanto não é prático a separação de

sementes com base na sua posição na espiga, esta observação sugere que melhoristas selecionem novas linhagens com a menor variação de proteína possível.

Kolchinski e Schuch (2003), avaliando os efeitos da adubação nitrogenada sobre o desempenho industrial e a qualidade fisiológica de aveia branca observaram que a aplicação de N na emissão da panícula elevou o teor de proteína bruta na cariopse.

Gutkoski, Rosa Filho e Trombetta (2002) verificaram que o teor de proteína das amostras de grãos de trigo do cultivar Rubi apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) com força do glúten (0,75) e relação P/L (-0,71), que corresponde à tenacidade (P), obtida na análise de alveografia, sobre a extensibilidade (L). Gutkoski et al. (2011), observou que amostras de trigo das cultivares Safira e Ônix apresentaram melhores características físicas com o aumento da dose de nitrogênio aplicada ao solo. O teor de proteína bruta das farinhas de trigo apresentou aumento médio de 1,35 vezes nas cultivares Safira e Ônix com a elevação da dose de nitrogênio.

Cazetta et al. (2008), observou redução da massa hectolétrica com incremento de dose de N, o que, segundo o autor, foi provocado pela formação de grãos pequenos, enrugados e malformados, pelo enchimento deficiente. Neste trabalho também se observou incremento da força geral do glúten (W), bem como o teor de proteína da farinha e redução na relação P/L, influenciando positivamente na qualidade da farinha para panificação, com aumento da adubação nitrogenada.

Em sistemas agrícolas em que a oferta de nitrogênio restringe o crescimento das plantas, a produção de grãos irá aumentar com a utilização da adubação. Entretanto, uma estabilização pode aparecer se um fator, com exceção do nitrogênio, como a falta de outro nutriente é limitante. Esta restrição pode ser superada quando o nutriente deficiente é corrigido no solo (AULAKH; MALHI, 2004) e, desse modo, uma mudança na eficiência da adubação é esperada.

A eficiência da adubação nitrogenada pode variar quando um fator na produção é alterado, por exemplo, cultura anterior (JOHNSTON et al., 1994), sistema de cultivo (SIELING et al., 1998) ou a disponibilidade de água (TIMSINA et al., 2001). Relatos mostram um declínio na eficiência de uso de nitrogênio quando a dose de fertilizante nitrogenado é aumentada (MCDONALD, 1992; TIMSINA et al., 2001), uma vez que o nitrogênio se torna menos limitante em taxas elevadas e há aumento das perdas para o ambiente.

Aproximadamente 98% do nitrogênio no solo encontra-se na forma orgânica, o restante, nas formas inorgânicas de amônio (NH_4^+) e/ou nitrato (NO_3^-), prontamente disponíveis para as plantas (BRADY, 1989), originados pela mineralização durante os cultivos, mediante hidrólise enzimática produzida pela atividade da microbiota do solo (CAMARGO; GIANELLO; VIDOR, 1997) e/ou por aplicação de fertilizantes nitrogenados. Entretanto, o nitrogênio inorgânico está sujeito a constantes perdas por volatilização, lixiviação, imobilização e extração pelas culturas. O tipo de perda é determinado, entre outros fatores, pela fonte de nitrogênio utilizada, pelo manejo que é realizado na cultura e pelo ambiente ao qual o fertilizante é exposto.

Efeitos negativos diretos e indiretos, causados pelo acúmulo de quantidades excessivas de N em ecossistemas terrestres e aquáticos, bem como na troposfera, causam danos significativos para a sociedade com relação à qualidade ambiental, ecossistemas, biodiversidade e saúde humana (SCHWEIGERT; VAN DER PLOEG, 2000; TOWNSEND et al., 2003).

3.5.2 Bactéria Promotora de Crescimento

A fixação biológica de nitrogênio é o processo da transformação de N_2 em NH_4 . As bactérias diazotróficas são os únicos organismos capazes de converter o nitrogênio atmosférico a amônio destinado à síntese de biomoléculas (BURRIS, 1991). A capacidade de fixar nitrogênio é detectada na maioria de grupo filogenético entre as bactérias, incluindo sulfo-bactérias, firmibactéria, actinomicetos, cianobactérias, proteobactérias e arqueobactérias, em simbiose ou associadas a plantas, fungos e diatomáceas (DIXON; KAHN, 2004).

A fixação biológica do N_2 ocorre graças a uma enzima, denominada nitrogenase e, do ponto de vista energético, ela também é dispendiosa para o organismo que a realiza. No entanto, devido à presença de um sistema enzimático, a reação ocorre à temperatura ambiente e pressão atmosférica. Sendo a reação: $\text{N}_2 + 16 \text{ ATP} + 8 \text{ e}^- + 8 \text{ H}^+ \gg 2 \text{ NH}_3 + \text{ H}_2 + 16 \text{ ADP} + 16 \text{ Pi}$ (e^- = elétron e Pi = fosfato inorgânico). A reação caracteriza-se pela redução do N_2 à NH_3 e, para que a reação ocorra, é necessário que haja transporte de elétrons, mediado pela enzima nitrogenase que é formada por duas unidades proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de

transportar elétrons. Durante o processo de redução do N₂, a nitrogenase é auxiliada por uma terceira molécula transportadora de elétrons, a ferridoxina (MORGANTE, 2009).

A inoculação de plantas com *Azospirillum* spp. pode resultar em variação significativa nos parâmetros de crescimento em diferentes cereais, tais como aumento da biomassa da planta, absorção de nutrientes, teor de N nos tecidos, altura de planta, tamanho da folha, número de perfilhos, comprimento de raiz e volume (SALANTUR; OZTURK; AKTEN 2006).

O maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em vários outros efeitos. Relatos citam incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN; HOLGUIN, 1997; DOBELAERE et al., 2001; BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004). Provavelmente pelo maior crescimento radicular e melhor nutrição das plantas, também há relato de maior tolerância a agentes patogênicos de plantas (CORREA et al., 2008).

Pesquisas em trigo sugerem que a inoculação de sementes com bactérias diazotróficas não substitui o adubo nitrogenado, porém, pode promover melhor absorção e utilização do N disponível (SAUBIDET; FATTA; BARNEIX, 2002). Quadros (2009) observou que a inoculação com *Azospirillum* a campo, juntamente com a adição de dose de 50 kg ha⁻¹ na base, apresentou desempenho equivalente à aplicação de 130 kg ha⁻¹ de N quanto ao rendimento de grãos para dois híbridos de milho.

Mendes et al. (2011), utilizando o cultivar de trigo Quartzo, observou influência positiva no peso hectolítrico e aumento na produtividade de grãos, quando associado o uso de *Azospirillum brasilense*, com e sem a redução na adubação de cobertura com nitrogênio. Além disso, os tratamentos com e sem a utilização da bactéria, não reduziram os parâmetros de qualidade de farinha como sedimentação, proteína bruta e número de queda.

Segundo Alamri e Mostafa (2009), a dose recomendada de fertilizante nitrogenado pode ser reduzida pelo uso de inoculação de bactérias que, por sua vez, minimiza os custos de produção, poluição ambiental, aumenta a fertilidade do solo e a produtividade do trigo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Infra-Estrutura

As análises foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (análise físico-química e quantificação de desoxinivalenol) e, Departamento de Agronomia (preparo inicial de amostras), no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina (Londrina-Paraná). A determinação da qualidade tecnológica de trigo foi realizada na Embrapa-CNPT (Passo Fundo-Rio Grande do Sul) e Granotec/Granolab do Brasil (Curitiba-Paraná).

4.1.2 Localização e Caracterização da Área Experimental

Cultivado em dois anos agrícolas (2010 e 2011), o experimento a campo foi executado na área experimental da Embrapa-CNPSO, localizada no Distrito de Warta, município de Londrina-PR e, na fazenda experimental da Embrapa-Produtos e Mercado (SPM), município de Ponta Grossa-PR.

O Distrito de Warta (Londrina-PR) localiza-se a 23°11' latitude Sul, 51°10' longitude Oeste, com altitude de 605 m. O solo do local é caracterizado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006). O clima da região (Figura 3), segundo a classificação de Köppen, é Cfa, ou seja, clima subtropical com temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida (IAPAR, 2013).

A fazenda experimental em Ponta Grossa-PR localiza-se a 25°09' latitude Sul, 50°06' longitude Oeste, com altitude de 800 m. O solo do local é caracterizado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006). O clima da região (Figura 3), segundo a classificação de Köppen, é Cfb, ou seja, clima temperado, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18 °C, com verões

frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22 °C e sem estação seca definida (IAPAR, 2013).

Figura 3 - Mapa climático do Estado do Paraná.



Fonte: IAPAR (2013).

Os dados de temperatura (C°) e precipitação diária (mm) durante o período de desenvolvimento da cultura, foram fornecidos pela estação meteorológica da Embrapa (2 estações), localizadas a aproximadamente 2 e 3 km dos experimentos em Londrina e Ponta Grossa, respectivamente.

As áreas experimentais foram manejadas no sistema de plantio direto, sendo o trigo cultivado em sucessão a cultura da soja ou milho, em Londrina (2010 e 2011), e soja (2010) e milho (2011), em Ponta Grossa. Previamente à instalação dos experimentos foram coletadas amostras de solo das áreas experimentais para análise química.

A adubação de semeadura com nitrogênio, fósforo e potássio (N-P-K) foi realizada conforme a análise de solo, seguindo as Indicações Técnicas da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale para o Estado do Paraná (FRONZA et al., 2008). Para isso, utilizou-se 250 kg.ha⁻¹ da fórmula 8-28-16, correspondendo a 20 kg.ha⁻¹ de N, 70 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg.ha⁻¹ de K₂O. O nitrato de amônio (32% de N e 3% de K₂O) foi aplicado em cobertura, em doses pré-estipuladas, no início do perfilhamento (estádio 2; LARGE, 1954). A quantidade de K₂O foi corrigida e todas as parcelas receberam a mesma quantidade deste nutriente.

4.1.3 Matéria-Prima e Insumos

O cultivar BRS 220 (cultivar Embrapa 16 com a linhagem TB 108), utilizada no experimento em Londrina-PR, foi desenvolvido pela Embrapa em 1991 (BASSOI et al., 2005). O cultivar caracteriza-se pelo ciclo médio (69 dias da emergência ao espigamento), moderadamente suscetível a giberela, indicado para todo o Estado do Paraná (regiões 1, 2 e 3 de VCU - Valor de Cultivo e Uso) e pertencente à classe comercial Trigo Pão. Apresenta na região VCU – 3 (quente, moderadamente seco e baixa altitude), 284 de força de glúten (W), 1,0 balanceamento de glúten (P/L), 37 g de peso de 1000 sementes e 3.879 kg.ha⁻¹ de rendimento, conforme experimento conduzido em estações experimentais nas safras de 2009, 2010 e 2011, em (BASSOI et al., 2012).

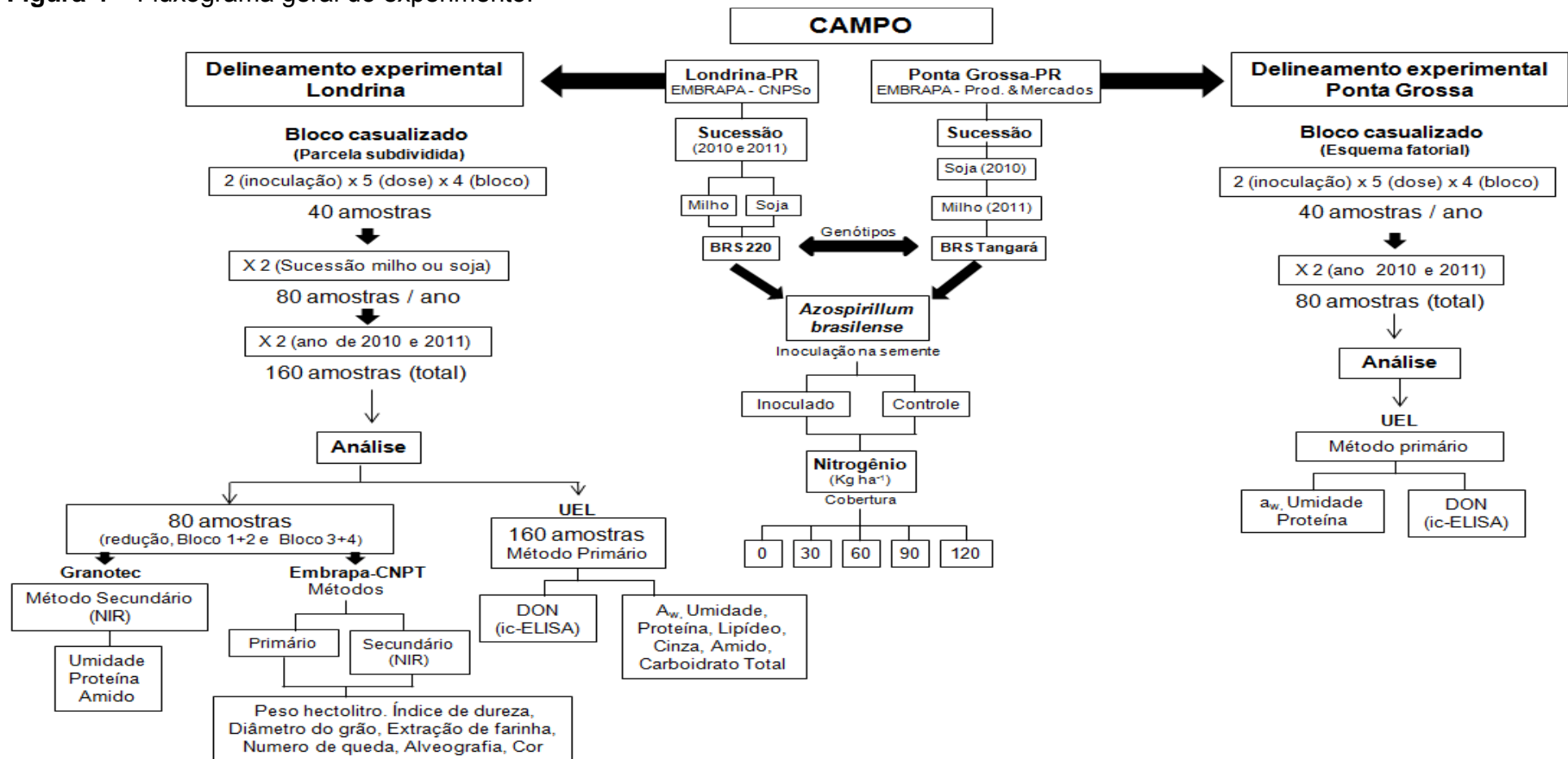
O cultivar BRS Tangará (BR23*2/PF 940382), utilizada no experimento em Ponta Grossa-PR, foi desenvolvido pela Embrapa, IAPAR e Fundação Meridional (SCHEEREN et al., 2007). Cultivar de ciclo médio (69 dias da emergência ao espigamento), moderadamente suscetível a giberela, indicado para todo o Estado do Paraná (regiões 1, 2 e 3 de VCU) e pertencente à classe comercial Trigo Melhorador. Apresenta na região VCU – 1 (fria, úmida e alta) média de 247 de força de glúten (W), 0,8 balanceamento do glúten (P/L), 40 g de peso de 1000 sementes e 5.177 kg.ha⁻¹ de rendimento (BASSOI et al., 2012).

Divididas em duas porções, as sementes foram tratadas com o inoculante líquido comercial Azototal[®] (Total Biotecnologia[®], Curitiba, Brasil), contendo a bactéria *Azospirillum brasilense* estirpe Ab-V5 e Ab-V6 na concentração de 1x10⁸ células viáveis.mL⁻¹, na dose de 4 mL do produto comercial para cada kg de semente, horas antes da semeadura. Os experimentos em Ponta Grossa (2010 e 2011) e Londrina (2010) foram conduzidos com sementes não tratadas com inseticida e/ou fungicida. O experimento em Londrina (2011) foi conduzido com semente pré-tratada com os produtos: fungicida triadimenol (3 mL.kg⁻¹ de semente) e inseticida imidacloprid (1 mL.kg⁻¹ de semente).

4.1.4 Delineamento Experimental

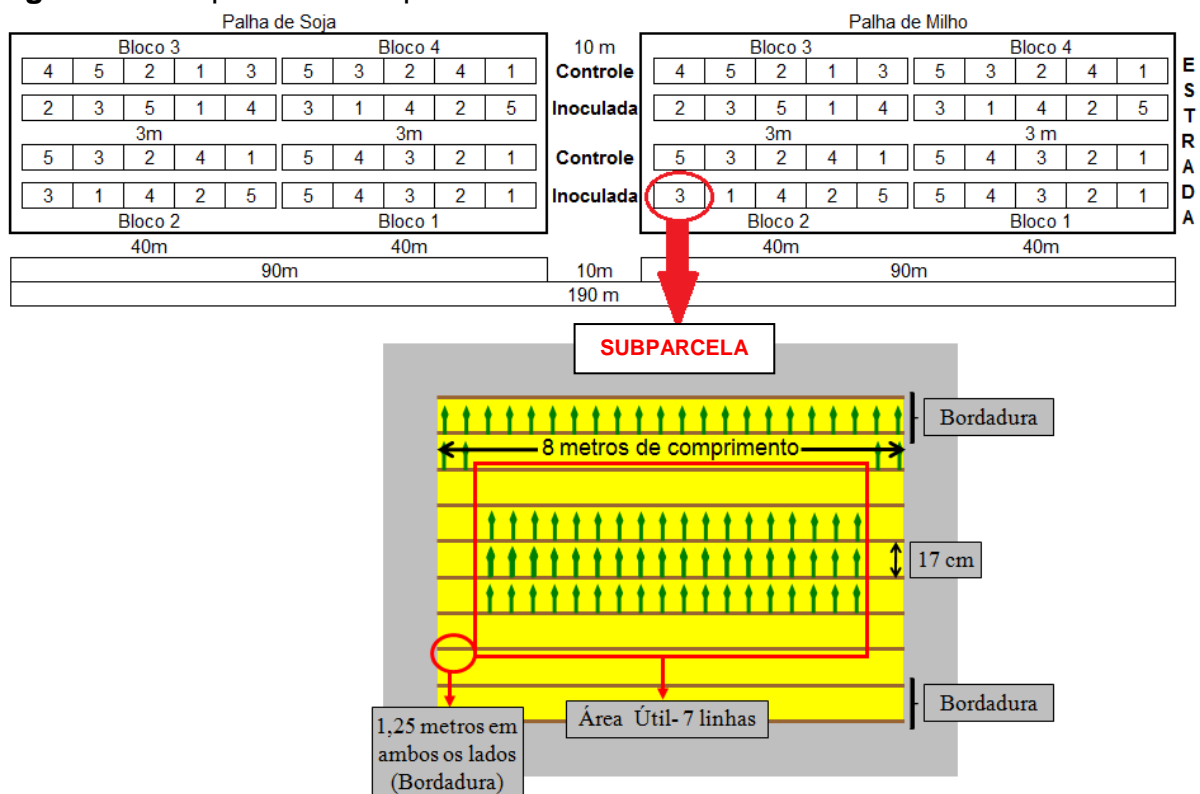
A Figura 4 apresenta o fluxograma dos experimentos e análise.

Figura 4 – Fluxograma geral do experimento.



O delineamento experimental em Londrina foi em blocos casualizados em parcelas subdivididas, com quatro repetições. O fator inoculação de semente foi alocado na parcela e dose de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹ de nitrato de amônio), aplicado no início de perfilhamento (estádio 2; LARGE, 1954), na subparcela. A parcela experimental foi constituída por 13 linhas, com oito metros de comprimento e espaçamento entre linhas de 17 cm. Consideraram-se como área útil da parcela experimental as sete linhas centrais, desprezando-se 1,25 m nas extremidades, totalizando 6,54 m² de área útil (Figura 5).

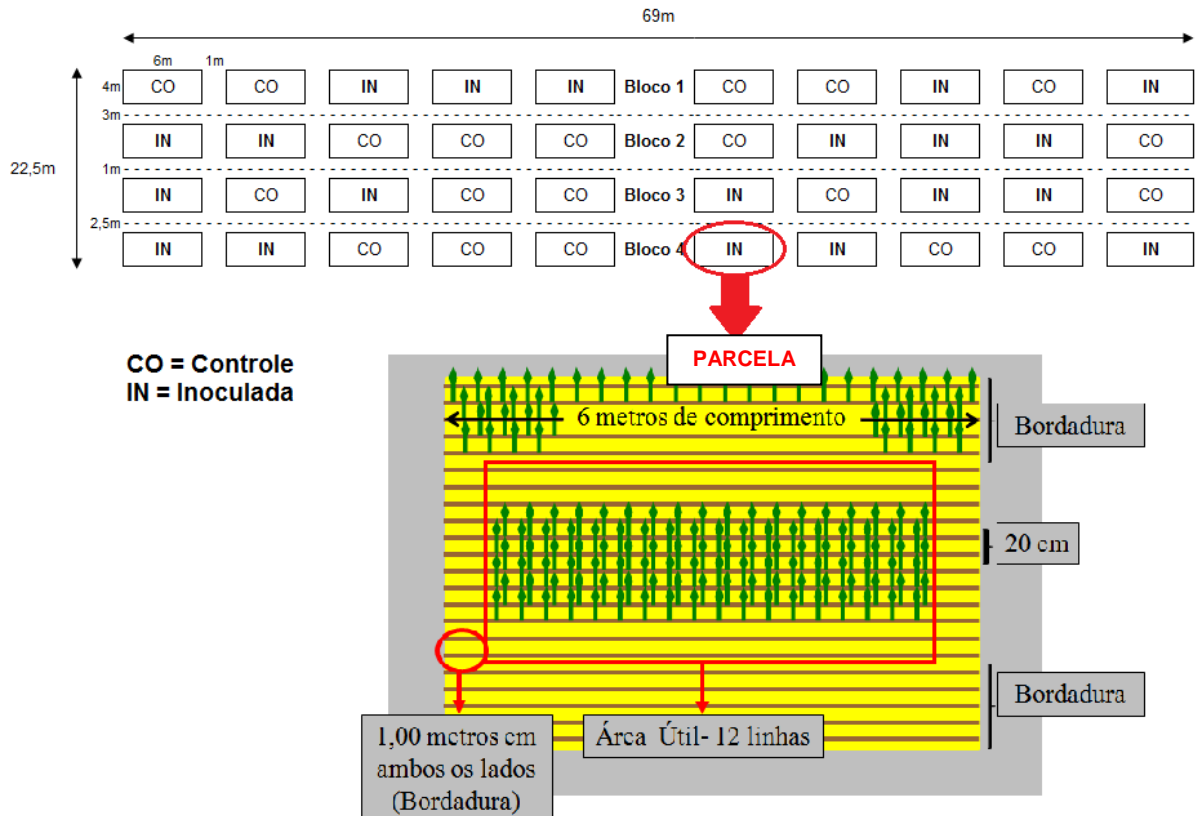
Figura 5 - Croqui da área experimental em Londrina-PR.



O delineamento experimental em Ponta Grossa foi em blocos casualizados com esquema fatorial 2 x 5 (inoculação e doses de N), com quatro repetições. Os experimentos avaliados consistiram de: sementes inoculadas com *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹ de nitrato de amônio), aplicado no início de perfilhamento (estádio 2; LARGE, 1954). A parcela experimental foi constituída por 22 linhas, espaçadas em 20 cm, com seis metros de comprimento e consideraram-se como área útil da parcela

experimental as 12 linhas centrais, desprezando-se 1,0 m nas extremidades, totalizando 9,6 m² de área útil (Figura 6).

Figura 6 - Croqui da área experimental em Ponta Grossa-PR.



4.1.5 Procedimento Operacional

O trigo foi semeado mecanicamente em sistema de semeadura direta (semeadora adubadora de 13 e 11 linhas, para Londrina e Ponta Grossa respectivamente), para obter uma densidade aproximada de 300 plantas por m² (considerando a taxa de germinação).

Os tratos culturais foram realizados de acordo com as Indicações técnicas da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale para o Estado do Paraná (FRONZA et al., 2008). A área experimental foi monitorada semanalmente e a aplicação de fungicida realizada no aparecimento dos primeiros sintomas. O controle de plantas daninhas foi feito quando necessário, caso houvesse ocorrência de plantas infestantes no período crítico para a cultura (emergência ao espigamento).

A colheita mecânica da parcela experimental ocorreu no estádio 11.4, correspondente a maturação de colheita com umidade dos grãos inferior a 20% (LARGE, 1954).

Após limpeza, as amostras de Londrina (2010 e 2011) foram divididas em duas partes e armazenadas a -18°C até a análise. Todas as amostras de Ponta Grossa e parte dos grãos de Londrina foram moídas, realizando higienização do equipamento entre amostras (álcool 70%), em moinho de martelo a 30 “*mesh*” (MOD MA-090, Marconi[®], Piracicaba-SP, Brasil), destinando-se às análises físico-químicas e quantificação de desoxinivalenol. A outra porção de grãos experimentais de Londrina foi enviada à EMBRAPA-CNPT e Granotec (800 g cada amostra). Devido à insuficiência de quantidade individual (160 amostras) e custo elevado das análises, optou-se pela redução do número total para 80 amostras (duas repetições cada), juntando-se a repetição 1+2 e repetição 3+4.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Análises Físico-Químicas do Grão

4.2.1.1 Umidade

Dois gramas (g) de amostra foram colocados em cápsula de metal, previamente tarada. A cápsula com a amostra úmida foi aquecida durante 12 horas em estufa a 105°C (MOD NV 1.5, Nevoni[®], São Paulo, Brasil), posteriormente resfriada em dessecador até temperatura ambiente e pesada (IAL, 2008).

4.2.1.2 Atividade de água

A determinação de atividade de água das amostras foi realizada por meio de leitura em equipamento Aqualab (MOD 4TE, Decagon Devices[®], Pullman, Estados Unidos), seguindo especificações descritas pelo fabricante ($24,93\pm 0,07^{\circ}\text{C}$).

4.2.1.3 Proteína (Método Kjeldahl)

Em um tubo de digestão foi adicionado 2,5 g de catalisador, 0,2 g da amostra de trigo triturado e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. O tubo permaneceu em bloco digestor (MOD TE-40/25, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), a 400°C até o líquido ficar azul (transparente). Após resfriamento, 10 mL de água destilada foram adicionadas no tubo contendo a amostra digerida. No destilador de nitrogênio (MOD TE-036/1, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), foi adicionado ao tubo NaOH 50%, neutralizando o pH da amostra, e um volume de 50 mL do destilado foi coletado em erlenmeyer contendo 10 mL de ácido bórico 2% e seis gotas de indicador misto. Em seguida, o destilado foi titulado com ácido sulfúrico 0,02N e o teor total de nitrogênio convertido em proteína pelo fator 5,7 (TELLER, 1932; MOSSE, 1990; AOAC, 1995).

4.2.1.4 Lipídeo (Método Soxhlet)

Cinco gramas de amostra foram hidrolisadas com 50 mL de ácido clorídrico 4M, adicionado de 100 mL de água quente, em béquer de 250 mL contendo pérolas de vidro. O béquer contendo a amostra foi aquecido em bloco digestor (MOD TE-40/25, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), a 300°C por 30 minutos a partir do início da fervura. O material hidrolisado foi filtrado em papel filtro e lavado com aproximadamente 600 mL de água destilada para neutralização do pH. O papel filtro contendo a amostra lavada foi seco em temperatura ambiente (IAL, 2008).

O papel filtro contendo 5 g de amostra hidrolisada foi acoplado ao balão previamente tarado e levado ao extrator de Soxhlet (MOD TE-188, Tecnal[®]; MOD MA-487, Marconi[®], Piracicaba, Brasil). A extração ocorreu por refluxo de 150-200 mL de éter de petróleo e aquecimento. Após 3 horas de processo, o balão foi retirado do extrator, mantido em estufa a 125°C (MOD NV 1.5, Nevoni[®], São Paulo, Brasil) por 12 horas, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado (AOAC, 1995).

4.2.1.5 Cinza (Resíduos por incineração)

Cápsula de porcelana foi previamente aquecida por 1 hora em mufla a 550°C (MOD 318D24, Quimis[®], Diadema, Brasil), resfriada em dessecador até a

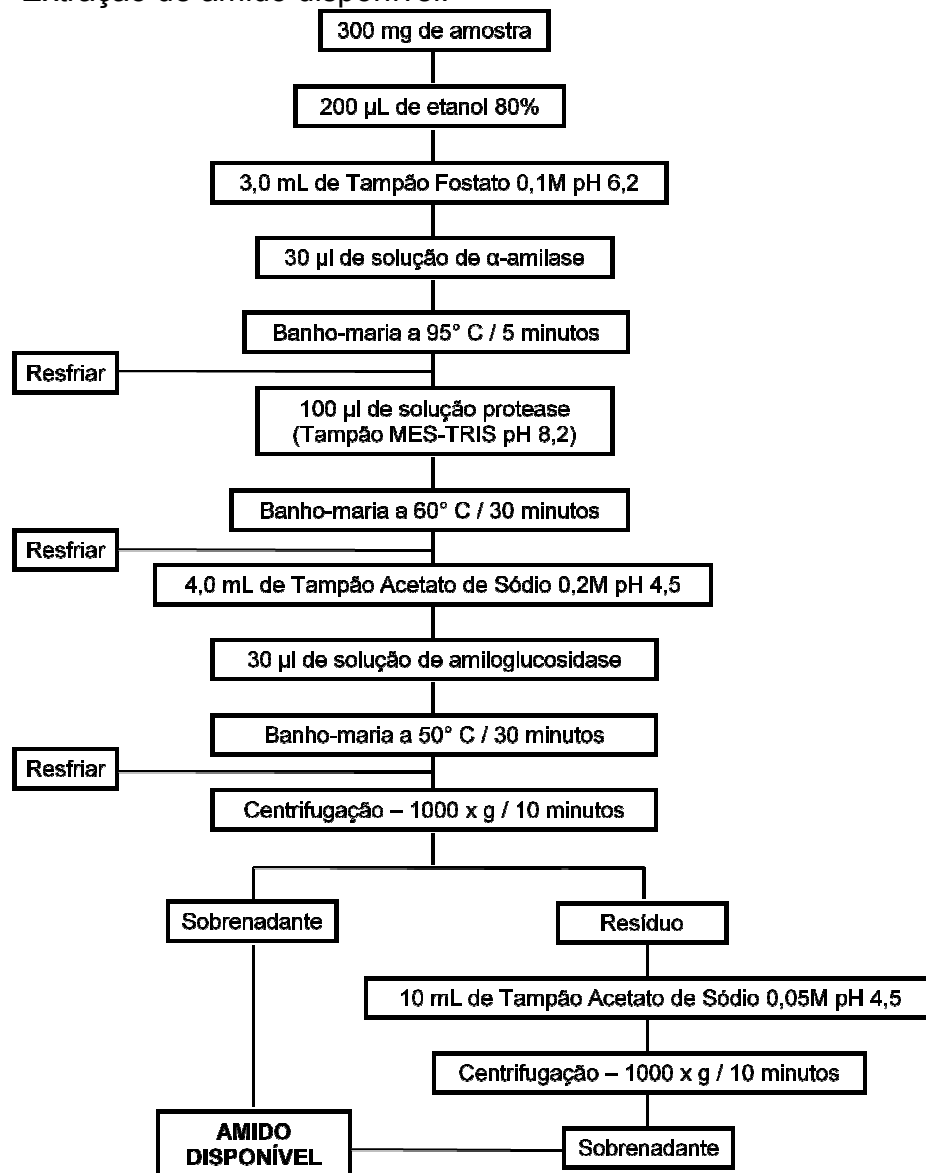
temperatura ambiente e pesada. Duas g de amostra foram colocadas na cápsula tarada e carbonizada com o auxílio de bico de Bunsen. Em seguida, a amostra carbonizada foi incinerada em mufla a 550°C, até apresentar coloração branca ou ligeiramente acinzentada (aproximadamente 12 horas). Depois de incineradas, as amostras foram retiradas da mufla, resfriadas até temperatura ambiente e pesadas (IAL, 2008).

4.2.1.6 Amido disponível

O amido disponível foi determinado seguindo protocolo PTF proposto por Walter, da Silva e Perdomo (2005), elaborado a partir de alterações no método 996.11, Protocolo P100SP (AOAC, 1995) (Figura 7).

Em tubo de ensaio de Falcon (15 mL), 300 mg de grão triturado foi adicionado de 200 µL de etanol 80%, 3,0 mL de tampão fosfato 0,1M pH 6,2 e 30 µL de solução de α -Amilase (A3306 - Sigma Aldrich[®], St. Louis, Estados Unidos). Após agitação em vórtex (MOD LAB DANCER, IKA[®], Guangzhou, China), a solução foi aquecida em banho-maria com circulação de água a 95°C por 5 min (MOD MA-127, Marconi[®], Piracicaba, Brasil), e resfriado em banho de gelo. Após resfriamento, foi adicionado 100 µL de solução de protease preparado em Tampão MES-TRIS 0,05M pH 8,2 (50 mg.mL⁻¹, P3910 - Sigma Aldrich[®]), seguido de reação a 60°C por 30 min (banho-maria) e resfriamento em banho de gelo. A seguir, foi adicionado 4,0 mL de tampão acetato de sódio 0,2M pH 4,5 e 30 µL de solução de amiloglucosidade (A9913 - Sigma Aldrich[®]), seguido de reação a 50°C por 30 min (banho-maria) e resfriamento. O tubo contendo a amostra hidrolisada foi centrifugado a 1000 *xg*/ 10 minutos em centrífuga não refrigerada (MOD Harrier 15/80, MSE[®], Londres, Reino Unido). Após recuperação do sobrenadante em balão volumétrico, foi adicionado 10 mL de tampão acetato de sódio 0,05M pH 4,5 ao resíduo, seguido de agitação em vórtex por 1 minuto e centrifugação nas mesmas condições anteriormente descritas. O sobrenadante foi recuperado em balão volumétrico e teve o volume ajustado para 100 mL com água destilada (Figura 7).

Figura 7 - Extração de amido disponível.



Após hidrólise, o teor de amido disponível foi quantificado pela metodologia proposta por Nelson (1944) e Somogyi (1945). Alíquota de 50 µL de amostra extraída foi transferida para tubo contendo 950 µL de água destilada (diluição 1:20), adicionada de 1 mL do reativo de Somogyi e o aquecido a 95°C por 10 min (banho-maria), seguida de resfriamento em banho de gelo. A seguir, adicionou-se 1 mL do reativo de Nelson, 7 mL de água destilada e procedeu-se leitura a 505 nm (UV-visível, MOD Libra S22, Biochrom®, Cambridge, Reino Unido).

A curva padrão foi construída com glicose 0,02% (GI 008 - Synth®, Diadema, Brasil) e o resultado em açúcares redutores multiplicado por 0,9, para conversão em amido disponível.

4.2.1.7 Carboidrato total

O teor de carboidrato total foi calculado pela diferença:

$$\% \text{Carboidrato total} = 100\% - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Lipídios} + \% \text{ Cinzas})$$

4.2.2 Determinação de Desoxinivalenol - DON

4.2.2.1 Calibração de padrão

Desoxinivalenol (D0156 98% - Sigma Aldrich[®], St. Louis, Estados Unidos) foi ressuspenso em metanol grau HPLC (J. T. Baker[®], Xalostoc, México) e a absorvância determinada a 220 nm (UV-visível, MOD Libra S22, Biochrom[®], Cambridge, Reino Unido), previamente calibrado segundo Instrução Normativa n° 9, de Março de 2000 (BRASIL, 2000). A concentração foi determinada utilizando-se a seguinte fórmula (MALONE, 2001):

$$\text{Concentração de micotoxina } (\mu\text{g.mL}^{-1}) = \frac{A \times FC \times MM \times 1000}{\epsilon}$$

Onde:

A = Absorvância da micotoxina;

FC = Fator de correção do espectrofotômetro (0,965376782);

MM = Massa molecular da micotoxina desoxinivalenol (296.1);

ϵ = Absortividade molar da micotoxina desoxinivalenol (6129).

Após a determinação da concentração, o padrão foi utilizado para preparo da curva de calibração para ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (15,625, 31,25, 62,5, 125, 250, 500, 1000 ng.mL⁻¹) e ensaio de recuperação.

A curva de calibração utilizada no cálculo de limite de detecção (Leitura do Branco menos 3 vezes desvio padrão do branco) e limite de quantificação (Leitura Branco menos 10 vezes desvio padrão do branco) foi construída a partir da média de 7 curvas padrão (SOARES, 2006). A curva foi confeccionada, relacionando Log da concentração de DON (ng.mL⁻¹) e absorvância

da amostra ou padrão, expressa em Logit e calculada conforme fórmula abaixo (OUBIÑA et al., 2000):

$$\text{Logit (Amostra)} = \text{LN} \frac{\frac{\text{Leitura Amostra}}{\text{Leitura Branco}}}{1 - \left(\frac{\text{Leitura Amostra}}{\text{Leitura Branco}} \right)}$$

4.2.2.2 Teste de recuperação

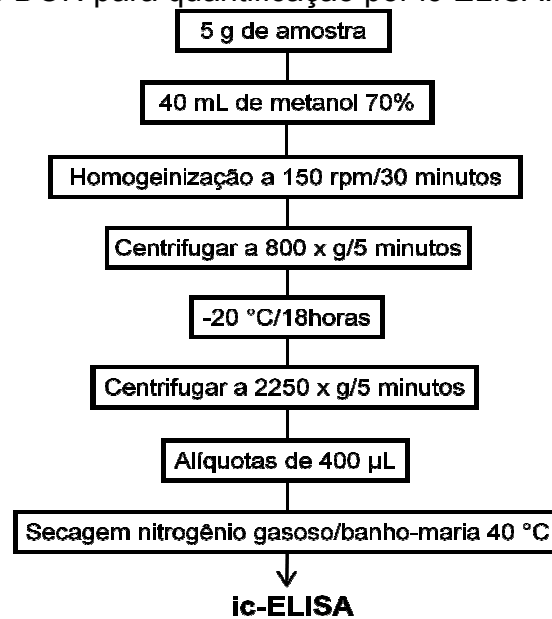
Para o teste de recuperação ou eficiência do método, um *pool* foi constituído, misturando 10 g de oito amostras de trigo aleatoriamente selecionadas. A seguir, adicionou-se DON diluído em metanol (350, 1250 e 1750 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), em duplicata, mantendo-se em repouso a 25°C por 16 horas em estufa BOD (MOD TE-39, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil), para evaporação do solvente (DOS SANTOS et al., 2011b). Após extração, DON foi determinado por ELISA-Competitivo indireto (ic-ELISA). O valor de branco (sem adição de DON) foi subtraído do valor total obtido.

4.2.2.3 ELISA-competitivo indireto

A determinação de DON por ic-ELISA foi baseada em anticorpo monoclonal de acordo com método descrito por Kawamura (2005) e dos Santos et al. (2011b).

Cinco gramas de trigo triturado (30 *mesh*) adicionado de 40 mL de metanol 70%, foram homogeneizadas em erlenmeyer de 250 mL a 150 rpm/30 minutos a 10°C (incubadora refrigerada, MOD MA-830/A, Marconi[®], Piracicaba, Brasil), seguido de centrifugação a 800 *xg*/5 minutos a 10°C (MOD 5804 R (Eppendorf AG[®], Hamburg, Alemanha). O sobrenadante foi armazenado a -18°C por 18 horas (MOD FE26, Electrolux[®], Manaus, Brasil). A amostra foi novamente centrifugada a 2250 *xg*/5 minutos e o sobrenadante dividido em alíquotas de 400 μL e seco a 40°C sob nitrogênio gasoso (banho-maria, MOD MA-127, Marconi[®], Piracicaba, Brasil). As alíquotas foram armazenadas a -18°C até o momento das análises por ic-ELISA (Figura 8).

Figura 8 - Extração de DON para quantificação por ic-ELISA.



Microplacas de ELISA (Corning[®], Corning, Estados Unidos) foram sensibilizadas com 100 µL de DON-HS-OVA (DON- Hemissuccinato-Ovoalbumina, 2µg.mL⁻¹) (cedido por Dr. Osamu Kawamura, *Kagawa University*, Japão), diluído em tampão carbonato/bicarbonato pH 9,6, e incubada a 4°C por 16 horas em câmara de refrigeração (5 ± 3 °C, 6 m de comprimento/3,5 m de largura/ 2,8 m de altura; Refrigeração José Von Stein e Cia LTDA). Em seguida, lavaram-se as placas em lavadora de ELISA (MOD BSII, Bras-Serum[®], São Paulo, Brasil), utilizando PBST (Tampão Doubecco's 0,015 M PH 7,3 com 0.05% Tween 20) por 5 vezes. Realizou-se o bloqueio das mesmas com 200 µL de solução PBS-Leite desnatado 1% (Molico-Nestle[®], Araçatuba, Brasil), e incubação a 37°C por 1 hora (estufa bacteriológica, MOD NT 525, Novatecnica[®], Piracicaba, Brasil). As placas quando não utilizadas após o bloqueio foram mantidas por no máximo 24 horas (5 ± 3 °C, 6 m de comprimento/3,5 m de largura/ 2,8 m de altura; Refrigeração José Von Stein e Cia LTDA).

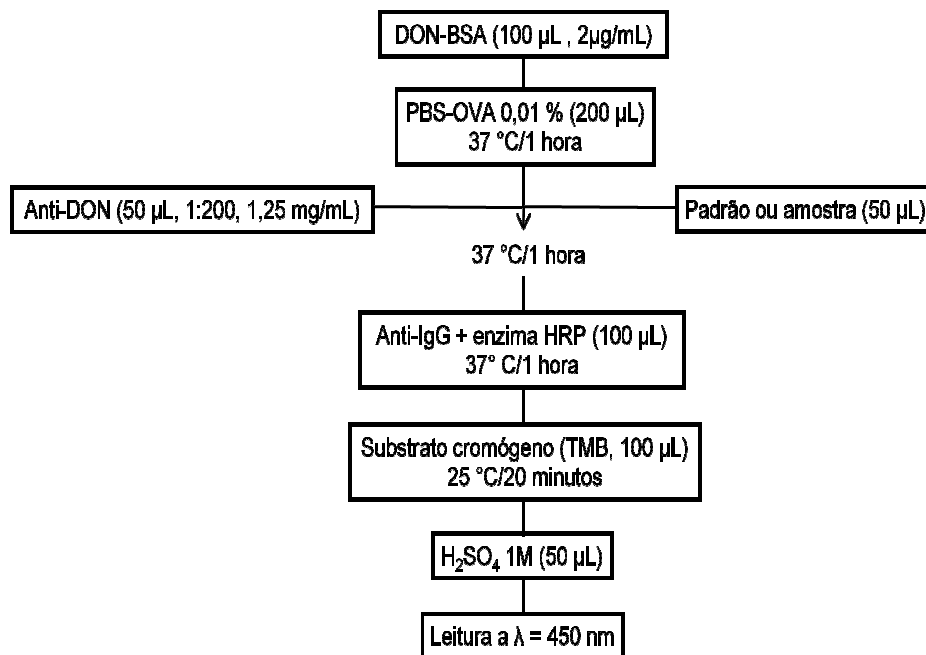
Para utilização, a placa foi lavada por cinco vezes com PBST em lavadora de ELISA (MOD BSII, Bras-Serum[®]) e adicionado 50 µL de amostra/padrão, ressuspensão em 400 µL de metanol:PBST (1:9, v/v), juntamente com 50 µL anti-DON (hibridoma anti-DON.3 cedido por Dr. Osamu Kawamura, *Kagawa University*, Japão; cultivado por dos Santos et. al. (2011b), diluído em leite

desnatado 1% (1:2000 v/v, 19,19 mg.mL⁻¹), no micropoço da placa de ELISA, com posterior incubação a 37°C por 1 hora (MOD NT 525, Novatecnica[®]).

Após lavagem com PBTS (5 vezes; lavadora de ELISA, MOD BSII, Bras-Serum[®]), foi adicionado a placa 100 µL de Anti-IgG + enzima HRP (A4416 - Sigma Aldrich[®], St. Louis, Estados Unidos), diluído em leite desnatado 1% (1:1000, v/v), e incubada a 25°C por 1 hora em (BOD, modelo TE-39, Tecnal[®], Piracicaba, Brasil).

Após incubação foi realizada nova lavagem com PBST (5 vezes; lavadora de ELISA, MOD BSII, Bras-Serum[®]), adicionou-se substrato cromógeno (TMB, 100 µL), com posterior incubação a 25°C por 20 minutos (BOD, modelo TE-39, Tecnal[®]), e adição de H₂SO₄ 1M (50 µL) para parar a reação de cor. A leitura da placa foi realizada leitura a 450 nm em leitora de ELISA (MOD Asys Expert Plus, Biochrom[®], Cambridge, Reino Unido), (Figura 9).

Figura 9 - Quantificação de DON por ic-ELISA.



4.2.3 Análises de Qualidade de Grão e Farinha

4.2.3.1 Peso hectolítrico (PH)

O peso hectolítrico (kg.hL⁻¹) foi determinado pela pesagem em balança eletrônica de uma amostra de grãos com volume conhecido (225 mL) (MOD

Tipo 40, Dalle Molle[®], Caxias do Sul, Brasil) e o resultado transformado na unidade padrão (kg.hL^{-1}), segundo método descrito por Brasil (2009) e pelo fabricante do equipamento.

4.2.3.2 Índice de dureza e diâmetro do grão (SKCS)

A dureza do grão foi determinada segundo o método 55-31 (AACC, 2000), usando equipamento SKCS - Sistema de Caracterização Individual da Semente (MOD 4100, Perten Instrument[®], Huddinge, Suécia), pela medida experimental da força necessária para triturar o grão de trigo, segundo o manual de operação do SKCS. Uma amostra de 300 grãos para cada determinação, com três repetições para cada amostra, foi utilizada para estimar o índice de dureza (ID) e diâmetro (DG; milímetro) do grão.

4.2.3.3 Moagem experimental

Para a extração experimental da farinha de trigo (rendimento em porcentagem), os grãos foram primeiramente condicionados a 14% de umidade por aproximadamente 16 horas, para facilitar a extração e aumentar o rendimento. Após o condicionamento, procedeu-se a moagem dos grãos em moinho de rolos (MOD Quadrumat Junior, Brabender[®], Duisburg, Alemanha), segundo método n° 26-10A (AACC, 2000). A farinha, obtida pela mescla das farinhas de quebra e de redução, foi embalada em sacos de polietileno e armazenada até utilização nas análises de alveografia, número de queda (*Falling Number*) e análise de cor.

4.2.3.4 Alveografia

A alveografia foi analisada em alveógrafo (MOD MA82 com acessório alveolink, Chopin[®], Villeneuve-la-Garenne, França), conforme método 54-30 (AACC, 2000). Os parâmetros determinados foram: W (força de glúten; expressa em $W \times 10^{-4}\text{J}$), P (tenacidade ou resistência à extensão da massa; milímetro), L (extensibilidade; milímetro), P/L (relação tenacidade e extensibilidade), G (índice de intumescimento; milímetro), P/G (relação tenacidade e índice de intumescimento) e IE (índice de elasticidade= $P200/P_{\text{máx}} \times 100$; porcentagem).

4.2.3.5 Número de queda

O número de queda (expresso em segundo) foi determinado em equipamento *Falling Number* de acordo com o Método 56-81B (AACC, 2000) e manual de operação do equipamento *Falling Number* (FN) (MOD 1500 Fungal, Perten Instrument[®], Huddinge, Suécia).

4.2.3.6 Análise de cor

A cor da farinha foi determinada no sistema CIELAB (MOD CR 310, Minolta[®], Osaka, Japão) (iluminante D₆₅ e ângulo 10°). Neste sistema, a coordenada de cromaticidade a* indica a intensidade do vermelho (+a*) ou verde (-a*), a coordenada de cromaticidade b* a intensidade amarela (+b*) ou azul (-b*) e L* a luminosidade do branco (L* = 100) ao preto (L* = 0).

A partir dos valores médios de a* e b*, foram calculados a saturação (croma, C*) e o ângulo h° (tonalidade cromática), onde h=0° (vermelho puro), h=90° (amarelo puro), h=180° (verde puro) e h=270° (azul puro), utilizando as fórmulas $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ e $h^{\circ} = \arctan(b^*/a^*)$ (BORGES et al., 2002).

4.2.3.7 Espectroscopia por infravermelho próximo (NIR)

Previamente a extração experimental da farinha, os grãos foram analisados por espectroscopia de infravermelho próximo (MOD XDS-Rapid Content Analyser, FOSS NIRSystems[®], Hoganas, Suécia), com sistema duplo de detecção (monocromador modelo 6500 com faixa de medição: silício 400–1100 nm e sulfeto de chumbo 1100–2500 nm), acompanhado de software ISIScan[™] (INFRAISOFT INTERNATIONAL LLC, 2008). As curvas de calibração utilizadas na predição das análises foram desenvolvidas pela Embrapa-CNPT, a partir da correlação com metodologias oficiais utilizando material nacional (farinha de trigo).

A análise também foi realizada na Empresa Granotec empregando NIR (MOD DA-7200, Perten Instrument[®], Huddinge, Suécia). As curvas utilizadas nos cálculos foram fornecidas pelo fabricante do equipamento e não tiveram ajustes na calibração com material nacional.

Em suma, as análises realizadas foram:

- NIR (FOSS) – Peso hectolítrico, índice de dureza e diâmetro do grão, extração experimental de farinha, número de queda, alveografia (W, P, L, P/L, G, P/G e IE) e cor (L^* , a^* , b^* , C^* , h°).
- NIR (Pertem) – Umidade, proteína e amido.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão, para doses de nitrogênio e as médias de sucessão de cultura com milho ou soja (Londrina em 2010 e 2011), e de inoculação, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do programa SISVAR versão 4.0 (Sistema para Análise de Variância) (FERREIRA, 2002). A Correlação de Pearson foi calculada com o auxílio do programa STATISTICA 7.0 ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram compilados na forma de três capítulos, conforme os títulos abaixo listados:

- **Capítulo I** – Adubação Nitrogenada e Inoculação com *Azospirillum brasilense* na Composição Química e Contaminação por Desoxinivalenol de Trigo Cultivado após Diferentes Culturas na Região Norte do Estado do Paraná;
- **Capítulo II** – Adubação Nitrogenada e Inoculação com *Azospirillum brasilense* na Qualidade Tecnológica de Trigo Cultivado após Diferentes Culturas na Região Norte do Estado do Paraná;
- **Capítulo III** – Adubação Nitrogenada e Inoculação com *Azospirillum brasilense* na Composição Química e Contaminação por Desoxinivalenol de Trigo da Região Centro Sul do Estado do Paraná.

CAPÍTULO I

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL DE TRIGO CULTIVADO APÓS DIFERENTES CULTURAS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

MATERIAL E MÉTODOS

As determinações foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Departamento de Agronomia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina – Londrina/PR (item 4.1.1).

Localização e Caracterização da Área Experimental

Cultivado em dois anos agrícolas (2010 e 2011), o experimento a campo foi executado na área experimental da Embrapa-CNPSO, localizada no Distrito de Warta, pertencente ao município de Londrina-PR (item 4.1.2).

Matéria-Prima e Insumos

O cultivar BRS 220 foi utilizado no experimento por ser indicado para a região e ter apresentado resultados satisfatórios em experimentos conduzidos em estações experimentais (BASSOI et al., 2012). Previamente à semeadura, as sementes foram divididas e tratadas com o inoculante líquido comercial Azototal[®] (Total Biotecnologia[®], Curitiba, Brasil), contendo a bactéria *Azospirillum brasilense* (item 4.1.3).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi de blocos casualizados em parcela subdividida, com quatro repetições, sendo o fator inoculação de semente alocado na parcela e dose de nitrogênio, aplicado em cobertura, na subparcela (item 4.1.4).

Procedimento operacional

Os tratos culturais foram realizados a partir da análise de solo, seguindo as indicações técnicas da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale para o Estado do Paraná (FRONZA et al., 2008). A colheita ocorreu quando a cultura encontrava-se no estágio 11.4, correspondente a maturação de colheita com umidade de grão inferior a 20% (LARGE, 1954). O grão colhido foi limpo e moído a granulometria de 30 “*mesh*”, evitando contaminação das amostras, para proceder-se às análises físico-químicas e quantificação de desoxinivalenol (item 4.1.5).

Análise físico-química

- Umidade – Estufa 105°C por 12 horas (IAL, 2008) (item 4.2.1.1);
- Atividade de água (Aw) - Leitura em equipamento Aqualab (item 4.2.1.2);
- Proteína – Foi realizada utilizando metodologia de Kjeldahl (AOAC, 1995) (item 4.2.1.3);
- Lipídeo – Extração por Soxhlet, amostra previamente hidrolisadas (ácido clorídrico 4M) (IAL, 2008), com refluxo de 150-200 mL de éter petróleo por 3 horas (AOAC, 1995) (item 4.2.1.4);
- Cinza - Pesagem do resíduo da incineração da amostra, previamente carbonizada e, incinerada por aproximadamente 12 horas (IAL, 2008) (item 4.2.1.5);
- Amido disponível – Hidrólise enzimática (AOAC, 1995, modificado por Walter, da Silva e Perdomo, 2005) (item 4.2.1.6);
- Carboidrato total - Calculado por diferença (item 4.2.1.7);

Determinação de Desoxinivalenol

O padrão de desoxinivalenol foi calibrado (item 4.2.2.1) e utilizado na construção das curvas padrão e teste de recuperação dos métodos (item 4.2.2.2). A triagem das amostras de trigo foi realizada pelo método ic-ELISA, de acordo com método descrito por Kawamura (2005) e dos Santos et al. (2011b) (item 4.2.2.3).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Conforme apresentado na Tabela 1, a acidez do solo na área experimental (pH 4,87) constituiu fator negativo para a planta, devido a redução na disponibilidade de minerais em pH <5, principalmente nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio. A disponibilidade de alumínio pode aumentar a níveis tóxicos em pH ácido (<5,5), assim como cádmio e metais pesados, e reduzir o molibdênio disponível, importante na fixação biológica de nitrogênio (HAZELTON; MURPHY, 2007).

A capacidade de troca catiônica (CTC=11,69 $\text{cmol}_c.\text{dm}^{-3}$) encontrada é característico de solos tropicais, que apresentam capacidade reduzida para reter cátions em forma trocável. Conseqüentemente, não se recomenda aplicação de dose única e elevada de adubação e calagem, devendo-se aplicar parceladamente na semeadura e cobertura, evitando perdas por lixiviação. Além disso, a saturação por base (65%) está próximo ao ideal recomendado para a cultura do trigo no Estado do Paraná (70%), fazendo-se necessário a correção com calagem quando a saturação observada estiver abaixo de 60% (RONQUIM, 2010).

A precipitação pluviométrica durante o ciclo da cultura foi baixa, com total acumulado de 95,9 e 199 mm para 2010 e 2011, respectivamente. Em pesquisa utilizando o cultivar de trigo IAC-24, observou-se que o consumo médio de água pela planta é 347,2 mm (ciclo de 115 dias), ou 3,02 mm de consumo diário médio em condição experimental em Piracicaba-SP (LIBARDI; COSTA, 1997). Essa baixa precipitação afeta a umidade do solo, exercendo impacto negativo no rendimento final de cultura em sistema de sequeiro, reduzindo a fotossíntese, produção de biomassa e crescimento da planta (HEINEMANN; HOOGENBOOM; CHOJNICKI, 2002). Em 2010 observou-se 0,8 mm de precipitação acumulada nos 5 primeiros dias após a adubação em cobertura, e 34,4 mm em 2011 (Figura 1).

Na Tabela 2 é apresentada a análise de variância das características avaliadas em resposta a sucessão de cultura, inoculação e dose de N em cobertura nos anos avaliados (2010 e 2011).

A variável sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja) influenciou na atividade de água, proteína, cinzas e carboidrato total de grão, sendo que em 2011 também influenciou no conteúdo de umidade e amido ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Os dados apresentados na Tabela 3 mostram que as respostas de 2010 diferiram de 2011. O milho como cultura antecessora ao trigo em 2010 resultou em incremento ($p < 0,05$) na atividade de água (+5,3%), proteína (+2,7%) e cinzas (+7,1%). Enquanto que em 2011, com exceção do teor de cinza (+9,7%; pós-milho), o incremento na atividade de água (+9,1%) e teor de proteína (+10,7%) foi observado no cultivo pós-soja ($p < 0,05$).

O teor de carboidrato total ($p < 0,05$) foi maior no trigo pós-soja em 2010 (+0,9%), e no pós-milho em 2011 (+2,5%), assim como o teor de amido (+5,7%) (Tabela 3). Não houve diferença na produtividade para o ano de 2010 ($p > 0,05$), mas em 2011 a produtividade de trigo foi 3,7% maior no cultivo pós-soja ($p < 0,05$), com $3523,6 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (André Mateus Prando, dados não publicados).

A diferença entre os resultados apresentados deve-se a disponibilidade de nutrientes fornecido por cada cultura, da sua incorporação no solo e subsequente utilização pela planta. A relação C/N do resíduo da cultura do milho é alta, promovendo maior imobilização de N no solo e, conseqüente redução na quantidade de N disponível para a planta de trigo (BRAZ et al., 2006).

A imobilização do nitrogênio é evidenciada na Tabela 4, que apresenta os resultados significativos da interação entre sucessão de cultura e dose de nitrogênio, em 2010 e 2011 ($p < 0,05$). O teor de proteína no grão de trigo em 2011 no cultivo pós-soja ($0 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) foi maior do que pós-milho. Em 2011, com o incremento de dose de nitrogênio ($0 - 90 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$), observa-se que a resposta do trigo pós-soja foi melhor, isso porque no pós-milho, parte do nitrogênio aplicado no solo é utilizado pelos microrganismos para degradação do resíduo da cultura anterior (imobilização). Devido à baixa disponibilidade de nitrogênio mineral no solo, é possível observar o efeito do resíduo como fonte de nutriente para a planta. Com a utilização de dose elevada ($120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) o teor de proteína não mais diferiu entre pós-soja e pós-milho em 2011, por não haver competição entre planta e microrganismo pelo nitrogênio.

A temperatura e umidade são fatores importantes na degradação de restos culturais, uma vez que determinam a taxa crescimento de microrganismos e, por conseqüência, a decomposição do resíduo (DUONG, 2009). Devido à baixa precipitação no ano de 2010, aproximadamente metade da ocorrida em 2011, a degradação do resíduo pelos microrganismos do solo foi dificultada, não permitindo a diferenciação entre as respostas em função do resíduo da cultura de milho ou soja.

A contaminação por desoxinivalenol não diferiu em relação a sucessão de cultura (milho ou soja), apesar do resíduo da cultura do milho ser fonte potencial de inóculo de *Fusarium* spp. ($p > 0,05$). Entretanto, o crescimento fúngico e a produção de toxinas não são sinônimos, i.e, a melhor condição de crescimento para o fungo nem sempre coincide com a de síntese de toxina (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Blandino et al. (2012), observaram que os principais fatores na produção de DON em grão de trigo seguem a seguinte ordem: suscetibilidade da cultivar \geq cultura antecessora \geq sistema de plantio \geq aplicação de fungicida no período de antese do trigo. De acordo com os autores, o uso de cultura hospedeira como antecessora de cultivo, especialmente milho e sorgo, que elevam a quantidade de inóculo a campo, e a utilização de cultivares suscetíveis, contribuem para a máxima contaminação da cultura de trigo por *Fusarium*.

Na Tabela 2, observa-se que as respostas obtidas com a inoculação de *Azospirillum brasilense* apresentam diferença entre os anos avaliados (2010 e 2011). Em 2010 observou-se diferença na contaminação por desoxinivalenol, enquanto que, em 2011 a diferença foi no teor de umidade, cinza e amido do grão ($p < 0,05$; Tabela 5).

Em 2010, a inoculação com *A. brasilense* refletiu em aumento da contaminação do grão por desoxinivalenol (+27,2%) ($p < 0,05$). Em 2011, outros efeitos foram observados como, incremento no teor de umidade (+2,3%) e amido (+2,1%), e redução no teor de cinza (-3,9%), com a inoculação ($p < 0,05$; Tabela 5). Não foi observada diferença na produtividade nos anos de 2010 e 2011, com a inoculação de *A. brasilense* ($p > 0,05$) (André Mateus Prando, dados não publicados).

Na Tabela 6 são apresentados os resultados significativos da interação entre inoculação com *A. brasilense* e dose de nitrogênio, em 2010 e 2011 ($p < 0,05$). O controle (0 kg.ha⁻¹ de nitrogênio) apresentou maior teor de umidade (+1,80%) quando utilizado sementes inoculadas com *A. brasilense* (2010). No ano de 2011, quanto aplicado dose elevada de nitrogênio (120 kg.ha⁻¹), os grãos apresentaram menor teor de cinza (-10,9%) e maior atividade de água (+5,3%), com a inoculação das sementes.

Didonet et al. (2000), estudando efeito da inoculação de sementes de trigo com *A. brasilense*, em diferentes níveis de N e fases de desenvolvimento da planta, não observaram efeito da inoculação na produtividade e total de nitrogênio

acumulado no grão. Por outro lado, estudos mostraram que a inoculação com *A. brasilense* resulta em aumento de N na espigeta e maior crescimento da raiz, em relação à parte aérea, proporcionando um aumento da produtividade, especialmente na presença de fertilizantes nitrogenados (SALA et al., 2007).

Piccinin et al. (2013), utilizando mesma concentração de inóculo (10^8 UFC.mL⁻¹) e cepas (Ab-V5 e Ab-V6), nos anos de 2010 e 2011 na região de Maringá-PR, constataram que *A. brasilense* é uma alternativa capaz de suprir parcialmente a demanda da planta por nitrogênio, com suplementação por fertilizante nitrogenado. Os autores observaram que a aplicação de metade da dose recomendada de nitrogênio associado com o inoculante, proveem resultados positivos no desempenho agrônomo e produtividade de trigo. A inoculação de plantas de trigo não substitui o adubo nitrogenado, porém, promove a melhor absorção e utilização do nitrogênio disponível pelo aumento do crescimento radicular (SAUBIDET; FATTA; BARNEIX, 2002).

Pinheiro et al. (2002), observando a influência de fatores na adsorção de 10 diferentes cepas de *Azospirillum*, isolados a partir das raízes ou rizosfera do trigo, observaram que, com uma exceção (*A. brasilense*-SpBr14), a ótima adsorção das bactérias nas raízes é em pH a 6,0. Assim, a elevada acidez do solo (pH 4,9) na área experimental pode ter reduzido a adsorção da bactéria e disponibilidade de molibdênio, constituinte da nitrogenase, responsável pela fixação biológica de nitrogênio no solo (MENGEL; KIRKBY, 2001).

Conforme apresentado na Tabela 2, a adubação nitrogenada em cobertura influenciou a composição química do grão em 2010 e 2011 ($p < 0,05$). Entretanto, observou-se diferença nas respostas e intensidade das mesmas entre os anos avaliados.

No ano de 2010, o incremento na dose de nitrogênio resultou em respostas menores do que as observadas em 2011, a exemplo do aumento no teor de proteína no grão em 2011 (16,5 g/100g; 120 kg.ha⁻¹), maior do que o observado em 2010 (16,0 g/100g; 120 kg.ha⁻¹), conforme apresentado na Tabela 7. O teor de amido e carboidrato total no grão, também apresentaram maior redução em 2011 do que no ano anterior, com o incremento na dose (0 – 120 kg.ha⁻¹) ($p < 0,05$). Apesar da diferença entre as médias em 2010 ($p < 0,05$), com menor contaminação por desoxinivalenol no controle (0 kg.ha⁻¹), não foi observado efeito de dose na contaminação do grão (0,078; $p > 0,05$) (Tabela 2 e 7).

No ano de 2011, a utilização de elevada dose de nitrogênio (120 kg.ha⁻¹) resultou em aumento no teor de umidade (+2,82%), atividade de água (+5,36%) e proteína (+30,33%), e diminuição no teor de lipídeo (-11,02%), cinza (-9,81%) e carboidrato total (-5,46%), em comparação com o controle (p<0,05; Tabela 7).

Na Tabela 8 são apresentados os dados de correlação (*Pearson*) entre dose de nitrogênio (dose), atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol de trigo. A dose de nitrogênio apresentou correlação positiva significativa (p<0,05) com atividade de água (r=0,26) e umidade (r=0,33), e negativa com cinza (r=-0,49) e lipídeo (r=-0,31). Observou-se também elevada correlação positiva significativa (p<0,05) entre dose e teor de proteína (r=0,78), e negativa com carboidrato total (r=-0,74). A contaminação do trigo por desoxinivalenol apresentou correlação significativa (p<0,05) com o teor de umidade no grão (r=0,31).

O teor de proteína no grão apresentou aumento linear ou quadrático, dependendo da cultura antecessora (milho ou soja) e ano de cultivo, em função do incremento de doses de N em cobertura (Figura 2).

O trigo, entre outras gramíneas, demanda grande quantidade de nitrogênio. Segundo as indicações técnicas no Estado do Paraná, recomenda-se de 30 a 60 kg.ha⁻¹ e 30 a 90 kg.ha⁻¹ de nitrogênio em adubação de cobertura para trigo pós- soja ou milho, respectivamente (CAMPOS; SCHOLZ; DA SILVA, 2012).

O incremento da adubação nitrogenada prolonga o período de crescimento vegetativo da planta, devido a atraso na senescência foliar, aumentando o ciclo da cultura e interferindo no rendimento e qualidade dos grãos (BUZETTI et al., 2006; WINGLER et al., 2006). A diferença no ponto de maturação de cada parcela, em função da dose utilizada (0-120 kg.ha⁻¹), é observada no aumento da umidade do grão com o incremento da adubação (Tabela 7). Observou-se correlação positiva entre o teor de umidade e atividade de água (0,71, p<0,05), corroborando com dados relacionando umidade e atividade de água em grão de trigo. Segundo autores, há forte relação entre as duas características ($R^2 = 0,9458$; $y = 0,0566x - 0,2016$), indicando que o aumento na concentração de um pode refletir no aumento do outro (DECAGON DEVICES, 2000).

Prando et al. (2012), avaliando efeito de fontes (ureia convencional, ureia com inibidor de urease e ureia de liberação lenta) e doses de nitrogênio (0-120

kg.ha⁻¹) em genótipos de trigo (BRS 208, BRS Pardela e IWT 04008), observaram que o teor de nitrogênio no grão não foi alterado significativamente pelas doses de N, contudo, o nitrogênio acumulado no grão aumentou linearmente com o incremento das doses de nitrogênio aplicadas em cobertura ($p < 0,01$; $R^2 = 0,8314$).

Kindred et al. (2008), avaliando resposta de cultivares de trigo a adubação nitrogenada (nitrato de amônio; 0-240 kg.ha⁻¹), observaram aumento de 28,35% e redução de 1,91% na concentração de proteína e amido respectivamente, sob dose elevada de nitrogênio (120 kg.ha⁻¹). Quando o dobro de dose foi utilizado (240 kg.ha⁻¹), a diferença foi superior, com aumento de 40,10% no teor de proteína e redução de 3,56% no amido, em comparação com o controle (0 kg.ha⁻¹).

O incremento na disponibilidade de nitrogênio diminuiu o teor de lipídeo e cinzas nos grãos, conforme apresentado na Tabela 7. Estudo avaliando a resposta de genótipos a doses de nitrogênio (ureia; 0-175 kg.ha⁻¹), observou aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de cinzas e não constou influência ($p > 0,05$) no teor de lipídeo no grão. Além disso, os autores observaram maiores níveis de umidade e proteína no grão quando cultivado em dose elevada de nitrogênio (175 kg.ha⁻¹) (SAMEEN; NIAZ; ANJUM, 2002).

Na Tabela 7, a diminuição no teor amido (2010) e carboidrato total (2010 e 2011) em resposta ao incremento da adubação nitrogenada ($p < 0,05$), está diretamente relacionada ao aumento no teor de proteína no grão, o qual apresentou forte correlação negativa significativa com o teor de carboidrato total ($r = -0,99$; $p < 0,05$). Estudos demonstraram que a deficiência de nitrogênio, geralmente resulta no acúmulo de carboidratos não estruturais (KOVAČEVIĆ et al., 2012). Segundo Wingler et al. (2006), a deficiência de nitrogênio pode levar ao acúmulo de açúcar, pela diminuição da utilização de esqueletos de carbono para síntese de aminoácidos e proteínas. Teores de açúcares e nitrogênio mostram mudanças distintas durante a senescência foliar, com açúcares se acumulando, enquanto aminoácidos entram em declínio (DIAZ et al., 2005).

O método utilizado na determinação de DON (ic-ELISA) apresentou limite de detecção (LD) de 14,1 ng.mL⁻¹ (113,5 µg.kg⁻¹), semelhante ao obtido por dos Santos et al. (2011b) (LD=22,15 ng.mL⁻¹; 177,2 µg.kg⁻¹), e limite de quantificação (LQ) de 445,38 µg.kg⁻¹, considerando-se como não detectado (ND) todo valor abaixo do LQ. A Figura 3 apresenta a curva padrão do ic-ELISA (15,625-1000 ng.mL⁻¹) com o LD, LQ e equação do método.

A Tabela 9 apresenta os resultados de recuperação de DON em grãos de trigo (30 *mesh*) por ic-ELISA. Segundo a Comunidade Europeia (2006b), recomenda-se a utilização de métodos que apresentem recuperação entre 60 e 120%, e desvio padrão relativo (DPR) menor que 20%. O método ic-ELISA apresentou recuperação média de 103%, DPR de 21,7% na recuperação de 350 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DON, e DPR de 2,5 e 14,3% na recuperação de 1250 e 1750 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente.

Dos Santos et al. (2011b) observou elevada correlação ($r=0.93$) entre os métodos de ic-ELISA e LC-MS (Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa), através da análise de amostras positivas de trigo para DON. Entretanto, os autores observaram relação ic-ELISA/LC-MS de 1,4, i.e, as resposta obtida por ic-ELISA são 1,4 vezes maior do que por LC-MS, podendo haver superestimação da contaminação quando a análise e DON for realizada por ic-ELISA.

Apesar de chuvas constantes e temperatura favorável para o crescimento de *Fusarium graminearum* em 2011, níveis superiores de contaminação por DON foram observados em 2010 (Figura 4). A contaminação em 2010 variou entre 247,6 (<LQ) e 2355,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, sendo que 95% das amostras (152/160) apresentaram contaminação abaixo do limite máximo tolerado (2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; trigo integral), estabelecido pela Resolução - RDC n° 7 de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011). Em 2011, a contaminação das amostras variou entre ND (<LD) e 1474,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, com 100% das amostras (160/160) com nível de contaminação abaixo do limite máximo tolerado (2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; trigo integral).

Os níveis de contaminação por DON observados em Londrina (2010 e 2011) foram superiores ao relatado por Santos et al. (2011a). Os autores, avaliando amostras de trigo da região Norte do Paraná (Londrina e Sertãoópolis) observaram contaminação por DON variando entre 112,76 e 609,62 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, a partir da análise de 15 amostras de trigo em grão. A comparação entre os resultados é difícil devido diferença na metodologia utilizada na quantificação do DON (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; LQ 87,75 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) e ao pouco número de amostras analisadas.

Devido a baixa precipitação pluvial em 2010 (95,9 mm), os restos culturais possivelmente tiveram uma menor degradação, e o inóculo (*F. graminearum*) permaneceu viável por mais tempo no solo (DUONG, 2009). O maior déficit hídrico observado em 2010 contribuiu para a debilidade da planta, reduzindo a

resistência contra doenças (Figura 1).

A utilização de sementes não tratadas com fungicida em 2010 propiciou o aparecimento de doença. Embora não recomendado para o controle de *F. Graminearum*, García-Júnior, Vechiato e Menten (2008), avaliando o efeito do tratamento químico de sementes de trigo na incidência do fungo, observaram que o tratamento de semente com triadimenol ($0,135 \text{ mL.kg}^{-1}$), concentração menor do que a utilizada no presente estudo (3 mL.kg^{-1}), reduziu em 62% a incidência do patógeno em relação a testemunha ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO

A sucessão de cultura seja com milho ou soja, não alterou o teor de lipídio e contaminação por DON.

Dose elevada de nitrogênio resultou em aumento no teor de proteína e redução no teor de carboidrato total.

Devido a adversidades climáticas durante o desenvolvimento da cultura (déficit hídrico em 2010), novos estudos são necessários para avaliar o efeito de inoculação com *A. brasilense* na composição química, contaminação por desoxinivalenol.

Tabela 1 - Análise química do solo da área experimental: Pré-implantação do experimento com trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), Londrina-PR (2010).

Profundidade (m)	pH	C (g.dm ⁻³)	P (mg.dm ⁻³)	Ca+ Mg			K	H+Al	CTC	V %	Argila %
				(cmolc.dm ⁻³)							
0,00-0,20	4,87	15,33	8,41	6,05	0,69	4,95	11,69	65	75		

*pH = Potencial hidrogeniônico (CaCl₂); C = Carbono; P = Fósforo (Extrator Mehlich); Ca+Mg = Cálcio+Magnésio; K = Potássio; H+Al= Hidrogênio+Alumínio; CTC = Capacidade de troca catiônica; V = Saturação por bases; Dados fornecidos por Embrapa-CNPSO, Londrina-PR.

Tabela 2 - Análise de variância (Prob.>F) – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.

Variáveis	GL	a _w	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Amido	Carboidrato Total	DON
Bloco	6	0,636	0,521	0,019	0,144	0,064	0,044	0,031	0,515
Resíduo (R)	1	0,008	0,326	0,016	0,651	0,013	0,081	0,012	0,400
Inoculação (I)	1	0,486	0,785	0,740	0,525	0,534	0,176	0,808	0,037
R x I	1	0,602	0,169	0,139	0,499	0,698	0,315	0,084	0,422
CV1 (%)		5,37	3,82	3,59	2,72	8,48	5,54	1,16	40,27
Dose N (D)	4	0,086	0,000	1,000	0,405	0,414	0,001	0,000	0,078
D x R	4	0,018	0,000	0,022	0,002	0,573	0,525	0,414	0,000
D x I	4	0,799	1,000	0,424	0,165	0,464	0,786	0,038	0,522
D x I x R	4	0,037	0,293	0,587	0,015	0,110	0,975	0,352	0,146
CV2 (%)		2,80	1,63	2,88	1,81	5,15	3,83	0,80	39,49
2011									
Bloco	6	0,969	0,714	0,644	0,219	0,188	0,127	0,329	0,767
Resíduo (R)	1	0,000	0,004	0,000	0,186	0,000	0,000	0,000	0,660
Inoculação (I)	1	0,806	0,016	0,083	0,268	0,003	0,010	0,506	0,265
R x I	1	0,132	0,379	0,377	0,018	0,669	0,054	0,145	0,364
CV1 (%)		4,26	3,12	4,16	2,31	4,00	2,46	0,92	41,70
Dose N (D)	4	0,003	0,003	0,000	0,039	0,000	0,180	0,000	0,871
D x R	4	0,361	0,000	0,000	0,058	0,000	0,015	0,000	0,465
D x I	4	0,001	0,051	0,244	0,328	0,000	0,088	0,820	0,615
D x I x R	4	0,000	0,215	0,153	0,435	0,000	0,452	0,991	0,511
CV2 (%)		2,40	2,06	3,21	2,57	3,68	3,32	0,83	47,35

*GL = Graus de liberdade; CV1 e CV2 = Coeficiente de variação;
a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;
Nível de significância (p<0,05), representado em negrito.

Tabela 3 – Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), Londrina-PR.

Resíduo	a_w	Composição química (g/100g)						DON ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
		Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Amido	Carboidrato Total	
2010								
Milho	0,60±0,00^a	11,63±0,10 ^a	15,90±0,26^a	2,38±0,02 ^a	1,66±0,04^a	61,63±1,13 ^a	68,43±0,29^b	994,51±182,03 ^a
Soja	0,57±0,01^b	11,53±0,10 ^a	15,48±0,20^b	2,38±0,02 ^a	1,55±0,03^b	63,25 ±1,00 ^a	69,06±0,25^a	1079,16±128,02 ^a
2011								
Milho	0,55±0,00^b	11,35±0,11^b	14,15±0,64^b	2,21±0,02 ^a	1,59±0,05^a	65,05±0,80^a	70,70±0,68^a	665,22±78,81 ^a
Soja	0,60±0,01^a	11,71±0,11^a	15,66±0,31^a	2,22±0,02 ^a	1,45±0,02^b	61,54±0,75^b	68,95±0,33^b	637,10±103,58 ^a

*Média ± desvio padrão em base seca;

a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;

Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (milho e soja) ($p < 0,05$), representado em negrito.

Tabela 4 - Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a interação sucessão de cultura x dose de nitrogênio, Londrina-PR.

Dose N	a_w	Composição química (g/100g)						DON ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)		
		Umidade		Proteína		Lipídeo		Milho	Soja	
2010										
(kg ha ⁻¹)	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja
0	0,61±0,01 ^{aA}	0,58±0,03 ^{bA}	11,91±0,29^{aA}	11,64±0,21^{bAB}	15,29±0,52^{aB}	14,95±0,68^{aB}	2,38±0,04 ^{aA}	2,37±0,06^{aAB}	765,13±328,87^{aB}	914,50±436,47 ^{aA}
30	0,61±0,01 ^{aA}	0,56±0,01 ^{bA}	11,77±0,16^{aAB}	11,34±0,13^{bC}	15,26±0,49^{aB}	15,43±0,46^{aAB}	2,37±0,07 ^{aA}	2,37±0,05^{aAB}	1140,96±544,65^{aAB}	980,45±295,53 ^{aA}
60	0,59±0,01 ^{aA}	0,57±0,02 ^{bA}	11,43±0,19^{aC}	11,50±0,23^{bABC}	16,00±0,65^{aA}	15,62±0,38^{aA}	2,36±0,02 ^{bA}	2,42±0,04^{aA}	1582,95±472,63^{aA}	926,86±166,34 ^{bA}
90	0,60±0,01 ^{aA}	0,56±0,01 ^{bA}	11,59±0,26^{aBC}	11,40±0,31^{bBC}	16,46±0,35^{aA}	15,84±0,44^{bA}	2,36±0,05 ^{bA}	2,42±0,05^{aA}	811,27±373,23^{bB}	1329,95±342,07 ^{aA}
120	0,59±0,02 ^{aA}	0,58±0,02 ^{aA}	11,48±0,28^{bC}	11,52±0,21^{aA}	16,47±0,61^{aA}	15,54±0,44^{bAB}	2,40±0,02 ^{aA}	2,34±0,03^{bB}	672,25±220,21^{bB}	1244,03±285,51 ^{aA}
Composição química (g/100g)										
Dose N	Umidade		Proteína		Cinza		Amido		Carboidrato Total	
2011										
(kg ha ⁻¹)	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja	Milho	Soja
0	11,14±0,19^{bC}	11,51±0,30^{aB}	11,13±0,31^{bE}	14,19±0,53^{aC}	1,80±0,06^{aA}	1,46±0,03 ^{bA}	64,26±1,48 ^{aA}	63,99±1,17^{aA}	73,71±0,43^{aA}	70,56±0,68^{bA}
30	11,13±0,18^{bC}	11,87±0,21^{aA}	12,97±0,31^{bD}	15,38±0,53^{aB}	1,62±0,06^{aB}	1,46±0,07 ^{bA}	65,72±0,97 ^{aA}	60,50±1,94^{bB}	72,07±0,38^{aB}	69,04±0,46^{bB}
60	11,28±0,24^{bBC}	11,87±0,35^{aA}	14,44±0,44^{bC}	16,01±0,51^{aAB}	1,50±0,08^{aC}	1,49±0,06 ^{aA}	65,96±2,66 ^{aA}	61,21±1,06^{bAB}	70,59±0,55^{aC}	68,40±0,60^{bBC}
90	11,64±0,20^{aA}	11,56±0,23^{aAB}	15,72±0,62^{bB}	16,23±0,32^{aA}	1,48±0,08^{aC}	1,44±0,04 ^{aA}	65,03±2,19 ^{aA}	61,68±1,34^{bAB}	68,56±0,73^{aD}	68,93±0,38^{aBC}
120	11,58±0,27^{aAB}	11,73±0,30^{aAB}	16,50±0,41^{aA}	16,50±0,36^{aA}	1,52±0,14^{aC}	1,42±0,07 ^{aA}	64,28±2,67 ^{aA}	60,31±2,56^{bB}	68,19±0,44^{aD}	68,19±0,40^{aC}

*Média ± desvio padrão em base seca;

a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes indica diferença entre colunas (milho e a soja) ($p < 0,05$);

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indica diferença entre linhas (dose de N) ($p < 0,05$), representado em negrito.

Tabela 5 - Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense*, Londrina-PR.

<i>Azospirillum brasilense</i>	a_w	Composição química (g/100g)						DON ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
		Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Amido	Carboidrato Total	
2010								
Inoculada	0,58±0,01 ^a	11,57±0,11 ^a	15,71±0,28 ^a	2,38±0,02 ^a	1,62±0,04 ^a	61,84±1,03 ^a	68,72±0,33 ^a	1161,08±148,35^a
Controle	0,59±0,01 ^a	11,60±0,10 ^a	15,66±0,19 ^a	2,37±0,02 ^a	1,59±0,04 ^a	63,03±1,13 ^a	68,77±0,24 ^a	912,59±157,01^b
2011								
Inoculada	0,58±0,01 ^a	11,66±0,11^a	14,76±0,52 ^a	2,21±0,02 ^a	1,49±0,05^b	63,95±1,04^a	69,87±0,56 ^a	688,51±103,67 ^a
Controle	0,57±0,01 ^a	11,40±0,12^b	15,05±0,60 ^a	2,22±0,02 ^a	1,55±0,03^a	62,64±0,82^b	69,77±0,65 ^a	613,80±77,08 ^a

*Média ± desvio padrão em base seca;

a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;

Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (inoculada e controle) ($p < 0,05$), representado em negrito.

Tabela 6 – Atividade de água e composição química em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a interação *Azospirillum brasilense* x dose de nitrogênio, Londrina-PR.

Dose N (kg ha ⁻¹)	Composição química (g/100g)						a _w	
	Umidade		Carboidrato Total		Cinza		2011	
	2010		2010		2011		Inoculada	Controle
0	11,88±0,32^{aA}	11,67±0,17 ^{ba}	68,94±0,98 ^{aA}	69,31±0,62^{aA}	1,65±0,18^{aA}	1,62±0,12^{aA}	0,56±0,01^{aB}	0,57±0,03 ^{aA}
30	11,63±0,25^{aAB}	11,48±0,21 ^{ba}	68,90±0,75 ^{aA}	69,36±0,44^{aA}	1,53±0,13^{aB}	1,55±0,05^{aAB}	0,57±0,03^{aB}	0,58±0,02 ^{aA}
60	11,47±0,20^{aBC}	11,46±0,24 ^{aA}	68,56±0,91 ^{aA}	68,87±0,25^{aAB}	1,45±0,06^{bc}	1,54±0,06^{aAB}	0,57±0,01^{aB}	0,58±0,04 ^{aA}
90	11,31±0,23^{bc}	11,68±0,28 ^{aA}	68,61±0,91 ^{aA}	68,13±0,38^{aB}	1,41±0,03^{bc}	1,50±0,06^{aB}	0,58±0,02^{aB}	0,57±0,01 ^{aA}
120	11,54±0,21^{aBC}	11,68±0,32 ^{aA}	68,58±0,94 ^{aA}	68,16±0,53^{aB}	1,39±0,04^{bc}	1,56±0,12^{aAB}	0,60±0,02^{aA}	0,57±0,03 ^{ba}

*Média ± desvio padrão em base seca;

a_w = Atividade de água; Médias seguidas por letra minúscula diferentes indica diferença entre colunas (milho e a soja) (p<0,05);

Médias seguidas por letra maiúscula diferentes indica diferença entre linhas (dose de N) (p<0,05), representado em negrito.

Tabela 7 - Atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a dose de nitrogênio em cobertura, Londrina-PR.

Nitrogênio (kg.ha ⁻¹)	a _w	Composição química (g/100g)						DON (µg.kg ⁻¹)
		Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza	Amido	Carboidrato Total	
2010								
Controle	0,60±0,01 ^a	11,78±0,17^a	15,12±0,38^b	2,38±0,03 ^a	1,59±0,07 ^a	64,24±1,24^a	69,13±0,51^a	839,82±241,48^b
30	0,59±0,01 ^a	11,55±0,15^b	15,35±0,30^b	2,37±0,04 ^a	1,59±0,05 ^a	63,00±1,72^{ab}	69,13±0,40^a	1060,71±273,40^{ab}
60	0,58±0,00 ^a	11,46±0,13^b	15,81±0,34^a	2,39±0,03 ^a	1,62±0,06 ^a	62,66±1,62^{abc}	68,72±0,42^{ab}	1254,91±283,17^a
90	0,58±0,01 ^a	11,49±0,19^b	16,15±0,30^a	2,39±0,03 ^a	1,59±0,08 ^a	60,50±2,15^c	68,37±0,45^b	1070,61±262,61^{ab}
120	0,59±0,01 ^a	11,61±0,17^{ab}	16,01±0,41^a	2,37±0,02 ^a	1,64±0,07 ^a	61,79±1,83^{bc}	68,37±0,49^b	958,14±222,27^{ab}
2011								
Controle	0,56±0,01^b	11,33±0,19^b	12,66±0,88^e	2,45±0,04^a	1,63±0,10^a	64,12±0,83 ^a	72,13±0,93^a	580,9±111,03 ^a
30	0,57±0,01^{ab}	11,50±0,23^{ab}	14,18±0,71^d	2,23±0,02^{ab}	1,54±0,06^b	63,11±1,72 ^a	70,55±0,87^b	639,65±151,60 ^a
60	0,57±0,01^{ab}	11,58±0,25^a	15,22±0,52^c	2,21±0,02^{ab}	1,50±0,04^{bc}	63,59±1,80 ^a	69,49±0,70^c	679,63±185,50 ^a
90	0,57±0,01^{ab}	11,60±0,13^a	15,98±0,33^b	2,21±0,04^{ab}	1,46±0,04^c	63,35±1,45 ^a	68,75±0,37^d	680,54±173,05 ^a
120	0,59±0,01^a	11,65±0,18^a	16,50±0,24^a	2,18±0,04^b	1,47±0,07^c	62,30±1,95 ^a	68,19±0,26^d	675,06±143,83 ^a

*Média ± desvio padrão em base seca;

a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;

Médias seguidas por letra diferentes indica diferença entre linhas (dose de N) (p<0,05).

Tabela 8 – Correlação (*Pearson*) entre dose de nitrogênio, atividade de água, composição química e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), Londrina-PR (2010 e 2011).

Variáveis	Dose	a_w	Umidade	Proteína	Cinza	Lipídeo	Amido	Carboidrato Total	Desoxinivalenol
Dose	-	0,26	0,33	0,78	-0,49	-0,31	-0,17	-0,74	0,14
a_w		-	0,71	0,55	-0,54	-0,07	-0,56	-0,61	0,09
Umidade			-	0,54	-0,58	0,04	-0,35	-0,66	0,31
Proteína				-	-0,68	-0,07	-0,42	-0,99	0,23
Cinza					-	0,01	0,18	0,68	-0,30
Lipídeo						-	-0,02	0,02	0,30
Amido							-	0,45	0,01
Carboidrato Total								-	-0,26

* Nível de significância representado em negrito ($p < 0,05$);

a_w = Atividade de água.

Tabela 9 - Recuperação de desoxinivalenol (DON) em trigo por ic-ELISA.

Método	DON ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		Recuperação (%)	DPR (%)	Média Recuperação (%)
	Adicionado	Recuperação			
ic-ELISA	350	355,2 \pm 88,8	101,5	21,7	103,3 \pm 1,8
	1250	1305,1 \pm 37,5	104,4	2,5	
	1750	1822,7 \pm 299,4	104,1	14,3	

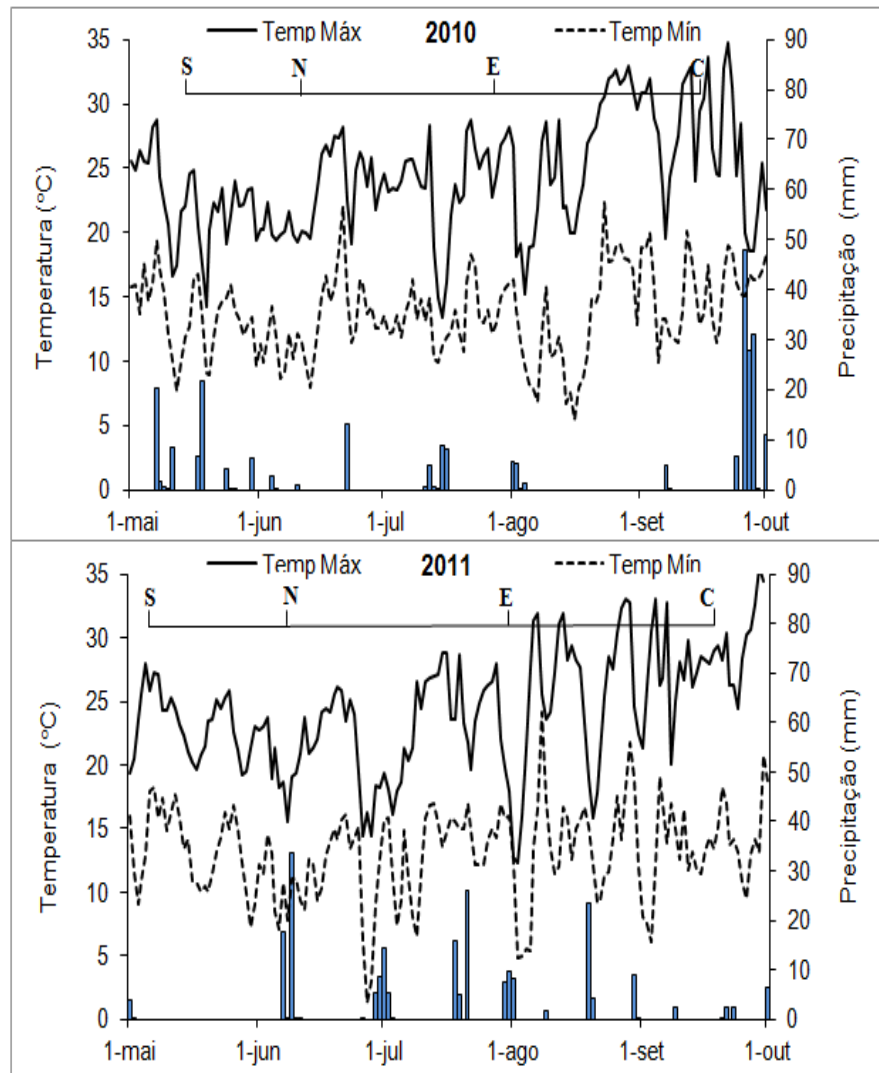
*Os dados apresentados são a média de seis determinações (contaminação artificial em duplicata, análise em triplicata);

Os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão (DP);

Para o calculo foi subtraído o valor do branco (sem adição de DON, 0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$);

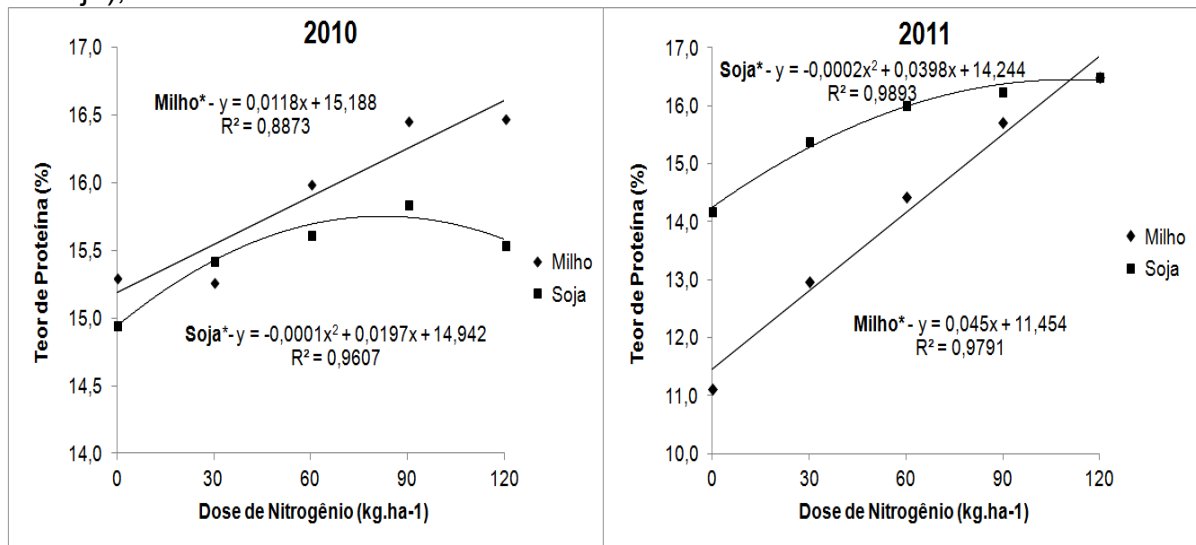
DPR = Desvio Padrão Relativo.

Figura 1 – Dados climáticos (temperatura e precipitação pluvial), Londrina-PR (2010 e 2011).



*S: Semeadura, N: Adubação nitrogenada de cobertura, E: Espigamento, C: Colheita;
Fonte: Embrapa-CNPSO (Londrina-PR).

Figura 2 - Teor de proteína no grão de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a nitrogênio em cobertura (dose) e sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), Londrina-PR.



*($p < 0,05$)

Figura 3 - Curvas padrão para detecção de DON por ic-ELISA.

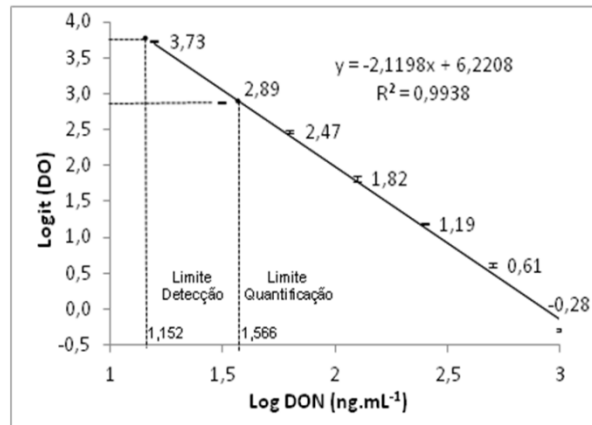
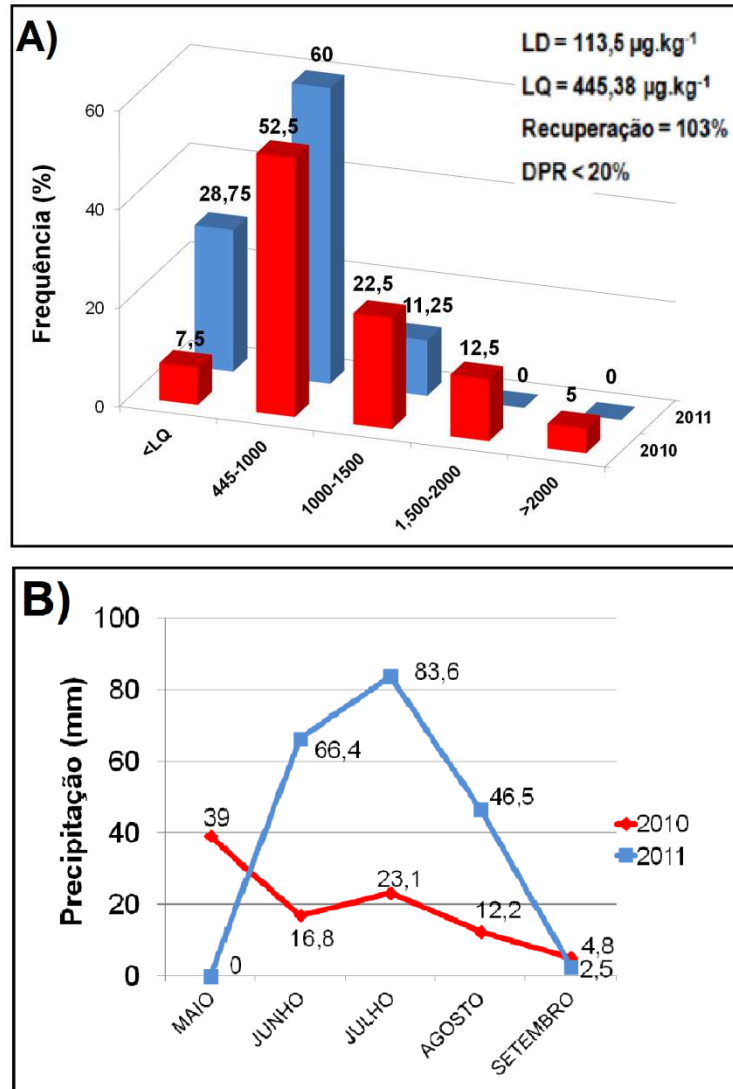


Figura 4 – Região Norte do Estado do Paraná (Londrina, 2010 e 2011): A) Distribuição dos níveis de DON em amostras (n=160) de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220); B) Precipitação pluviométrica mensal acumulada (14/05 a 15/09/2010 e 04/05 a 19/09/2011).



CAPÍTULO II

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGO CULTIVADO APÓS DIFERENTES CULTURAS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

MATERIAL E MÉTODOS

As análises de qualidade tecnológica do trigo foram realizadas pelo Laboratório de Qualidade de Grãos localizado na Embrapa-CNPT (Passo Fundo-RS) e pela empresa Granotec/Granolab do Brasil (Curitiba-PR) (item 4.1.1).

Caracterização da Área Experimental

Cultivado em dois anos agrícolas (2010 e 2011), o experimento a campo foi executado na área experimental da Embrapa-CNPSO, localizada no Distrito de Warta, pertencente ao município de Londrina-PR (item 4.1.2).

Matéria-Prima e Insumos

O cultivar BRS 220 foi utilizado no experimento por ser indicado para a região e ter apresentado resultados satisfatórios em experimentos conduzidos em estações experimentais (BASSOI et al., 2012) (item 4.1.3).

Delineamento e Procedimento Operacional

O delineamento experimental foi de blocos casualizados em parcelas subdividas, com quatro repetições, sendo o fator inoculação de semente alocado na parcela e doses de nitrogênio, aplicado em cobertura, na subparcela (item 4.1.4). O grão colhido e limpo foi enviado à Embrapa-CNPT e Granotec (800 g cada amostra) para análise. Devido à insuficiência de quantidade individual (160 amostras) e custo elevado das análises, optou-se pela redução do número total para 80 amostras (duas repetições cada), juntando-se a repetição 1+2 e repetição 3+4. (item 4.1.5).

Análises de Qualidade Tecnológica da Farinha

Método Primário (Embrapa-CNPT):

- Peso hectolítrico (PH) - Determinado segundo método descrito por Brasil (2009), pela pesagem em balança eletrônica de uma amostra de grãos com volume conhecido (item 4.2.3.1);
- Dureza do grão (SKCS) – O índice de dureza (ID) e diâmetro (DG) do grão foram determinados segundo método 55-31 (AACC, 2000), usando equipamento SKCS (item 4.2.3.2);
- Moagem experimental - Procedeu-se a moagem dos grãos em moinho de rolos segundo método n° 26-10A (AACC, 2000) (item 4.2.3.3);
- Número de queda - Realizado segundo método 56-81B (AACC, 2000) e manual de operação do equipamento (item 4.2.3.5);
- Alveografia – Realizada em alveógrafo conforme método 54-30 (AACC, 2000): W (força de glúten), P (tenacidade), L (extensibilidade), P/L (relação tenacidade e extensibilidade), G (índice de intumescimento), P/G (relação tenacidade e índice de intumescimento) e IE (índice de elasticidade) (item 4.2.3.4);
- Análise de cor - Determinada no sistema CIELAB, através dos parâmetros: L* (luminosidade), a* (croma; eixo verde-vermelho) b* (croma; eixo azul-amarelo), C* (intensidade ou saturação da cor) e o ângulo h° (tonalidade) (item 4.2.3.6);

Método Secundário:

- NIR (FOSS NIRSystems®); Embrapa-CNPT – Os grãos foram analisados por espectroscopia de infravermelho próximo: Peso hectolítrico, extração experimental de farinha, número de queda, alveografia (W, P, L, P/L, G, P/G e le) e cor (L*, a*, b*, C*, h°) (item 4.2.3.7);
- NIR (Perten Instrument®); Granotec: – Os grãos foram analisados por espectroscopia de infravermelho próximo e comparados com os dados apresentados no Capítulo I: Umidade, proteína e amido (item 4.2.3.7).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 é apresentada a análise de variância das características avaliadas em resposta a sucessão de cultura, inoculação com *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio em cobertura (2010 e 2011). A partir do nível de significância das variáveis, observa-se que as respostas obtidas diferiram entre os anos avaliados. A interação tripla (sucessão de cultura x inoculação x dose) não foi calculada em 2010, devido insuficiência de graus de liberdade em decorrência da perda de parcela (4 amostras).

Na Tabela 2 são apresentadas as respostas dos indicadores de qualidade tecnológica do trigo, em resposta a sucessão de cultura (soja ou milho), inoculação com *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio (2010 e 2011).

Em 2010, obteve-se maior peso hectolítrico do trigo (+0,6%) no cultivo pós-soja ($p < 0,05$), mas as médias em ambos os tratamentos (milho ou soja) foram acima de 78 kg.hL^{-1} , enquadrando o grão como Tipo 1, pertencente ao trigo do Grupo II, destinado à moagem e a outras finalidades (Brasil, 2010) (Tabela 2). A média mais baixa do PH observado em 2010 ($78,63 \text{ kg.hL}^{-1}$) em comparação com 2011 ($81,58 \text{ kg.hL}^{-1}$), está possivelmente relacionada a baixa precipitação acumulada e às temperaturas mais elevadas observadas (Capítulo I-Tabela 3), interferindo na produção e distribuição de fotoassimilados (CAZETTA et al., 2008).

Na Tabela 2, apesar da diferença observada no índice de dureza do grão no cultivo pós-soja (87,53) ou pós-milho (89,29) em 2010 ($p < 0,05$), a classificação do grão não foi alterada (muito duro, índice entre 81 e 90) (AACC, 2000). O trigo no cultivo pós-soja em 2010 apresentou grão com diâmetro 2,41% (0,06 mm) maior do que no pós-milho ($p < 0,05$), entretanto, essa diferença no tamanho do grão não foi suficiente para influenciar o rendimento de farinha em 2010 ($p > 0,05$). Em 2011, o maior rendimento de farinha foi obtido com o trigo cultivado pós-soja (+2,21%; $p < 0,05$) (Tabela 2). O tamanho do grão determina o ajuste da máquina de limpeza, taxa de absorção de água, extração de farinha e na decisão relativa às ondulações do rolo de moagem. Em geral, a remoção de farelo é mais eficiente em grão de maior dimensão, quando todos os parâmetros técnicos do processo estão ajustados de acordo (WIERSMA et al., 2001; POSNER, 2009).

O número de queda em 2011 foi 5,7% maior no cultivo pós-milho (439,5s), em comparação ao cultivo pós-soja (415,6s) ($p < 0,05$; Tabela 2). A de

farinha de trigo com número de queda superior a 400s apresentam baixa atividade amilolítica, necessitando correção dos teores desta enzima antes da utilização da farinha na panificação (RASPER; WALKER, 2000).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* influenciou o peso hectolítrico dos grãos de trigo, entretanto, as respostas diferiram entre os anos avaliados (2010 e 2011). O peso hectolítrico em 2010 foi 0,3% maior no controle (sem inoculação), enquanto que em 2011, esse resultado foi obtido com semente inoculada (+0,6%) ($p < 0,05$). Em 2010 o índice de dureza (+1,0%; $p < 0,05$) e em 2011 o rendimento de farinha (+1,0%; $p < 0,05$), foram maiores quando utilizado sementes inoculadas (Tabela 2).

Mendes et al. (2011), constataram que o peso hectolítrico de grão de trigo (cultivar Quartzo) foi influenciado positivamente pelo uso de *Azospirillum brasilense* ($0,7 \text{ mL.kg}^{-1}$ e 2 mL.kg^{-1} ; inóculo 2×10^8 células viáveis. mL^{-1} ; estirpe Ab-V5 e Ab-V6), independente da dose de nitrogênio utilizada (35 e 90 kg.ha^{-1}). No estudo, os tratamentos (com e sem redução da adubação nitrogenada e com e sem a utilização do inóculo) não reduziram o número de queda do cultivar, corroborando com o presente estudo onde também não se observou diferença com a utilização do *A. brasilense* ($p > 0,05$; Tabela 2).

O incremento da dose de nitrogênio (0 - 120 kg.ha^{-1}) influenciou a dureza do grão e rendimento de farinha em 2011 ($p < 0,05$). Dose elevada de nitrogênio (120 kg.ha^{-1}) proporcionou redução de 2,2% no índice de dureza do grão e aumento de 4,2% no rendimento de farinha, em comparação com o controle (0 kg.ha^{-1}), sendo observada correlação positiva e significativa entre as duas variáveis ($r = 0,40$; $p < 0,05$) (Tabela 2 e 5).

Propriedades físicas do endosperma, tais como dureza, estão intimamente relacionadas com o processo de moagem, afetando a presença de amido danificado, distribuição de sêmola e granulometria da farinha, além do rendimento de farinha (CAMPBELL, 2007).

Fana et al. (2012), avaliando o efeito de adubação nitrogenada (ureia, 0 - 90 kg.ha^{-1}) e fosfatada em características do grão de trigo, observaram que dose elevada de nitrogênio (46 , 69 e 92 kg.ha^{-1}) reflete em grãos com nível de dureza 9,4% maior, em comparação com o controle (0 kg.ha^{-1}). Além disso, a dureza do grão e a concentração de nitrogênio na farinha apresentaram forte correlação positiva ($r = 0,81$; $p < 0,001$).

Na Tabela 3 são apresentadas as características alveográficas observadas em resposta à sucessão de cultura (soja ou milho), inoculação com *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio em cobertura (2010 e 2011). Observou-se maior força de glúten ($p < 0,05$) no cultivo pós-milho em 2010 (+16,7%) e no pós-soja em 2011 (+24,6%). O índice de elasticidade apresentou comportamento parecido com a força de glúten, com valor 8,7% maior em 2010 no cultivo pós-milho e 12,4% maior em 2011 no cultivo pós-soja.

A variável sucessão de cultura também influenciou a tenacidade, com aumento de 18,1% no cultivo pós-milho (2010), e o índice de intumescimento, com aumento de 5,0% no cultivo pós-soja (2011) (Tabela 3). A diferença observada entre os anos (2010 e 2011) está diretamente relacionada ao teor de proteína no grão em 2010, maior no cultivo pós-milho (+2,7%), e em 2011, no cultivo pós-soja (+10,7%) (Capítulo I-Tabela 3).

A utilização de semente inoculada com *A. brasilense* teve pouco efeito sobre as características alveográficas analisadas. O índice de elasticidade apresentou efeito significativo em 2010, com redução de 2,3% na elasticidade da massa utilizando sementes inoculadas ($p < 0,05$) (Tabela 3).

A adubação nitrogenada (dose), conforme apresentado na Tabela 3, foi a variável mais influente nas características alveográficas, com respostas significativas para todas as análises, em um ou ambos os anos (2010 e 2011).

A força de glúten (W), extensibilidade (L) e tenacidade (P) foram influenciadas pelo manejo da adubação nitrogenada, com aumento de 15,6% e 37,2% para W e L respectivamente, e redução de 14,7% na tenacidade da massa (P), com o incremento na disponibilidade de nitrogênio em 2011 (0 - 120 kg.ha⁻¹) ($p < 0,05$; Tabela 3).

O aumento de L em relação a P resultou em diminuição de 39,5% na relação P/L, resultando em equilíbrio entre os componentes e melhoria da massa, dependendo da finalidade de uso da farinha. Proporcionalidade deve existir entre os valores de P e L para que, associado com o valor de W (força de glúten), possam expressar bom potencial de panificação, sendo que, relação P/L entre 0,50 e 1,20 é ideal para a fabricação de pães e $P/L > 1,21$ para massas alimentícias secas (MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009).

O índice de intumescimento (G) apresentou aumento de 17,4% em 2011 ($p < 0,05$), com o incremento da dose de nitrogênio (0-120 kg.ha⁻¹), com média

geral de 20,3 mm em 2010 (32 amostras) e 21,7 mm em 2011 (40 amostras). O índice de intumescimento está relacionado ao volume do pão, sendo que, valores entre 20 e 23 indicam grande capacidade de expansão da massa (MIRANDA et al., 2011). A redução de 27,6% observada na relação P/G, com o incremento na adubação, deve-se a redução de 14,7% observada no P e incremento de 17,4% observado no G em 2011 ($p < 0,05$).

O incremento da dose de nitrogênio ($0-120 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) proporcionou aumento de 15,2% no índice de elasticidade (Ie) em 2011 ($p < 0,05$), com média geral de 47,1% em 2010 (32 amostras) e 54,2% em 2011 (40 amostras). O índice observado está próximo do valor (52,3%) observado em ensaios conduzidos no Estado do Paraná utilizando o cultivar (BRS 220) (MIRANDA et al., 2011). O índice de elasticidade está relacionado com a qualidade da farinha, quanto mais próximo a 100% maior é a resistência elástica da massa, sendo que valor superior a 50-55% são ideais para panificação industrial (KITISSOU, 1995).

Entre as práticas culturais, a adubação nitrogenada é considerada o fator que mais afeta o teor de proteína, bem como a qualidade tecnológica do grão. A disponibilidade de nitrogênio para a planta, na forma de adubo mineral, fixação biológica e incorporação de restos culturais, afeta o acúmulo de proteína, obtendo-se grãos com melhor qualidade tecnológica (GARRIDO-LESTACHE; LÓPEZ-BELLIDO; LÓPEZ-BELLIDO, 2005).

Na Tabela 5 é apresentada a correlação (*Pearson*) entre dose de nitrogênio, qualidade tecnológica e composição química do grão (Capítulo I). A partir da análise dos dados, observou-se que o teor de proteína no grão apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) negativa com P ($r = -0,30$) e positiva com W ($r = 0,30$), L ($r = 0,39$), G ($r = 0,40$) e Ie ($r = 0,42$), e alta correlação positiva com as doses de nitrogênio ($r = 0,78$).

Fuertes-Mendizábal et al. (2010), avaliando o efeito do parcelamento da adubação nitrogenada (3 aplicações; nitrato de amônio; $0 - 180 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) no qualidade tecnológica e composição protéica de grãos de trigo, observaram correlação positiva e significativa entre L, W e P, com o teor de nitrogênio no grão ($r = 0,953$, $r = 0,952$ e $r = 0,900$, respectivamente; $p < 0,01$). Observaram também alta correlação positiva entre o teor de gliadina ($r = 0,931$) e glutenina ($r = 0,994$), formadoras do glúten, com o teor de nitrogênio no grão ($p < 0,01$). Confirmando que essas proteínas de reserva eram responsáveis pelo aumento da proteína total no

grão em resposta à adubação. Enquanto que as proteínas metabólicas (albuminas e globulinas) mantiveram-se constante, independentemente da dose aplicada ($p > 0,05$).

A gliadina e glutenina determinam as propriedades viscoelásticas da massa de pão, conferindo melhor absorção de água, assim como coesividade, viscosidade e elasticidade mediante formação de glúten (WIESER et al., 2008).

O trigo (BRS 220) apresentou média de número de queda em 2010 (662,13s; 32 amostras) e 2011 (427,6s; 40 amostras), acima do valor mínimo exigido para a classe melhorador (250s). Entretanto, a força de glúten em 2010 ($273,60 \times 10^{-4} \text{J}$) e 2011 ($312,22 \times 10^{-4} \text{J}$), foi fator limitante na classificação como melhorador, por apresentar valor abaixo do mínimo exigido para a classe ($300 \times 10^{-4} \text{J}$).

Segundo Miranda et al. (2011), a partir da análise de 208 amostras obtidas entre os anos de 2003 (ano de lançamento) a 2010, em ensaios conduzidos nas Regiões Homogêneas de Adaptação do Paraná (VCU - 1, 2 e 3), observaram que o cultivar BRS 220 apresentou número de queda médio de 359s e força de glúten de $263 \times 10^{-4} \text{J}$, caracterizando o cultivar como da classe Pão. Contudo, a partir de 01 de julho de 2012, entrou em vigor a Instrução Normativa n.º. 38, de 30 de novembro de 2010, estabelecendo que para a classificação do trigo (Melhorador, Pão, Doméstico, Básico e Outros Usos), além das análises de força de glúten e de número de queda, será também considerado a estabilidade farinográfica.

A Tabela 4 apresenta as respostas de cor da farinha de trigo, em resposta a sucessão de cultura (soja ou milho), inoculação com *Azospirillum brasilense* e dose de nitrogênio em cobertura (2010 e 2011).

A farinha de trigo obtida do cultivo pós-soja em 2010 apresentou aumento de 2,4% na coordenada b^* ($\Delta b^* = 0,27$; eixo azul-amarelo), 4,6% em C^* ($\Delta C^* = 0,51$; saturação) e 0,2% em h° ($\Delta h^\circ = 0,18$; tonalidade), indicando aumento da percepção do amarelo pela saturação da cor.

A inoculação com *A. brasilense* em 2010 apresentou redução de 9,52% na coordenada a^* ($\Delta a^* = 0,06$; eixo verde-vermelho), aumento de 4,5% na coordenada b^* ($\Delta b^* = 0,5$; eixo amarelo-azul), e consequente aumento de 2,3% na saturação de cor ($\Delta C^* = 0,26$), já que a saturação apresenta alta correlação negativa com a^* ($r = -0,92$) e positiva com b^* ($r = 1,00$) ($p < 0,05$).

O incremento da dose de nitrogênio ($0-120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) não influenciou a cor da farinha em 2010 ($p > 0,05$). Entretanto, no ano de 2011 observou-se efeito

significativo na luminosidade (L^*), coordenada a^* , coordenada b^* , saturação de cor (C^*) e tonalidade (h°) ($p < 0,05$). A luminosidade da farinha apresentou redução de -0,5% ($\Delta L^* = 0,48$), as coordenadas a^* e b^* apresentaram aumento de 6,3% ($\Delta a^* = 0,09$) e 6,4% ($\Delta b^* = 0,86$), e os valores de C^* e h° apresentaram aumento de 6,4% e redução de -0,7%, respectivamente, com o incremento da dose de nitrogênio (0-120 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

De acordo com Ortolan, Hecktheuer e Miranda (2010), em geral considera-se uma farinha branca aquela que possui valor de L^* superior a 93, de a^* próximo a zero (inferior a 0,5 ou negativo) e de b^* inferior a oito.

A cor da farinha em 2010 apresentou resultado médio de 93,47 de luminosidades (L^*), -0,67 de coordenada a^* e 11,3 de coordenada b^* , analisando 32 amostras. Em 2011, as médias observadas foram 93,7 de luminosidade (L^*), -1,4 de coordenada a^* e 13,7 de coordenada b^* , analisando 40 amostras. Os resultados são próximos aos obtidos em ensaios conduzidos por Miranda et al. (2011), entre 2003 a 2010, que observaram as seguintes características de cor de farinha (cultivar BRS 220): Luminosidade (92), coordenadas de a^* (-0,7) e b^* (13).

Conforme dados apresentados na Tabela 5, observa-se correlação significativa negativa entre índice de dureza do grão e luminosidade (L^*) ($r = -0,36$), e coordenada b^* ($r = -0,66$) da farinha, e positiva com a coordenada a^* ($r = 0,70$). A composição química do grão (Capítulo I) teve pouca influência sobre a cor da farinha, sendo observada apenas correlação negativa entre luminosidade (L^*) e o teor de proteína no grão ($r = -0,38$), e positiva com o teor de carboidrato total ($r = 0,36$) ($p < 0,05$).

Entre os fatores envolvidos na mudança de cor da farinha estão os pigmentos, teor de proteína, teor de mineral (cinza), granulometria da farinha e dureza do grão (DAVIES; BERZONSKY, 2003). Relação significativa ($p < 0,01$) entre a cor da farinha e teor de proteína foi retratado por Nagamine et al. (2003), que observaram correlação significativa entre o teor de proteína e a luminosidade (L^*) da farinha avaliando trigo duro ($r = -0,54$) e mole ($r = -0,54$).

Lang et al. (1998), encontraram que variedades de trigo que continham altos teores de proteínas apresentavam produtos finais com colorações tendendo ao escuro, ou seja, a cor da farinha e seus produtos foi afetada negativamente pelos elevados teores de proteínas.

A Tabela 6 apresenta a correlação (Pearson) entre os parâmetros de qualidade analisados por método primário, e a predição por método secundário. A partir dos dados, observou-se forte correlação ($p < 0,05$) entre os métodos para a análise de peso hectolítrico ($r=0,76$; $R^2=0,578$), diâmetro de grão ($r=0,90$; $R^2=0,821$), coordenada a^* ($r=0,91$; $R^2=0,838$) e b^* ($r=0,85$; $R^2=0,727$), ou seja, quatro análises de uma total de 15 apresentaram forte correlação entre os métodos. A baixa eficiência na predição da qualidade está possivelmente atrelada à calibração do equipamento (NIR-FOSS NIRSystems[®], Embrapa-CNPT), uma vez esta não foi realizada utilizando trigo em grão.

A composição química do grão (NIR-Perten Instrument[®]) apresentou forte correlação com o método primário, para determinação do teor de proteína ($r=0,96$; $R^2=0,914$). Entretanto, o equipamento não foi eficiente na predição do teor de umidade ($r=0,37$; $R^2=0,134$) e amido ($r=0,46$; $R^2=0,212$), o que se explica pela não calibração previa do equipamento utilizando material nacional (trigo brasileiro).

Dowell et al. (2006), avaliando o potencial de NIR na predição de qualidade de trigo, obtiveram consideráveis coeficientes de determinação (R^2) para análises como peso hectolítrico ($R^2=0,89$), diâmetro do grão ($R^2=0,70$), coordenada a^* ($R^2=0,70$) e b^* ($R^2=0,73$), utilizando NIR da marca FOSS[®] (MOD FOSS 6500). Utilizando o NIR Perten[®] (MOD DA-7200), mesmo modelo utilizado no presente estudo, os autores observaram elevado coeficiente de determinação para o teor de proteína ($R^2=0,98$) e umidade no grão ($R^2=0,94$). Segundo Williams (2001), coeficiente de determinação (R^2) entre 0,70 e 0,90 indica que o método é adequado como ferramenta de triagem, entre 0,90 e 0,97 é adequado para controle de qualidade e entre 0,97 e 0,99 é adequado para controle de processos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos de qualidade tecnológica de trigo estão diretamente relacionados à influência das variáveis (sucessão de cultura, inoculação com *A. brasilense* e dose de nitrogênio) na composição química do grão, principalmente teor de proteína.

NIR apresentou-se adequado como método rápido de triagem na recepção e linha de processamento, para análises como teor de proteína, diâmetro e cor do grão. Todavia requer calibração prévia com amostras de trabalho nacional.

Tabela 1 - Análise de variância (Prob.>F) - Qualidade tecnológica de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.

Variáveis	GL	PH	ID	DG	EXT	NQ	Alveografia						Cor					
							W	P	L	P/L	G	P/G	IE	L*	a*	b*	C*	h°
2010																		
Bloco	2	0,010	0,010	0,141	0,460	0,168	0,080	0,883	0,807	0,847	0,770	0,922	0,024	0,908	0,036	0,031	0,032	0,036
Resíduo (R)	1	0,014	0,005	0,030	0,093	0,094	0,004	0,028	0,144	0,110	0,153	0,069	0,001	0,634	0,099	0,008	0,008	0,643
Inoculação (I)	1	0,044	0,022	0,094	0,131	0,166	0,836	0,969	0,973	0,665	0,913	0,750	0,020	0,790	0,008	0,002	0,002	0,026
R x I	1	0,021	0,140	0,343	0,238	0,997	0,593	0,138	0,112	0,189	0,129	0,162	0,115	0,068	0,015	0,001	0,002	0,156
CV1 (%)		0,21	0,43	1,17	3,39	9,22	2,85	8,08	12,19	32,40	6,78	18,67	0,94	0,25	-2,63	0,59	0,60	0,09
Dose (D)	4	0,846	0,212	0,247	0,180	0,877	0,576	0,021	0,237	0,106	0,260	0,056	0,996	0,957	0,569	0,530	0,529	0,785
D x R	4	0,966	0,450	0,147	0,244	0,418	0,474	0,024	0,149	0,102	0,177	0,043	0,606	0,504	0,204	0,016	0,016	0,492
D x I	2	0,991	1,000	0,378	0,642	0,373	0,420	0,000	0,200	0,038	0,187	0,012	0,062	0,181	0,115	0,424	0,426	0,150
D x I x R	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CV2 (%)		1,36	1,72	1,31	3,35	7,97	7,90	4,28	10,63	19,61	5,70	10,38	4,52	0,25	-15,89	4,09	4,08	0,60
2011																		
Bloco	2	0,228	0,452	0,772	0,058	0,101	0,903	0,936	0,323	0,487	0,238	0,726	0,606	0,110	0,478	0,507	0,506	0,211
Resíduo (R)	1	0,375	0,422	0,094	0,007	0,018	0,046	0,222	0,079	0,481	0,047	0,681	0,014	0,107	0,906	0,327	0,331	0,175
Inoculação (I)	1	0,005	0,362	0,536	0,038	0,181	0,930	0,434	0,078	0,143	0,057	0,240	0,876	0,056	0,134	0,151	0,150	0,182
R x I	1	0,007	0,122	0,768	0,464	0,094	0,619	0,977	0,152	0,318	0,107	0,559	0,359	0,042	0,379	0,269	0,270	0,974
CV1 (%)		0,14	1,95	0,89	0,62	2,43	15,53	14,22	8,69	15,87	3,54	15,79	4,47	0,06	-6,10	4,45	4,45	0,14
Dose (D)	4	0,090	0,011	0,990	0,012	0,259	0,022	0,034	0,024	0,039	0,027	0,041	0,001	0,000	0,007	0,009	0,011	0,000
D x R	4	0,388	0,030	0,820	0,523	0,099	0,109	0,141	0,266	0,078	0,200	0,110	0,234	0,027	0,738	0,333	0,351	0,019
D x I	4	0,910	0,169	0,484	0,296	0,138	0,415	0,199	0,118	0,424	0,171	0,319	0,278	0,072	0,262	0,089	0,092	0,344
D x I x R	4	0,927	0,612	0,899	0,511	0,795	0,813	0,560	0,815	0,777	0,798	0,740	0,692	0,112	0,215	0,070	0,072	0,387
CV2 (%)		0,70	1,12	0,67	2,16	4,75	7,99	10,01	18,33	28,87	9,28	19,26	6,26	0,10	-4,73	3,03	3,04	0,16

*GL = Grau de liberdade;

PH = Peso hectolítrico; ID = Índice de dureza; DG = Diâmetro do grão; EXT = Extração de farinha, 14% de umidade; NQ = Número de queda;

Alveografia: W = Força de glúten; P = Tenacidade; L = Extensibilidade; P/L = Relação tenacidade e extensibilidade; G = Índice de intumescimento; P/G = Relação tenacidade e índice de intumescimento; IE = Índice de elasticidade;

Cor: L* = Luminosidade; a* = Cromo (eixo verde-vermelho); b* = Cromo (eixo azul-amarelo); C* = Intensidade ou saturação da cor; h° = Tonalidade;

Nível de significância (p<0,05), representado em negrito.

Tabela 2 – Indicadores de qualidade tecnológica de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.

Variáveis	PH		ID		DG		EXT		NQ	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Resíduo										
Milho	78,35±0,55^b	81,59±0,27 ^a	89,29±0,96^a	84,75±0,72 ^a	2,48±0,02^b	2,66±0,01 ^a	57,67±1,25 ^a	60,08±0,93^b	700,00±28,75 ^a	439,55±12,17^a
Soja	78,82±0,35^a	81,55±0,25 ^a	87,53±1,08^b	84,22±0,68 ^a	2,54±0,03^a	2,64±0,01 ^a	59,83±1,40 ^a	61,41±0,55^a	634,38±46,16 ^a	415,65±12,18^b
<i>Azospirillum brasilense</i>										
Inoculada	78,50±0,74^b	81,81±0,19^a	88,69±0,93^a	84,79±0,74 ^a	2,50±0,02 ^a	2,65±0,01 ^a	57,89±1,89 ^a	61,04±0,58^a	683,38±43,67 ^a	424,30±8,69 ^a
Controle	78,76±0,22^a	81,33±0,36^b	87,80±0,91^b	84,18±0,66 ^a	2,53±0,02 ^a	2,64±0,01 ^a	59,66±0,74 ^a	60,45±0,82^b	637,00±26,57 ^a	430,90±12,65 ^a
Nitrogênio (kg.ha⁻¹)										
Controle	78,62±1,93 ^a	81,56±0,59 ^a	90,14±3,39 ^a	85,50±1,02^a	2,51±0,04 ^a	2,65±0,01 ^a	59,98±5,45 ^a	59,17±1,25^b	667,00±86,29 ^a	426,87±10,84 ^a
30	79,02±0,55 ^a	81,76±0,44 ^a	87,96±1,44 ^a	84,70±1,64^{ab}	2,53±0,05 ^a	2,65±0,01 ^a	59,38±1,45 ^a	60,67±1,19^{ab}	647,66±53,47 ^a	442,37±19,57 ^a
60	78,46±0,65 ^a	81,82±0,33 ^a	88,12±1,81 ^a	84,62±1,00^{ab}	2,52±0,06 ^a	2,65±0,02 ^a	59,37±2,82 ^a	61,48±1,25^a	677,50±68,10 ^a	425,37±30,73 ^a
90	78,40±0,84 ^a	81,68±0,53 ^a	88,06±1,49 ^a	83,97±1,11^b	2,49±0,04 ^a	2,65±0,01 ^a	57,31±2,41 ^a	60,78±1,27^{ab}	659,12±78,76 ^a	423,75±16,33 ^a
120	78,68±1,31 ^a	81,03±0,44 ^a	87,99±2,19 ^a	83,64±1,12^b	2,53±0,06 ^a	2,65±0,02 ^a	59,11±0,74 ^a	61,64±1,11^a	662,00±71,43 ^a	419,62±25,66 ^a

*Média ± desvio padrão

PH = Peso hectolítrico (kg.hL⁻¹); ID = Índice de dureza; DG = Diâmetro do grão (milímetro); EXT = Extração experimental de farinha, 14% de umidade (%); NQ = Número de queda (segundo)

Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (milho e soja; inoculada e controle; dose de N), representado em negrito (p<0,05).

Tabela 3 - Alveografia de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.

Variáveis	Alveografia													
	W		P		L		P/L		G		P/G		IE	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
	Resíduo													
Milho	293,92±15,17 ^a	280,97±24,69 ^b	117,92±4,19 ^a	95,89±6,66 ^a	78,92±4,11 ^a	94,23±13,20 ^a	1,57±0,10 ^a	1,10±0,30 ^a	19,64±0,51 ^a	21,40±1,53^b	6,05±0,29 ^a	4,55±0,71 ^a	49,15±1,39 ^a	52,36±6,25 ^b
Soja	251,88±16,38 ^b	350,05±23,24 ^a	99,88±9,11 ^b	103,75±5,58 ^a	87,44±8,23 ^a	103,30±8,52 ^a	1,15±0,35 ^a	1,05±0,16 ^a	20,74±1,09 ^a	22,48±1,00^a	4,77±0,85 ^a	4,66±0,44 ^a	45,23±1,68 ^b	58,87±2,86 ^a
	<i>Azospirillum brasilense</i>													
Inoculada	270,00±12,60 ^a	316,27±18,83 ^a	107,72±5,89 ^a	97,64±5,46 ^a	83,64±7,93 ^a	103,33±12,44 ^a	1,30±0,31 ^a	1,01±0,30 ^a	20,28±1,05 ^a	22,43±1,48 ^a	5,27±0,69 ^a	4,41±0,69 ^a	46,47±1,00^b	55,55±5,95 ^a
Controle	270,64±9,47 ^a	314,75±11,77 ^a	107,85±2,76 ^a	102,00±6,47 ^a	83,77±3,36 ^a	94,20±8,89 ^a	1,38±0,07 ^a	1,14±0,15 ^a	20,22±0,40 ^a	21,45±0,96 ^a	5,40±0,20 ^a	4,79±0,47 ^a	47,55±1,15^a	55,69±1,71 ^a
	Nitrogênio (kg.ha⁻¹)													
Controle	282,25±63,88 ^a	288,18±56,42^b	106,00±11,98^{ab}	105,60±10,35^a	90,00±13,12 ^a	85,84±23,48^b	1,19±0,22 ^a	1,34±0,71^a	21,02±1,57 ^a	20,41±3,02^b	5,00±0,67 ^a	5,25±1,46^a	47,15±5,62 ^a	50,64±15,48^b
30	272,50±34,94 ^a	314,37±46,30^{ab}	105,66±12,93^{ab}	106,00±12,10^a	87,83±9,18 ^a	92,25±12,57^{ab}	1,22±0,26 ^a	1,18±0,27^{ab}	20,78±1,09 ^a	21,27±1,42^{ab}	5,06±0,86 ^a	4,98±0,82^{ab}	46,66±3,52 ^a	54,18±5,36^{ab}
60	269,12±24,07 ^a	328,12±38,83^a	113,12±14,54^a	99,12±6,30^{ab}	78,50±13,77 ^a	103,87±13,55^{ab}	1,57±0,62 ^a	0,98±0,20^{ab}	19,57±1,86 ^a	22,56±1,53^{ab}	5,90±1,47 ^a	4,38±0,57^{ab}	47,01±2,51 ^a	56,28±3,59^a
90	261,12±23,84 ^a	313,75±21,72^{ab}	104,62±6,29^b	98,25±7,37^{ab}	82,25±6,61 ^a	94,12±12,02^{ab}	1,28±0,15 ^a	1,07±0,22^{ab}	20,12±0,84 ^a	21,48±1,40^{ab}	5,17±0,44 ^a	4,60±0,65^{ab}	46,93±2,30 ^a	58,65±2,66^a
120	273,83±25,91 ^a	333,12±28,51^a	108,16±11,97^{ab}	90,12±11,99^b	84,33±9,19 ^a	117,75±21,00^a	1,30±0,28 ^a	0,81±0,24^b	20,33±1,13 ^a	23,97±2,13^a	5,28±0,85 ^a	3,80±0,82^b	47,01±2,99 ^a	58,33±2,85^a

*Média ± desvio padrão;

Alveografia: W = Força de glúten (10⁻⁴J); P = Tenacidade (milímetro); L = Extensibilidade (milímetro); P/L = Relação tenacidade e extensibilidade; G = Índice de intumescimento (milímetro);

P/G = Relação tenacidade e índice de intumescimento; IE = Índice de elasticidade (%);

Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (milho e soja; inoculada e controle; dose de N), representado em negrito (p<0,05).

Tabela 4 – Cor de farinha de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), em resposta a sucessão de cultura (resíduo de milho ou soja), inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Londrina-PR.

Variáveis	Cor									
	L*		a*		b*		C*		h°	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
	Resíduo									
Milho	93,46±0,09 ^a	93,71±0,08 ^a	-0,66±0,05 ^a	-1,37±0,04 ^a	11,21±0,25^b	13,83±0,21 ^a	11,16±0,25^b	14,00±0,21 ^a	93,23±0,26^b	95,74±0,16 ^a
Soja	93,42±0,16 ^a	93,76±0,11 ^a	-0,64±0,07 ^a	-1,36±0,04 ^a	11,48±0,37^a	13,59±0,33 ^a	11,67±0,37^a	13,56±0,33 ^a	93,41±0,32^a	95,66±0,15 ^a
	<i>Azospirillum brasilense</i>									
Inoculada	93,45±0,15 ^a	93,77±0,12 ^a	-0,63±0,09^a	-1,40±0,05 ^a	11,14±0,31^b	13,93±0,38 ^a	11,24±0,31^b	13,66±0,38 ^a	93,30±0,43 ^a	95,66±0,19 ^a
Controle	93,42±0,10 ^a	93,69±0,08 ^a	-0,69±0,04^b	-1,33±0,02 ^a	11,64±0,33^a	13,49±0,16 ^a	11,50±0,33^a	13,91±0,16 ^a	93,32±0,16 ^a	95,74±0,12 ^a
	Nitrogênio (kg.ha⁻¹)									
Controle	93,44±0,36 ^a	93,97±0,12^a	-0,68±0,16 ^a	-1,42±0,06^{ab}	11,51±1,45 ^a	13,34±0,45^b	11,53±1,46 ^a	13,41±0,45^b	93,38±0,48 ^a	96,06±0,16^a
30	93,49±0,18 ^a	93,83±0,14^{ab}	-0,71±0,15 ^a	-1,43±0,09^b	11,57±0,65 ^a	13,70±0,64^{ab}	11,60±0,65 ^a	13,78±0,64^{ab}	93,53±0,63 ^a	95,96±0,19^a
60	93,41±0,26 ^a	93,75±0,10^{bc}	-0,65±0,14 ^a	-1,34±0,02^{ab}	11,17±0,54 ^a	13,53±0,19^b	11,19±0,55 ^a	13,61±0,19^b	93,32±0,70 ^a	95,66±0,06^b
90	93,42±0,20 ^a	93,63±0,06^{cd}	-0,63±0,05 ^a	-1,32±0,03^a	11,39±0,41 ^a	13,77±0,37^{ab}	11,41±0,41 ^a	13,84±0,37^{ab}	93,19±0,26 ^a	95,47±0,11^{bc}
120	93,46±0,22 ^a	93,49±0,15^d	-0,62±0,09 ^a	-1,33±0,09^a	11,27±0,65 ^a	14,20±0,64^a	11,29±0,65 ^a	14,27±0,64^a	93,17±0,40 ^a	95,35±0,23^c

*Média ± desvio padrão;

Cor: L* = Luminosidade; a* = Cromo (eixo verde-vermelho); b* = Cromo (eixo azul-amarelo); C* = Intensidade ou saturação da cor; h° = Tonalidade;
Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (milho e soja; inoculada e controle; dose de N), representado em negrito (p<0,05).

Tabela 5 – Correlação (Pearson) entre dose de nitrogênio, qualidade tecnológica e composição química* de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS 220), Londrina-PR (2010 e 2011).

	Dose	PH	ID	DG	EXT	NQ	W	P	L	P/L	G	P/G	IE	L*	a*	b*	C*	h°	a _w	UMID	PROT	CINZA	LIPID	AMIDO	CARBT
Dose	-	-0,13	-0,18	-0,06	0,06	0,03	0,15	-0,27	0,27	-0,27	0,27	-0,28	0,29	-0,40	0,15	0,04	0,03	-0,22	0,26	0,33	0,78	-0,49	-0,31	-0,17	-0,74
PH		-	-0,69	0,84	0,33	-0,86	0,38	-0,29	0,32	-0,23	0,30	-0,27	0,37	0,55	-0,85	0,78	0,78	0,83	-0,12	-0,10	-0,12	0,09	0,15	0,00	0,12
ID			-	-0,77*	-0,34	0,80	-0,35	0,31	-0,28	0,22	-0,27	0,26	-0,42	-0,36	0,70	-0,66	-0,66	-0,69	-0,07	-0,04	-0,23	-0,02	-0,02	0,29	0,22
DG				-	0,40	-0,89	0,27	-0,40	0,33	-0,27	0,31	-0,33	0,29	0,47	-0,88	0,84	0,84	0,86	0,00	-0,07	-0,07	0,17	0,04	-0,07	0,06
EXT					-	-0,41	0,25	-0,29	0,35	-0,30	0,34	-0,31	0,24	0,09	-0,41	0,31	0,31	0,43	0,33	0,27	0,18	-0,25	-0,03	-0,26	-0,20
NQ						-	-0,43	0,36	-0,38	0,29	-0,37	0,33	-0,41	-0,52	0,90	-0,84	-0,85	-0,89	-0,05	-0,01	-0,01	-0,12	-0,07	0,12	0,02
W							-	0,04	0,56	-0,37	0,57	-0,27	0,78	0,12	-0,38	0,40	0,40	0,36	0,27	0,26	0,30	-0,27	0,12	-0,16	-0,31
P								-	-0,73	0,81	-0,73	0,91	-0,19	0,20	0,27	-0,42	-0,41	-0,21	-0,18	-0,18	-0,30	0,17	0,02	0,09	0,30
L									-	-0,87	0,99	-0,89	0,51	-0,15	-0,30	0,43	0,43	0,25	0,35	0,34	0,39	-0,36	0,09	-0,12	-0,40
P/L										-	-0,91	0,98	-0,53	0,29	0,18	-0,32	-0,32	-0,13	-0,32	-0,31	-0,42	0,36	-0,13	0,15	0,43
G											-	-0,91	0,54	-0,18	-0,28	0,41	0,41	0,22	0,36	0,34	0,40	-0,37	0,11	-0,13	-0,42
P/G												-	-0,44	0,26	0,23	-0,39	-0,38	-0,18	-0,29	-0,28	-0,39	0,31	-0,09	0,13	0,40
IE													-	0,04	-0,34	0,38	0,38	0,31	0,15	0,19	0,42	-0,32	0,09	-0,19	-0,41
L*														-	-0,58	0,29	0,30	0,65	-0,11	-0,11	-0,38	0,18	0,11	0,08	0,36
a*															-	-0,91	-0,92	-0,99	0,07	0,08	0,18	-0,22	-0,05	-0,02	-0,16
b*																-	1,00	0,83	-0,03	0,00	-0,01	0,18	0,04	-0,01	0,00
c*																	-	0,84	-0,03	-0,01	-0,02	0,18	0,04	-0,01	0,00
h°																		-	-0,08	-0,12	-0,23	0,23	0,05	0,01	0,22
a _w																			-	0,71	0,55	-0,54	-0,07	-0,56	-0,61
UMID																				-	0,54	-0,58	0,04	-0,35	-0,66
PROT																					-	-0,68	-0,07	-0,42	-0,99
CINZA																						-	0,01	0,18	0,68
LIPID																							-	-0,02	0,02
AMIDO																								-	0,45
CARBT																									-

*Indicadores de qualidade: PH = Peso hectolítrico; ID = Índice de dureza; DG = Diâmetro do grão; EXT = Extração experimental de farinha, 14% de umidade; NQ = Número de queda; Alveografia: W = Força de glúten; P = Tenacidade; L = Extensibilidade; P/L = Relação tenacidade e extensibilidade; G = Índice de intumescimento; P/G = Relação tenacidade e índice de intumescimento; IE = Índice de elasticidade;

Cor: L* = Luminosidade; a* = Cromo (eixo verde-vermelho); b* = Cromo (eixo azul-amarelo); C* = Intensidade ou saturação da cor; h° = Tonalidade;

Composição química: a_w = Atividade de água; UMID = Umidade; PROT = Composição Proteína; LIPID = Lipídeo; CARBT = Carboidrato total;

Nível de significância representado em negrito (p<0,05).

OBS: A composição química de grãos de trigo deste experimento foi discutido no Capítulo I.

Tabela 6 – Correlação de Pearson entre método primário e secundário (NIR).

Qualidade Tecnológica			
Análise	Média Primário	Média Secundário	Fator de Correlação (r)
Peso hectolítrico (PH; kg.hL ⁻¹)	80,18	81,09	0,76*
Índice de dureza (ID)	86,29	90,83	0,41*
Diâmetro do grão (DG; milímetro)	2,59	2,65	0,90*
Extração Farinha (EXT; %)	59,75	65,68	0,24*
Número de Queda (NQ; segundo)	538,70	360,90	-0,72*
Força de Glúten (W; 10 ⁻⁴ J)	293,97	306,63	0,29*
Tenacidade (P; milímetro)	104,29	93,72	-0,16
Extensibilidade (L; milímetro)	91,00	118,49	0,60*
Tenacidade/extensibilidade (P/L)	1,23	9,80	0,35*
Índice de intumescimento (G; milímetro)	21,06	23,76	0,56*
Tenacidade/índice de intumescimento (P/G)	5,02	3,96	0,19
Índice de elasticidade (IE; %)	50,84	57,17	0,26*
Luminosidade (L*)	93,61	93,38	-0,49*
Cromaticidade (a*; eixo verde-vermelho)	-1,04	-0,81	0,91*
Cromaticidade (b*; eixo azul-amarelo)	12,60	13,21	0,85*
Composição química (g/100g)			
Umidade	11,56	13,23	0,37*
Proteína	15,3	15,25	0,96*
Amido	62,87	67,17	0,46*

*Umidade, proteína e amido correlacionado com dados apresentados no Capítulo I; Nível de significância (p<0,05).

CAPÍTULO III

ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAMINAÇÃO POR DESOXINIVALENOL-DON DE TRIGO DA REGIÃO CENTRO SUL DO ESTADO DO PARANÁ

MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos e Departamento de Agronomia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina – Londrina-PR (4.1.1).

Localização e Caracterização da Área Experimental

Cultivado em dois anos agrícolas (2010 e 2011), o experimento a campo foi executado na fazenda experimental da Embrapa - Produtos e Mercado (SPM), localizada no município de Ponta Grossa-PR (item 4.1.2).

Matéria-Prima e Insumos

O cultivar BRS Tangará foi utilizado no experimento por ser indicado para a região e ter apresentado resultados satisfatórios em experimentos conduzidos em estações experimentais (BASSOI et al., 2012). Previamente a semeadura, as sementes foram divididas e tratadas com o inoculante líquido comercial Azototal[®] (Total Biotecnologia[®], Curitiba, Brasil), contendo a bactéria *Azospirillum brasilense* (item 4.1.3).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi de bloco casualizado no esquema fatorial 2 x 5 (inoculação e doses de N), com quatro repetições. Avaliou-se a inoculação de semente de trigo com *Azospirillum brasilense* (com e sem) e cinco

doses de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹), na forma de nitrato de amônio e aplicadas no início de perfilhamento (item 4.1.4).

Procedimento operacional

Os tratos culturais foram realizados a partir da análise de solo, seguindo as indicações técnicas da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale para o Estado do Paraná (FRONZA et al., 2008). A colheita ocorreu quando a cultura encontrava-se no estágio 11.4, correspondente a maturação de colheita com umidade inferior a 20% (LARGE, 1954). O grão colhido foi limpo e moído a granulometria de 30 “*mesh*”, para proceder-se às análises (item 4.1.5).

Análise físico-química

- Umidade – Estufa 105°C por 12 horas (IAL, 2008) (item 4.2.1.1);
- Atividade de água (Aw) - Leitura em equipamento Aqualab (item 4.2.1.2);
- Proteína – Foi realizada utilizando metodologia de Kjeldahl (AOAC, 1995) (item 4.2.1.3);

Determinação de Desoxinivalenol

O padrão de desoxinivalenol foi calibrado (item 4.2.2.1) e utilizado na construção das curvas padrão e teste de recuperação dos métodos (item 4.2.2.2). A triagem das amostras de trigo foi realizada pelo método ic-ELISA, de acordo com método descrito por Kawamura (2005) e dos Santos et al. (2011b) (item 4.2.2.3).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da amostra de solo coletada entre 0 e 20 cm de profundidade foi: pH (CaCl₂): 4,74; C: 18,94 g.dm⁻³; P (Mehlich 1): 2,72 mg.dm⁻³; H+Al: 2,43 cmolc.dm⁻³; K: 0,33 cmolc.dm⁻³; Ca + Mg: 6,55 cmolc.dm⁻³ e CTC: 9,31 cmolc.dm⁻³. A acidez do solo na área experimental (pH 4,74) constituiu fator negativo para a planta, devido a redução na disponibilidade de minerais em pH<5, principalmente nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio. A disponibilidade de alumínio pode aumentar a níveis tóxicos em pH ácido (<5,5), assim como cádmio e metais pesados, e reduzir o molibdênio disponível, importante para o *Azospirillum* na formação da nitrogenase e posterior fixação do nitrogênio atmosférico (HAZELTON; MURPHY, 2007).

A capacidade de troca catiônica (CTC=9,31 cmol_c.dm⁻³) encontrada é característica de solos tropicais, com capacidade reduzida para reter cátions em forma trocável, não sendo recomendado aplicação de dose única e elevada de adubação e calagem. Além disso, a saturação por base (73,9%) encontra-se na faixa recomendada para a cultura do trigo no Estado do Paraná (70%) (RONQUIM, 2010).

A precipitação pluviométrica durante o ciclo da cultura foi superior ao mínimo exigido pela planta, com total acumulado de 437 e 796 mm para 2010 e 2011, respectivamente (Figura 1). Em pesquisa utilizando o cultivar de trigo IAC-24, observou-se que o consumo médio de água pela planta é 347,2 mm (ciclo de 115 dias), ou 3,02 mm de consumo diário médio em condição experimental em Piracicaba-SP (LIBARDI; COSTA, 1997).

Na tabela 1 é apresentada a análise de variância para as características avaliadas em resposta a inoculação com *Azospirillum brasilense*, dose de nitrogênio em cobertura e interação entre os fatores.

A inoculação de semente com *A. brasilense* influenciou o teor de umidade dos grãos em 2010, resultando em redução de 2,7% na resposta observada, conforme apresentado na Tabela 2 (12,5 g/100g; p<0,05). Apesar disso, não se observou diferença na atividade de água do grão (p>0,05), fator esse importante para o crescimento de microrganismos e reações químicas que podem provocar alterações e afetar a qualidade do produto final.

A umidade é um fator importante e está diretamente ligado à qualidade do grão de trigo e seus produtos. Entretanto, quando esse fator não se

encontra em nível adequado, principalmente para o armazenamento, o teor de umidade no grão pode ser alterado através de processos de secagem.

Segundo Instrução Normativa n° 38 de 30 de novembro de 2010, é tecnicamente recomendável controlar a umidade do grão de trigo para que não ultrapasse 13%, sendo que, o trigo com umidade superior a 13% poderá ser comercializado, desde que não esteja ocasionando fatores de risco à saúde humana (BRASIL, 2010).

O teor de proteína no grão de trigo aumentou com a utilização de semente inoculada com *A. brasilense* em 2010 (+1,6%; 16,9 g/100g) e 2011 (+1,7%; 15,7 g/100g), conforme apresentado na Tabela 2 ($p < 0,05$). A inoculação de plantas com bactérias diazotróficas, a exemplo do *A. brasilense*, pode resultar em alterações na composição do grão, uma vez que esses microrganismos são caracterizados pela capacidade de converter o nitrogênio atmosférico e disponibilizar para as plantas.

De acordo com Salantur, Ozturk e Akten (2006), a inoculação com *Azospirillum* spp. pode resultar em variação significativa em parâmetros de cereais (biomassa, altura da planta, tamanho de folha, número de perfilhos e teor de nitrogênio nos tecidos e grão), devido melhor absorção de nutrientes, proporcionado pelo aumento no comprimento de raiz e volume, induzido por fito-hormônios produzidos pela bactéria (auxina e giberelina) e liberados para a planta.

Piccinin et al. (2013), utilizando mesma concentração de inóculo (10^8 UFC.mL⁻¹) e cepas (Ab-V5 e Ab-V6), nos anos de 2010 e 2011 na região de Maringá-PR, constataram que *A. brasilense* é uma alternativa capaz de suprir parcialmente a demanda da planta por nitrogênio, com suplementação por fertilizante nitrogenado. Os autores observaram que a aplicação de metade da dose recomendada de nitrogênio associado com o inoculante, proveem resultados positivos no desempenho agrônômico e produtividade de trigo. Entretanto, a inoculação de plantas de trigo não substitui o adubo nitrogenado, porém, promove a melhor absorção e utilização do nitrogênio disponível pelo aumento do crescimento radicular (SAUBIDET; FATTA; BARNEIX, 2002).

A resposta observada para a inoculação com *A. brasilense* está diretamente relacionada com a menor disponibilização de nitrogênio para a planta, conforme evidenciado na Tabela 3. A partir dos dados de interação entre inoculação com *A. brasilense* e dose de nitrogênio observa-se que, com a aplicação em cobertura de quantidade reduzida de nitrogênio (0 e 30 kg.ha⁻¹), o efeito do

inoculação com *Azospirillum* fica evidente, com diferença significativa entre o controle e o inoculado para características do grão como atividade de água, umidade e contaminação por desoxinivalenol ($p < 0,05$).

A inoculação de semente com *A. brasilense* em 2011 também resultou em incremento de 46,5% no nível de contaminação dos grãos por desoxinivalenol ($p < 0,05$; Tabela 2). Além disso, o nível de contaminação no grão inoculado ($2436,92 \mu\text{g.kg}^{-1}$) foi superior ao limite máximo tolerado estabelecido pela legislação brasileira, $2000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para trigo integral (BRASIL, 2011). A resposta foi dependente das condições ambientais, uma vez que o efeito significativo foi observado apenas em 2011 ($p < 0,05$). Não foram encontrados estudos sobre a relação entre inoculação com *A. brasilense* e contaminação por micotoxina.

Conforme apresentado na Tabela 2, o incremento da dose de nitrogênio resultou em acúmulo de proteína no grão em 2010 (+14,2%; 17,7 g/100g) e 2011 (+17,2%; 16,4 g/100g), quando comparado com o controle ($p < 0,05$). Além disso, apesar de não realizado teste estatístico, observou-se que o teor de proteína no grão no controle (0 kg.ha^{-1} de nitrogênio) foi maior em 2010 (15,5 g/100g) do que em 2011 (14,0 g/100g), possivelmente em resposta ao nitrogênio disponível no solo, resultado da incorporação dos resíduos da cultura anterior em 2010 (soja) e 2011 (milho).

A relação C/N do resíduo da cultura do milho é alta, promovendo maior imobilização de nitrogênio no solo e, conseqüente redução na quantidade de nitrogênio disponível para a planta de trigo (BRAZ et al., 2006).

O teor de proteína no grão apresentou aumento quadrático em 2010 ($p < 0,05$; $R^2 = 0,9632$) e 2011 ($p < 0,05$; $R^2 = 0,9988$), em resposta ao incremento da dose de nitrogênio (Figura 2). Observa-se que, com o aumento da disponibilidade de nitrogênio para a planta ocorreu uma diminuição da resposta observada para o teor de proteína no grão, podendo chegar a uma estabilização ou redução no teor de proteína do grão caso dose elevadas ($> 120 \text{ kg.ha}^{-1}$) sejam utilizadas.

Prando et al. (2012), avaliando efeito de fontes (ureia convencional, ureia com inibidor de urease e ureia de liberação lenta) e doses de nitrogênio (0-120 kg.ha^{-1}) em genótipos de trigo (BRS 208, BRS Pardela e IWT 04008), observaram que o teor de nitrogênio no grão não foi alterado significativamente pelas doses, contudo, o nitrogênio acumulado no grão aumentou linearmente com o incremento da dose de nitrogênio aplicadas em cobertura ($p < 0,01$; $R^2 = 0,8314$).

Kindred et al. (2008), avaliando resposta de cultivares de trigo a adubação nitrogenada (nitrato de amônio; 0-240 kg.ha⁻¹), observaram aumento de 28,35% na concentração de proteína sob dose elevada de nitrogênio (120 kg.ha⁻¹). Quando o dobro de dose foi utilizado (240 kg.ha⁻¹), a diferença foi superior, com aumento de 40,10% no teor de proteína, em comparação com o controle (0 kg.ha⁻¹).

Conforme apresentado na Tabela 2, a contaminação dos grãos por desoxinivalenol apresentou diferença, em resposta as doses de nitrogênio aplicado em cobertura ($p < 0,05$). Entretanto, apesar da maior contaminação do grão (3218,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) com aplicação de dose elevada de nitrogênio (120 kg.ha⁻¹), não observou-se relação entre a contaminação e a dose utilizada ($p > 0,05$).

A contaminação em 2010 variou entre 496,8 e 4424,06 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, sendo que 37,5% das amostras (30/80) apresentaram contaminação acima do limite máximo tolerado (2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$; trigo integral), estabelecido pela Resolução - RDC n° 7 de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011). Em 2011, a contaminação das amostras variou entre 537,7 e 3933,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, também com 37,5% das amostras (30/80) com nível de contaminação superior do limite máximo tolerado (Tabela 4).

A maior média observada em 2011 (2050,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), em comparação com 2010 (1699,49 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), pode estar relacionada ao resíduo da cultura anterior presente no solo (Tabela 4). Isso porque, a cultura do milho cultivada previamente o trigo em 2011, é uma potencial fonte de inóculo de *Fusarium graminearum*, agente causal da fusariose ou giberela e produtor de desoxinivalenol.

Blandino et al. (2012), observaram que os principais fatores na produção de DON em grão de trigo seguem a seguinte ordem: suscetibilidade da cultivar \geq cultura antecessora \geq sistema de plantio \geq aplicação de fungicida no período de antese do trigo. De acordo com os autores, o uso de cultura hospedeira como antecessora de cultivo, especialmente milho e sorgo, que elevam a quantidade de inóculo a campo, e a utilização de cultivares suscetíveis, contribuem para a máxima contaminação da cultura de trigo por *Fusarium*.

CONCLUSÃO

A inoculação com *Azospirillum brasilense* resultou em aumento no teor de proteína no grão em 2010 e 2011. Assim como, o incremento na dose de nitrogênio aplicado em cobertura, também resultou em aumento no teor de proteína.

Tabela 1 - Análise de variância (Prob.>F) – Atividade de água, umidade, proteína e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará), em resposta a inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio em cobertura (dose), Ponta Grossa-PR.

Fator de Variação	GL	a_w		Umidade		Proteína		DON	
		2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Bloco	3	0,140	0,859	0,070	0,043	0,004	0,500	0,000	0,251
Inoculação (I)	1	0,185	0,103	0,001	0,680	0,006	0,002	0,890	0,003
Dose (D)	4	0,047	0,099	0,677	0,081	0,000	0,000	0,242	0,000
D x I	4	0,692	0,011	0,382	0,001	0,764	0,507	0,734	0,014
CV (%)		3,13	2,29	2,40	1,82	1,73	2,32	45,75	36,06

*GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação;
 a_w = Atividade de água; DON = Desoxinivalenol;
 Nível de significância representado em negrito ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Atividade de água, umidade, proteína e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará), em resposta a inoculação (*Azospirillum brasilense*) e nitrogênio (dose), Ponta Grossa-PR.

Variáveis	a_w		Umidade (g/100g)		Proteína (g/100g)		DON ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
<i>Azospirillum brasilense</i>								
Inoculada	0,62±0,01 ^a	0,56±0,01 ^a	12,49±0,16^b	11,32±0,14 ^a	16,90±0,40^a	15,71±0,42^a	1682,39±431,10 ^a	2436,92±510,58^a
Controle	0,63±0,01 ^a	0,57±0,01 ^a	12,84±0,14^a	11,30±0,12 ^a	16,63±0,36^b	15,45±0,47^b	1716,60±487,30 ^a	1663,46±489,48^b
<u>Nitrogênio ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$)</u>								
Controle	0,62±0,01 ^a	0,55±0,01 ^a	12,63±0,20 ^a	11,16±0,20^b	15,51±0,40^d	13,98±0,33^d	1357,68±749,02 ^a	1439,64±822,26^b
30	0,62±0,02 ^a	0,57±0,02 ^a	12,78±0,34 ^a	11,26±0,29^{ab}	16,55±0,27^c	15,22±0,13^c	2152,03±779,48 ^a	2370,87±997,95^b
60	0,64±0,01 ^a	0,56±0,01 ^a	12,71±0,29 ^a	11,35±0,16^{ab}	16,88±0,31^{cb}	16,01±0,21^b	1457,30±576,12 ^a	1707,98±624,26^b
90	0,62±0,02 ^a	0,56±0,01 ^a	12,57±0,39 ^a	11,32±0,28^{ab}	17,16±0,26^b	16,32±0,24^{ab}	1604,13±879,07 ^a	1513,70±715,07^{ab}
120	0,64±0,02 ^a	0,57±0,00 ^a	12,64±0,29 ^a	11,46±0,17^a	17,72±0,23^a	16,38±0,17^a	1926,31±1020,82 ^a	3218,77±750,41^a
Regressão	NS	NS	NS	NS	Y = Figura 1 ($p < 0,05$)		NS	NS

*Média ± desvio padrão; Proteína em base seca;

a_w = Atividade de água;

Médias seguidas por letras diferentes indica diferença entre linhas (inoculada e controle; dose de N), representado em negrito ($p < 0,05$);

NS = Regressão não significativa ($p < 0,05$).

Tabela 3 - Atividade de água, umidade e contaminação por desoxinivalenol em trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará), em resposta a interação *Azospirillum brasilense* x dose de nitrogênio, Ponta Grossa-PR.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	a _w		Umidade (g/100g)		DON (μg.kg ⁻¹)	
	2011		2011		2011	
	Inoculada	Controle	Inoculada	Controle	Inoculada	Controle
0	0,54±0,01^{bB}	0,57±0,02^{aAB}	11,06±0,33^{aBC}	11,25±0,39 ^{aA}	1965,26±1913,22 ^{aA}	914,02±435,11^{aB}
30	0,56±0,04^{bAB}	0,58±0,01^{aA}	11,02±0,31^{bC}	11,50±0,47 ^{aA}	3436,06±609,87 ^{aA}	1305,67±620,74^{bB}
60	0,57±0,01^{aAB}	0,56±0,02^{aABC}	11,46±0,28^{aAB}	11,23±0,19 ^{aA}	2008,60±1603,95 ^{aA}	1407,36±333,56^{aB}
90	0,57±0,02^{aA}	0,55±0,02^{aBC}	11,52±0,48^{aA}	11,12±0,42 ^{bA}	1910,96±1579,73 ^{aA}	1116,43±872,38^{aB}
120	0,56±0,01^{aAB}	0,57±0,00^{aAB}	11,55±0,20^{aA}	11,37±0,39 ^{aA}	2863,70±1922,34 ^{aA}	3573,85±461,78^{aA}

*Média ± desvio padrão;

a_w = Atividade de água;

Médias seguidas por letra minúscula diferentes indica diferença entre colunas (inoculada e controle) (p<0,05);

Médias seguidas por letra maiúscula diferentes indica diferença entre linhas (dose de N), representado em negrito (p<0,05).

Tabela 4 – Estimativa por ic-ELISA de nível de contaminação por desoxinivalenol em amostras (N=80 amostras) de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará), Ponta Grossa-PR (2010 e 2011).

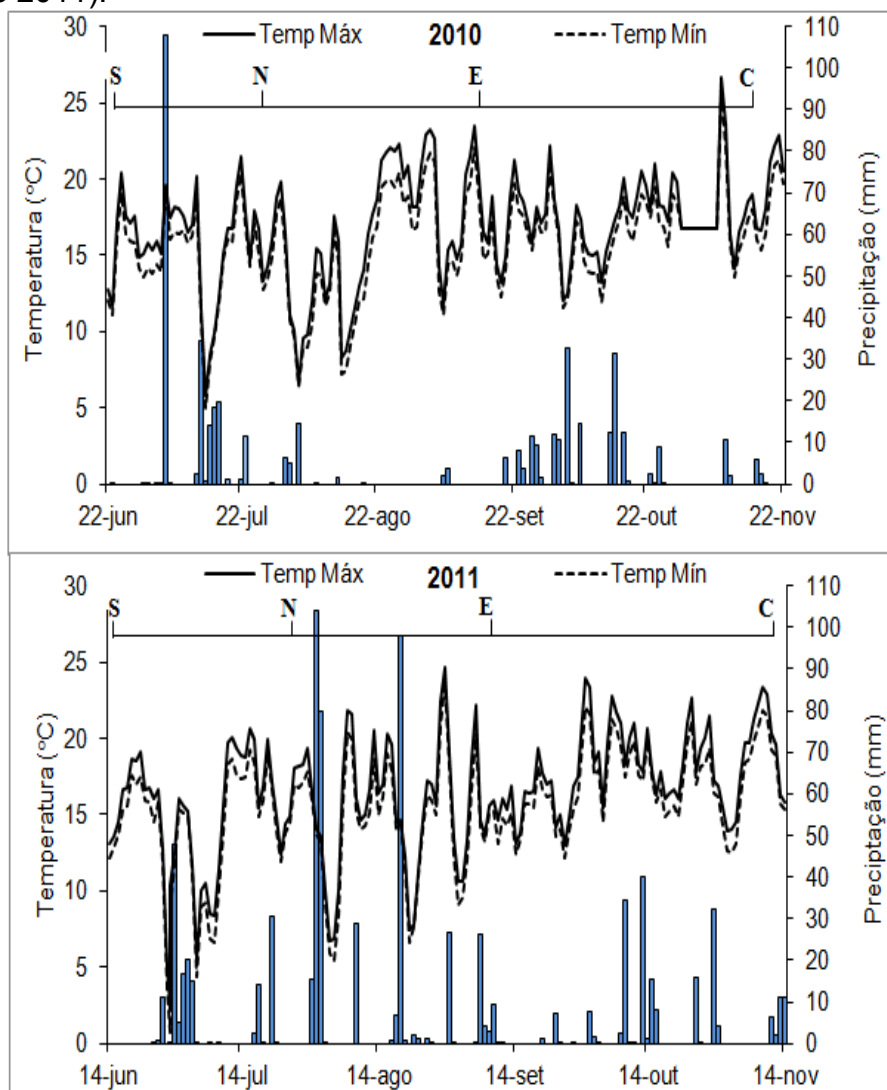
Ano	DON ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)				
	Total		Amostras Positivas		
	N	Média	N (%)	Média	Faixa
2010	40	1699,49	38 (95)	1767,58	496,78 - 4424,06
2011	40	2050,19	39 (97,5)	2093,25	537,67 - 3933,71
Total	80	1874,84	77 (96,25)	1932,53	496,78 - 4424,06

*DON = Desoxinivalenol; N = Número de amostra;

Amostras positivas = Resultado acima do limite de quantificação (LD = $113,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$; LQ = $445,38 \mu\text{g.kg}^{-1}$,
Recuperação do método = 103%; DPR < 20%);

Limite máximo permitido para DON em trigo integral - $2000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (BRASIL, 2011).

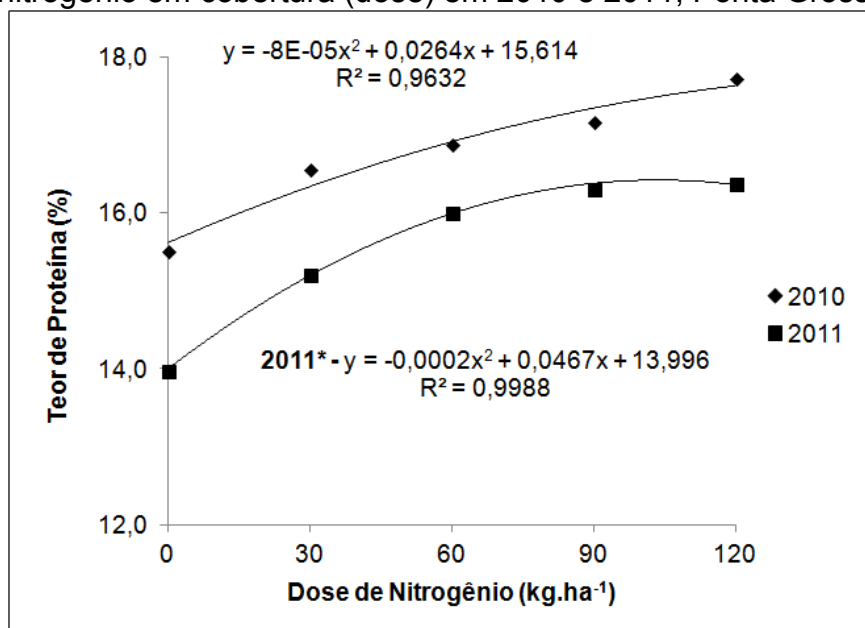
Figura 1 – Dados climáticos (temperatura e precipitação pluvial) em Ponta Grossa-PR (2010 e 2011).



*S: Semeadura, N: Adubação nitrogenada de cobertura, E: Espigamento, C: Colheita;

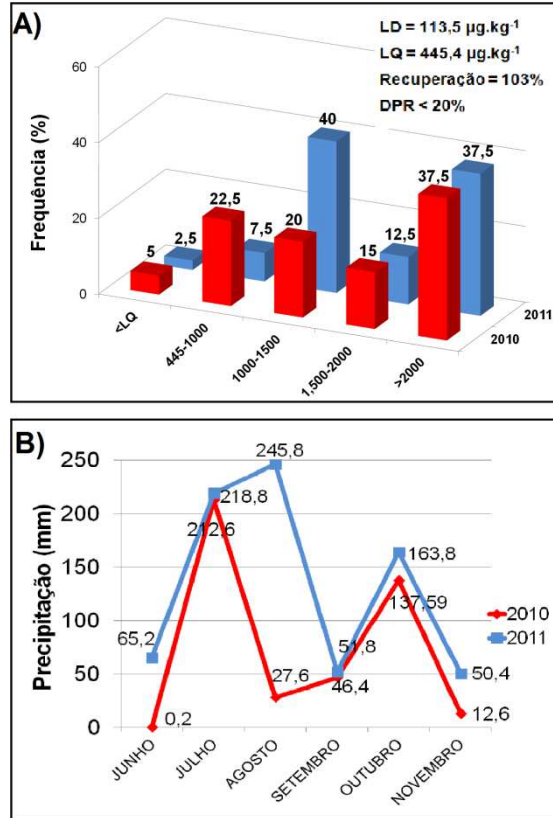
Fonte: Embrapa - Produtos e Mercado (SPM).

Figura 2 - Teor de proteína no grão de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará), em resposta a nitrogênio em cobertura (dose) em 2010 e 2011, Ponta Grossa-PR.



*(p<0,05)

Figura 3 – Região Centro Sul do Estado do Paraná (Ponta Grossa, 2010 e 2011): A) Distribuição dos níveis de DON em amostras (n=80) de trigo (*Triticum aestivum* L. BRS Tangará); B) Precipitação pluvial mensal acumulada (24/06 a 15/11/2010 e 15/06 a 18/11/2011).



6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a adversidades climáticas durante o desenvolvimento da cultura de trigo (déficit hídrico em Londrina-2010), novos estudos são necessários para avaliar o efeito do manejo de nitrogênio no solo como procedimento adicional para obtenção de matéria prima com perfil desejado perante composição química e consequente característica tecnológica. Os resultados demonstraram a importância de estudos sobre manejo adequado visando maximizar a produtividade e qualidade de grão.

REFERÊNCIAS

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10. ed. Saint Paul: AACC, 2000.

ALAMRI, S. A.; MOSTAFA, Y. S. Effect of nitrogen supply and *Azospirillum brasilense* Sp-248 on the response of wheat to seawater irrigation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.16, n.2, p.101-107, 2009.

ALONSO, K.; BERMEJO, A.; SALAZAR, J.; VIDAL, D. **Servicio nacional del trigo: El trigo**. Madrid: Ministerio de Agricultura, p. 125-146. 1997.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: AOAC, 1995. v. 2.

AULAKH, M. S.; MALHI, S. S. Fertilizer nitrogen use efficiency as influenced by interactions with other nutrients. In: MOSIER, A. R.; SYERS, K. J.; FRENEY, J. R. (Eds.). **Agriculture and the Nitrogen Cycle**. Washington: Island Press, 2004. p. 181-191.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p.103-121. 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.

BASSOI, M. C.; RIEDE, C. R.; CAMPOS, L. A. C.; FOLONI, J. S. S. **Cultivares de Trigo - Embrapa e Iapar**. Londrina: Embrapa Soja, 2012.

BASSOI, M. C.; SCHEEREN, P.; BRUNETTA, D.; DOTTO, S. R.; TAVARES, L. C. V. **Características e desempenho agrônomo da cultivar de trigo BRS 220 no estado de Santa Catarina**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. HTML (Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Online, 28). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/852101>>. Acesso em: 15 ago. 2012.

BECHTEL, D. B.; ABECASSIS, J.; SHEWRY, P. R.; EVERS, A. D. Development, Structure, and Mechanical Properties of the Wheat Grain. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds.). **Wheat: Chemistry and Technology**, 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009. p. 51-95.

BELDEROK, B. Developments in bread-making processes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 55, n. 1, p.15-20, 2000.

BEYER, M.; KLIX, M. B.; KLINK, H.; VERREET, J. A. Quantifying the effects of previous crop, tillage, cultivar and triazole fungicides on the deoxynivalenol content of wheat grain - A review. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v 113, n.6, p. 241-246, 2006.

BLANDINO, M.; HAIDUKOWSKI, M.; PASCALE, M.; PLIZZARI, L.; SCUDELLARI, D.; REYNERI, A. Integrated strategies for the control of *Fusarium* head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. **Field Crops Research**, v. 133, p.139-149, 2012.

BOCK, M. A. Minor constituents of cereals. In: KULP, K.; PONTE, J. G. **Handbook of cereal science and technology**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 479-504.

BONATO, C. M.; RUBIN FILHO, C. J.; MELGES, E.; DOS SANTOS, V. **Nutrição mineral de plantas**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1998. Disponível em: <<http://www.dbi.uem.br/aposti1.pdf>>. Acesso em 2 ago 2012.

BORGES, M. L. A.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; GLÓRIA, M. B. A. Estudo da variação da coloração de café arábica durante a torra em diferentes condições de aquecimento. Especial Café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, n.5; p.3-8, 2002.

BRADY, N. C. **Natureza e propriedades dos solos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 9, de 24 de março de 2000. Aprova os métodos analíticos de referência para análise de micotoxinas em produtos, subprodutos e derivados de origem vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção 1, p. 35, 30 mar. 2000. Disponível em: <http://www.cisoja.com.br/downloads/legislacao/anexo_IN_009_2.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n. 105, p. 91, 3 jun. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n. 29, p. 2, 1 dez. 2010.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n. 46, p. 66, 9 mar. 2011.

BRAZ, A. J. B. P.; SILVEIRA, P. M.; KLIEMANN, H. J.; ZIMMERMANN, F. J. P. Adubação nitrogenada em cobertura na cultura do trigo em sistema plantio direto após diferentes culturas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p.193-198, 2006.

BURRIS, R. H. Nitrogenases. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 266, p. 9339-9342, 1991.

BUZETTI, S.; BAZANINI, G. C.; FREITAS, J. D.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M. E. D.; MEIRA, F. D. A. Resposta de cultivares de arroz a doses de nitrogênio e do regulador de crescimento cloreto de clomequat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1731-1737, 2006.

CAMARGO, F. A. O.; GIANELLO, C.; VIDOR, C. Comparative study of live hydrolytic methods in the determination of soil organic nitrogen compounds. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 28, p. 1303-1309, 1997.

CAMPBELL, J. B. **Increasing Wheat Hardness Locus Functionality by Increasing Puroindoline Copy Number and Introduction of Novel Alleles**. 2007. 61p. Thesis (Masters of Science in Plant Sciences). Montana State University, Bozeman, 2007.

CAMPOS, L. A. C.; SCHOLZ, M. B. S.; DA SILVA, J. P. (Org.) **Informações técnicas para trigo e triticale - Safra 2013**. Londrina-PR: Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), 2012.

CAZETTA, D. A.; FORNASIERI FILHO, D.; ARF, O.; GERMANI, R. Qualidade industrial de cultivares de trigo e triticale submetidos à adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 741-750, 2008.

CHUNG, O. K. Lipid-protein interactions in wheat flour, dough, gluten, and protein fractions. **Cereal Foods World**, v. 31, 1986.

CHUNG, O. K.; OHM, J. B.; RAM, M. S.; PARK, S. H.; HOWITT, C. A. Wheat lipids. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4 ed. Saint Paul: AACC, 2009. p. 363-399.

COELHO, M. A. O.; SEDIYAMA, T.; SOUZA, M. A.; RIBEIRO, A. C.; SEDIYAMA, C. S. Composição mineral e exportação de nutrientes pelos grãos do trigo irrigado e submetido a doses crescentes e parceladas de adubo nitrogenado. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 275, p.81-84. 2001.

Comunidade Europeia - *EUROPEAN COMMISSION*. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L 364, p. 5-24, 2006a.

Comunidade Europeia - *EUROPEAN COMMISSION*. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L 70, p. 12-34, 2006b.

CONAB - COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quinto levantamento**, Brasília: Conab, 2013. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_02_07_15_51_29_bol_etim_portugues_fevereiro_2013.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2013.

CONKOVÁ, E.; LACIAKOVÁ, A.; KOVÁČ, G.; SEIDEL, H. Fusarial toxins and their role in animal diseases. **The Veterinary Journal**, v.165, p. 214-220. 2003.

CORNELL, H. J.; HOVELING, A. W. **Wheat: Chemistry and utilization**. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1998.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. 1. ed. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, 2008. p. 87-95.

DAVIES, J.; BERZONSKY, W. A. Evaluation of spring wheat quality traits and genotypes for production of Cantonese Asian noodles. Evaluation of spring wheat quality traits and genotypes for production of Cantonese Asian noodles. **Crop science**, v. 43, n. 4, p. 1313-1319, 2003.

DECAGON DEVICES. **Application note: seed longevity in storage is enhanced by controlling water activity**. Decagon Devices, Inc., Pullman, WA. 2000.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTRÖM, G. C. Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 587-606, 2004.

DIAZ, C.; PURDY, S.; CHRIST, A.; MOROT-GAUDRY, J-F.; WINGLER, A.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Characterization of Markers to Determine the Extent and Variability of Leaf Senescence in Arabidopsis. A Metabolic Profiling Approach. **Plant Physiology**, v. 138, n. 2, p. 898-908, 2005.

DIDONET, A. D.; LIMA, O. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.35, n. 2, p. 401–411, 2000.

DIXON, R.; KAHN, D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. **Nature reviews Microbiology**. v.2, p. 621-631, 2004.

DOBBELAERE, S.; CROONRNBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J. F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; ADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.871-879. 2001.

DOS SANTOS, J. S.; SOUZA, T. M.; ONO, E. Y. S.; HASHIMOTO, E. H.; BASSOI, M. C.; MIRANDA, M. Z.; ITANO, E. N.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat from Paraná State, Brazil and estimated daily intake by wheat products. **Food chemistry**, v. 138, p. 90-95, 2013.

DOS SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, T. M.; MARTINS, L. M.; HASHIMOTO, E. H.; BASSOI, M. C.; PIRES, J. L. F.; MIRANDA, M. Z.; GARCIA, S.; ITANO, E. N.; ONO, E. Y. S.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. Monitoramento e nível de ingestão de desoxinivalenol por trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1439-1450, 2011a.

DOS SANTOS, J. S.; TAKABAYASHI, C. R.; ONO, E. Y. S.; ITANO, E. N.; MALLMANN, C. A.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. Immunoassay based on

monoclonal antibodies versus LC-MS: deoxynivalenol in wheat and flour in Southern Brazil. **Food Additives and Contaminants**. v. 28, n. 8, p. 1083–1090, 2011b.

DOWELL, F. E.; MAGHIRANG, E. B. Accuracy and feasibility of measuring characteristics of single kernels using near-infrared spectroscopy. In: **Proceedings of the ICC Conference**, 2002. p. 313-320.

DOWELL, F. E.; MAGHIRANG, E. B.; XIE, F.; LOOKHART, G. L.; PIERCE, R. O.; SEABOURN, B. W.; BEAN, S. R.; WILSON, J. D. Predicting wheat quality characteristics and functionality using near-infrared spectroscopy. **Cereal chemistry**, v. 83, n. 5, p. 529-536, 2006.

DUONG, T. T. T. **Dynamics of plant residue decomposition and nutrient release**. 2009. 114 p. Thesis (Master of Agricultural Science) - The University of Adelaide, Australia, 2009.

DUPONT, F. M.; ALTENBACH, S. B. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. **Journal of Cereal Science**, v. 38, n. 2, p. 133-146, 2003

EDWARDS, S. G. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. **Toxicology Letters**, v. 153, n.1, p. 29-35, 2004.

ELIASSON, A. C. (Ed.). **Carbohydrates in food**. Boca Raton: CRC, 2006.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

ENGLYST, H. N.; HUDSON, G. J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 15-21, 1996.

FANA, G.; DERESSA, H.; DARGIE, R.; BOGALE, M.; MEHADI, S.; GETACHEW, F. Grain Hardness, Hectolitre Weight, Nitrogen and Phosphorus Concentrations of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var. *Durum*) as Influenced by Nitrogen and Phosphorus Fertilisation. **World Applied Sciences Journal**, v. 20, n. 10, p. 1322-1327, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 4.3. **Lavras: UFLA**, 2002.

FESSAS, D.; SCHIRALDI, A. Water properties in wheat flour dough II: classical and Knudsen thermogravimetry approach. **Food chemistry**, v. 90, n. 1, p. 61-68, 2005.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do trigo**. Jaboticabal: Funep, 2008.

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. **Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal**. Documentos 110, 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2007.

FRONZA, V.; CAMPOS, L.A.C.; RIEDE, C.R. (Org.) **Informações técnicas para a safra 2008: trigo e triticale**. Documentos 301, Londrina: Embrapa Soja, 2008.

FUERTES-MENDIZÁBAL, T.; AIZPURUA, A.; GONZÁLEZ-MORO, M. B.; ESTAVILLO, J. M. Improving wheat breadmaking quality by splitting the n fertilizer rate. **European Journal of Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 52-61, 2010.

GAHOONIA, T. S.; NIELSEN, N. E.; LYSHEDE, O. B. Phosphorus (P) acquisition of cereal cultivars in the field at three levels of P fertilization. **Plant and Soil**, v. 211, n. 2, p. 269-281, 1999.

GARCÍA-JUNIOR, D.; VECHIATO, M. H.; MENTEN, J. O. M. Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo. **Summa Phytopathologica**. v. 34, n. 3, p. 280-283, 2008.

GARRIDO-LESTACHE, E.; LÓPEZ-BELLIDO, R. J.; LÓPEZ-BELLIDO, L. Durum wheat quality under Mediterranean conditions as affected by N rate, timing and splitting, N form and S fertilization. **European journal of agronomy**, v. 23, n. 3, p. 265-278, 2005.

GOESAERT, H.; BRIJS, K.; VERAVERBEKE, W. S.; COURTIN, C. M.; GEBRUERS, K.; DELCOUR, J. A. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 1, p. 12-30, 2005.

GOODING, M. J. The wheat crop. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009. p. 19-49.

GRANT, L. A.; DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; VIGNAUX, N. Spaghetti cooking quality of waxy and non-waxy durum wheats and blends. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 2, p. 190-196, 2004.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial de trigo**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 27, 1996.

GUARIENTI, E. M.; DEL DUCA, L. J. A. **Faça pães internacionais com farinha de trigo nacional**. Passo Fundo: Embrapa Trigo. 2002.

GUTKOSKI, L. C. **Controle de qualidade de grãos e farinhas de cereais**. 2009. Disponível em: <
http://200.135.19.1/4simposio/docs/avaliacao_qualidade_de_graos_concordia_2009.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2013.

GUTKOSKI, L. C.; KLEIN, B.; COLUSSI, R.; SANTETI, T. A. S. Efeito da adubação nitrogenada nas características tecnológicas de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 1-4, p.116-122, 2011.

GUTKOSKI, L. C.; ROSA FILHO, O.; TROMBETTA, C. Correlação entre teor de proteínas em grãos de trigo e a qualidade industrial de farinhas. **Boletim do CEPPA**, v. 20, n. 1, p. 29-40, 2002.

HAZELTON, P. A.; MURPHY, B. W. **Interpreting Soil Test Results: What do all**

the numbers mean?. CSIRO publishing, 2007.

HEINEMANN, A. B.; HOOGENBOOM, G.; CHOJNICKI, B. The impact of potential errors in rainfall observation on the simulation of crop growth, development and yield. **Ecological modelling**, v. 157, n. 1, p. 1-21, 2002.

IAL – NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IAPAR - INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climáticas do Estado do Paraná**. Disponível em:

<<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=597>>. Acesso em: 21 fev. 2013.

JOHNSTON, A. E.; MCEWEN, J.; LANE, P. W.; HEWITT, M. V.; POULTON, P. R.; YEOMAN, D. P. Effects of one to six year old ryegrass-clover leys on soil nitrogen and on the subsequent yields and fertilizer nitrogen requirements of the arable sequence winter wheat, potatoes, winter wheat, winter beans (*Vicia faba*) grown on a sandy loam soil. **Journal of Agricultural Science**. v.122, p. 73–89, 1994.

KAWAMURA, O. Production of monoclonal antibodies against deoxynivalenol and development of a high sensitive ELISA using enzyme amplification. **Technical Bulletin of Faculty of Agriculture, Kagawa University**, v.57, p.27-33, 2005.

KHAN, K.; SHEWRY, P. R. (Eds.). **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACCC, 2009.

KINDRED, D. R.; VERHOEVEN, T. M. O.; WEIGHTMAN, R. M.; SWANSTON, J. S.; AGU, R. C.; BROSNAN, J. M.; SYLVESTER-BRADLEY, R. Effects of variety and fertiliser nitrogen on alcohol yield, grain yield, starch and protein content, and protein composition of winter wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 46–57, 2008.

KITISSOU, P. Un nouveau paramètre alvéographique: L'indice d'élasticité (Ie). **Industries des Céréales**, p. 9-14, 1995.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B. Atributos de desempenho industrial e qualidade de sementes em aveia branca em função da disponibilização da adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, v.33, n.3, p. 587-589, 2003.

KOVAČEVIĆ, V., ŠEPUT, M., ILJKIĆ, D., STOJIC, B., & PRIBANIĆ, M. Response of maize and wheat to increasing rates of NPK-fertilization. **Poljoprivreda**, v. 18, n.2, p. 12-17, 2012.

KUKTAITE, R. **Protein Quality in Wheat: Changes in Protein Polymer Composition during Grain Development and Dough Processing**. 2004. 40 p. Thesis (Doctoral) - Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 2004.

KULP, K.; PONTE, J. G. **Handbook of cereal science and technology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2000.

LANG, C. E.; LANNING, S. P.; CARLSON, G. R.; KUSHNAK, G. D.; BRUCKNER, P. L.; TALBERT, L. E. Relationship between baking quality and noodle quality un hard

white spring wheat. **Crop Science**, v. 38, p. 823-827, 1998.

LARGE, E. C. Growth stages in cereals illustration of the feekes scale. **Plant pathology**, v. 3, n. 4, p. 128-129, 1954.

LAZZAROTTO, C.; ROESE, A. D.; GOULART, A. C. P.; FONTE, C. Z. **Informações Técnicas para Trigo e Triticale - Safra 2012**. 2011. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/912499/1/SP20119.pdf>> Acesso em: 10 dez. 2012.

LIBARDI, V. C. M.; COSTA, M. B. Consumo D'água da Cultura do Trigo (*Triticum aestivum*, L.). **Revista da FZVA**, v. 4, n. 1, 1997.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MALONE, B. Solution fluorometric method for deoxynivalenol in grains. In: TRUCKSESS, M. W.; POHLAND, A. E. (Eds.). **Mycotoxin protocols**, 2001. p. 97-113.

MCDONALD, G. K. Effects of nitrogenous fertilizer on the growth, grain yield and grain protein concentration of wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.43, p. 949–967, 1992.

MCKEVITH, B. Nutritional aspects of cereals. **Nutrition Bulletin**, v. 29, n.2, p. 111-142, 2004.

MEGDA, M. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. M. C.; VIEIRA, M. X. Resposta de cultivares de trigo ao nitrogênio em relação às fontes e épocas de aplicação sob plantio direto e irrigação por aspersão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1055-1060, 2009.

MENDES, M. C.; ROSÁRIO, J. G.; FARIA, M. V.; ZOCHE, J. C.; WALTER, A. L. B. Avaliação da eficiência agronômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.4, n.3, p.95-110, 2011.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001.

MIRANDA, M. Z. **Diferentes significados para qualidade de trigo**. 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2008/diferentes-significados-paraqualidade-de-trigo/>>. Acesso em: 08 fev. 2013.

MIRANDA, M. Z. **Efeito do tempo de germinação do trigo e das variáveis de extrusão na qualidade tecnológica e nutricional de farinha integral**. 1998. 216 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

MIRANDA, M. Z.; GUARIENTI, E. M.; BASSOI, M. C.; SCHEEREN, P. L.; SILVA, M. S.; CAIERÃO, E. **Qualidade tecnológica de cultivares de trigo da Embrapa indicadas para o Paraná na safra 2011**. 2011. Disponível em:

<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54777/1/QUALIDADE.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2013.

MÓDENES; A. N.; SILVA, A. M.; TRIGUEROS, D. E. G. Avaliação das propriedades reológicas do trigo armazenado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, 2009.

MORGANTE, P. G. **Fixação Biológica e assimilação de nitrogênio**. 2009. Disponível em: <<http://www.quimica10.com.br/10/wp-content/uploads/2009/01/lcb311-fixacao-biologica-e-assimilacao-de-nitrogenio-esalq-usp.pdf>>. Acesso em: 25 jan. 2013.

MOSSE, J. Nitrogen-to-protein conversion factor for ten cereals and six legumes or oilseeds. A reappraisal of its definition and determination. Variation according to species and to seed protein content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 18-24, 1990.

MOUSIA, Z.; EDHERLY, S.; PANDIELLA, S.; WEBB, C. Effect of wheat perling on flour quality. **Food Research International**, v. 37, p. 449-459. 2004.

NAEGA – The North American Export Grain Association. **Wheat Flour Testing Book. Wheat and Flour Testing Methods: A Guide to Understanding Wheat and Flour Quality: Version 2**. 2007. Disponível em: <<http://www.wheatflourbook.org/doc.aspx?Id=201>>. Acesso em: 15 janeiro. 2013.

NAGAMINE, T.; IKEDA, T. M.; YANAGISAWA, T.; YANAKA, M.; ISHIKAWA, N. The Effects of Hardness Allele *Pinb-D1b* on the Flour Quality of Wheat for Japanese White Salty Noodles. **Journal of Cereal Science**, v. 37, n. 3, p. 337-342, 2003.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.

OBERT, J. C.; RIDLEY, W. P.; SCHNEIDER, R. W.; RIORDAN, S. G.; NEMETH, M. A.; TRUJILLO, W. A.; BREEZE, M. L.; SORBET, R.; ASTWOOD, J. D. The composition of grain and forage from glyphosate tolerant wheat MON 71800 is equivalent to that of conventional wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1375-1384, 2004.

ORTOLAN, F.; HECKTHEUER, L. H.; MIRANDA, M. Z. Efeito do armazenamento à baixa temperatura (-4 C) na cor e no teor de acidez da farinha de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 55-59, 2010.

OUBIÑA, A.; BALLESTEROS, B.; CARRASCO, P. BOU; GALVE, R.; GASCON, J.; IGLESIAS, F.; SANVINCENS, N.; MARCO, M. P. Immunoassays for environmental analysis. In: BARCELO, D. (Ed.). **Environmental Analysis: Sample Handling and Trace Analysis of Pollutants—Techniques, Applications and Quality Assurance**. Elsevier Science, 2000. p. 287–339.

PESTKA, J. J.; SMOLINSKI, T. A. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. **Journal of Toxicology and Environmental Health**. v.8, p. 39-69. 2005.

- 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.
- PIIRONEN, V.; LAMPI, A. M.; EKHOLM, P.; SALMENKALLIO-MARTTILA, M.; LIUKKONEN, K. H. Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009. p. 179-222.
- PINHEIRO, R. D.; BODDEY, L. H.; JAMES, E. K.; SPRENT, J. I.; BODDEY, R. M. Adsorption and anchoring of *Azospirillum* strains to roots of wheat seedlings. **Plant and Soil**, v. 246, n. 2, p. 151-166, 2002.
- POMERANZ, Y. Chemical composition of kernel structures. In: **Wheat: chemistry and technology**. 3. ed. American Association of Cereal Chemists, 1988. p. 97-158.
- POMERANZ, Y.; WILLIAMS, P. C. Wheat hardness: Its genetic, structural, and biochemical background, measurement, and significance. **Advances in cereal science and technology**, v. 10, 1990.
- POPPER, L.; SCHÄFER, W.; FREUND, W. **Future of Flour – A Compendium of Flour Improvement**. Kansas City: Agrimedia, 2006.
- POSNER, E. S. Wheat flour milling. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009. p. 119-152.
- POSNER, E. S. Wheat. In: KULP, K.; PONTE, J. G. (2 ed). **Handbook of cereal science and technology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 1-29.
- PRANDO, A. M.; ZUCARELI, C.; FRONZA, V.; BASSOI, M. C.; DE OLIVEIRA, F. A. Formas de ureia e doses de nitrogênio em cobertura no desempenho agrônomo de genótipos de trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 621-632, 2012.
- PRANGE, A.; BIRZELE, B.; KRÄMER, J.; MEIER, A.; MODROW, H.; KÖHLER, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. **Food control**, v. 16, n. 8, p. 739-745, 2005.
- QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 137 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2009.
- RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Potafos/Ceres, 1991.
- RAMIREZ, M. L.; CHULZE, S.; MAGAN, N. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. **International journal of food microbiology**, v. 106, n. 3, p. 291-296, 2006.
- RASPER, V. F.; WALKER, C. E. Quality evaluation of cereals and cereal products. In: KULP, K.; PONTE, J. G. **Handbook of cereal science and technology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 505-537.

- REGINA, A.; BIRD, A.; TOPPING, D.; BOWDEN, S.; FREEMAN, J.; BARSBY, T.; KOSAR-HASHEMI, B.; LI, Z.; RAHMAN, S.; MORELL, M. High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 10, p. 3546-3551, 2006.
- REIS, E. M.; CASA, R. T. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. 1. ed. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1998.
- REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIRA, C. A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina: ES Comunicação, 2001.
- RONQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. **Embrapa Monitoramento por Satélite. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 8, 2010.
- RYAN, M. H.; DERRICK, J. W.; DANN, P. R. Grain mineral concentrations and yield of wheat grown under organic and conventional management. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 3, p. 207-216, 2004.
- SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 833-842, 2007.
- SALANTUR, A.; OZTURK, R.; AKTEN, S. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria. **Plant Soil and Environment**. 52, p. 111–118. 2006.
- SAMEEN, A.; NIAZ, A.; ANJUM, F. M. Chemical Composition of Three Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties as Affected by NPK Doses. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 4, n. 4, 2002,
- SATORRE, E. H.; ARNOLD, R. L. B.; SLAFER, G. A.; DE LA FUENTE, E. B.; MIRALLES, D. J.; OTEGUI, M. E.; SAVIN, Y. R. **Producción de granos. Bases funcionales para su manejo**. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, 2008.
- SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, v. 245, n. 2, p. 215-222, 2002.
- SCHEEREN, P. L.; BASSOI, M. C.; BRUNETTA, D.; DOTTO, S. R.; TAVARES, L. C. V.; MIRANDA, L. C.; BECKERT, O. P.; MIRANDA, M. Z.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; CHAVES, M. S. BRS Tangará nova cultivar de trigo para o Estado do Paraná. In: Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 1.; Seminário técnico do trigo, 7, 2007, Londrina. **Ata, resumos e palestras**. Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional: IAPAR, 2007.
- SCHEUER, P. M.; FRANCISCO, A.; MIRANDA, M. Z.; LIMBERG, V. M. Trigo: Características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011.

SCHWEIGERT, P.; VAN DER PLOEG, R. R. Nitrogen use efficiency in German agriculture since 1950: facts and evaluation. **Berichte über Landwirtschaft**. v. 80, p. 185-212, 2000.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SHELTON, D. R.; LEE, W. J. Cereal carbohydrates. In: KULP, K.; PONTE, J. G. **Handbook of cereal science and technology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 385-416.

SHEWRY, P. R.; D'OVIDIO, R.; LAFIANDRA, D.; JENKINS, J. A.; MILLS, E. N. C.; BÉKÉS, F. Wheat grain proteins. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4 ed. Saint Paul: AACC, 2009.

SIELING, K.; SCHROEDER, H.; FINCK, M.; HANUS, H. Yield, N uptake, and apparent N use efficiency of winter wheat and winter barley grown in different cropping systems. **Journal of Agricultural Science**. v. 131, p. 375–387, 1998.

SILVA, R. C. **Qualidade tecnológica e estabilidade oxidativa de farinha de trigo e fubá irradiados**. 2003. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SILVA, T. R. B.; SORATTO, R. P.; CHIDI, S. N.; ARF, O.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do feijoeiro de inverno. **Cultura agrônômica**, v. 9, p. 1-17, 2000.

SOARES SOBRINHO, J. **Efeito de doses de nitrogênio e de lâminas de água sobre as características agrônômicas e industriais em duas cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 102 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1999.

SOARES, L. V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos**. 1. ed. Barueri: Manole, 2006.

SOMOGYI, M. Determination of blood sugar. **Journal Biology Chemical**, v. 160, n. 1, p. 69-73, 1945.

ŠRAMKOVÁ, Z.; GREGOVÁ, E.; ŠTURDÍK, E. Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. **Acta Chimica Slovaca**, v. 2, n. 1, p. 115-138, 2009.

SVIHUS, B.; UHLEN, A. K.; HARSTAD, O. M. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 122, n. 3, p. 303-320, 2005.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: ITAL, Núcleo de Microbiologia, 2001.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ALVAREZ, R. C. F.; FREITAS, J. G.; ARF, O.; SÁ, M. E. Resposta de cultivares de trigo irrigados por aspersão ao nitrogênio em

cobertura na região do Cerrado. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, n. 3, p. 421-425, 2007.

TELLER, G. L. Non-protein nitrogen compounds in cereals and their relation to the nitrogen factor from protein in cereals and bread. **Cereal Chemistry**, v. 9, p. 261-274, 1932.

TIMSINA, J.; SINGH, U.; BADARUDDIN, M.; MEISNER, C.; AMIN, M. R. Cultivar, nitrogen, and water effects on productivity, and nitrogen-use efficiency and balance for rice–wheat sequences of Bangladesh. **Field Crops Research**, v. 72, p. 143–161, 2001.

TOWNSEND, A. R.; HOWARTH, R. B.; BAZZAZ, F. A.; BOOTH, M. S.; CLEVELAND, C. C.; COLLINGE, S. K.; DOBSON, A. P.; EPSTEIN, P. R.; HOLLAND, E. A.; KEENEY, D. R.; MALLIN, M. A.; ROGERS, C. A.; WAYNE, P.; WOLFE, A. H. Human health effects of a changing global nitrogen cycle. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 1, p. 240-246, 2003.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, n. 2, p. 168-180, 2009.

USDA – United States Department of Agriculture. **World Agricultural Production** – Janeiro 2013. Disponível em: <
<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> >. Acesso em: 08 fev. 2013.

VERAVERBEKE, W. S.; DELCOUR, J. A. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 3, p. 179-208, 2002

VIEIRA, R. D.; FORNASIERI, D.; MINOHARA, L. BERGAMASCHI, M. C. Efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na produção e na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Científica Revista da Agronomia**, v. 23, n. 2, p. 257-264, 1995.

WALTER, M.; DA SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência rural**, v. 35, n. 4, p. 974-980, 2005.

WALTER, M.; DA SILVA, L. P.; PERDOMO, D. M. X. Amido disponível e resistente em alimentos: Adaptação do método da AOAC 996.11. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.16, n.1, p. 39-43, 2005.

WIERSMA, J. J.; BUSCH, R. H.; FULCHER, G. G.; HARELAND, G. A. Recurrent selection for kernel weight in spring wheat. **Crop science**, v. 41, n. 4, p. 999-1005, 2001.

WIESER, H.; MANDERSCHIED, R.; ERBS, M.; WEIGEL, H. J. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentrations on the quantitative protein composition of wheat grain. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6531-6535, 2008.

WILLIAMS, P. C. Implementation of near-infrared technology. In: WILLIAMS, P., NORRIS, K.H. (Eds.). **Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries**. Sant Paul: AACC, 2001. p. 145–169.

WINGLER, A.; PURDY, S.; MACLEAN, J. A.; POURTAU, N. The role of sugars in integrating environmental signals during the regulation of leaf senescence. **Journal of Experimental Botany**. 57.2, n.2, 2006.

WOLF, B. W.; BAUER, L. L.; FAHEY JR, G. C. Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 10, p. 4178-4183, 1999.

WRIGLEY, C.W.; Wheat: a unique grain for the world. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.R. (Eds). **Wheat: chemistry and technology**. 4. ed. Saint Paul: AACC, 2009.

ZAGONEL, J.; VENÂNCIO, W. S.; KUNZ, R. P.; TANAMATI, H. Doses de nitrogênio e densidade de plantas com e sem um regulador de crescimento afetando o trigo, cultivar OR-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 25-29, 2002.