

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**TESE**

**Fixação Biológica de Nitrogênio Associada à Cultura  
de Cana de Açúcar: Eficiência e Contribuição da  
Inoculação com Bactérias Diazotróficas**

**Nivaldo Schultz**

**2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
CIÊNCIA DO SOLO**

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO ASSOCIADA À CULTURA  
DE CANA DE AÇÚCAR: EFICIÊNCIA E CONTRIBUIÇÃO DA  
INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS**

**NIVALDO SCHULTZ**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Segundo Urquiaga**

*Co-orientação*  
**Verônica Massena Reis e**

**Eduardo Lima**

Tese submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Doutor em  
Ciências**, no Curso de Pós-Graduação  
em Agronomia, Área de Concentração  
em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ  
Abril de 2012

633.61

S387f

T

Schultz, Nivaldo, 1978-

Fixação biológica de nitrogênio associada à cultura de cana de açúcar: eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas / Nivaldo Schultz – 2012.

126 f.

Orientador: Segundo Urquiaga.

Tese(doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 116-126.

1. Cana-de-açúcar – Adubos e fertilizantes - Teses.
2. Cana de açúcar - Inoculação - Teses.
3. Cana de açúcar - Cultivo - Teses.
4. Nitrogênio - Fixação – Teses.
5. Bactérias nitrificantes – Teses. I. Urquiaga Caballero, Segundo Sacramento, 1950-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA-CIÊNCIA DO SOLO**

**NIVALDO SCHULTZ**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

TESE APROVADA EM: 24/04/2012

---

Segundo Urquiaga. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Orientador)

---

José Ivo Baldani. Ph.D. Embrapa Agrobiologia

---

David Vilas Boas de Campos. Dr. Embrapa Solos

---

Marcos Gervasio Pereira. Dr. UFRRJ

---

José Carlos Polidoro. Dr. Embrapa Solos

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais-avós Guilherme e Elisa Schultz (in memoriam)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ser o pai criador da Terra e tudo o que nela existe, e sempre estar com aqueles que buscam seus objetivos e caminhos baseados em seus ensinamentos.

Ao CPGA-CS – Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Ao CNPAB – Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia.

Aos orientadores Segundo Urquiaga, Veronica Massena Reis, Bruno José Rodrigues Alves, Robert Michael Boddey e Eduardo Lima pela dedicação e o bom convívio ao longo desse período.

Ao grupo de Ciclagem de Nutrientes da Embrapa Agrobiologia

Ao Campus Dr. Leonel Miranda, UFRRJ.

A colaboração das usinas parceiras deste projeto.

A todas as Instituições que apoiaram o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas bolsistas e estagiários da Embrapa Agrobiologia que colaboraram com o trabalho duro no campo, nos laboratórios e nas discussões dos resultados.

Ao professor Marcio Bassetti que assumiu o papel do pai que nunca conheci, dando incentivo para que eu chegasse onde hoje estou.

Aos primos Wilson Kempin, Arlindo Kempin e Hilário Kempin que sempre me incentivaram e apoiaram financeiramente todas as vezes que precisei.

A todos meus familiares e amigos, especialmente Raphael Pavesi Araújo que sempre depositaram muita confiança em mim.

A minha esposa, meu anjo Evelyne Cunha Lima Schultz, que sempre esteve ao meu lado, ajudando a tornar-me um homem sonhador e motivado a buscar todos os dias os meus ideais de forma sincera, honesta e transparente.

Aos meus filhos, Guilherme, Sophia e Eva, para os quais preciso ser exemplo e lutar muito para que sejam pessoas de bem.

Enfim, agradeço a todas as pessoas e instituições que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Meu muito obrigado a todos.

## **BIOGRAFIA**

Nivaldo Schultz, nascido em Nova Venécia, ES, é Técnico em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Colatina, ES, onde ingressou em 1999 formando-se em 2001. Ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2002, onde obteve o Título de Engenheiro Agrônomo em 2007. Foi estagiário do laboratório de Gênese, Morfologia e Física do Solo da UFRRJ entre 2002 e 2005, bolsista de Iniciação Científica pelo CNPq entre 2005 e 2007. Concluiu o Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo entre os anos de 2007 e 2009, orientado pelo Professor Eduardo Lima e co-orientado pelo Professor Marcos Gervasio Pereira da UFRRJ. Concluiu o Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo da UFRRJ entre 2009 a 2012, sob a orientação dos Pesquisadores da Embrapa Agrobiologia Segundo Sacramento Urquiaga Caballero, Veronica Massena Reis, Bruno José Rodrigues Alves e o professor Eduardo Lima da UFRRJ.

## RESUMO GERAL

SCHULTZ, Nivaldo. **Fixação biológica de nitrogênio associada à cultura de cana de açúcar: eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas**. 2012. 119f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

A cultura de cana de açúcar pode obter metade do nitrogênio através do estabelecimento de diferentes bactérias diazotróficas sendo dependente do genótipo e das condições edafoclimáticas. Para que a cultura se beneficie de ganhos adicionais desta interação foi realizado este trabalho que procurou avaliar a contribuição do inoculante composto de cinco espécies de bactérias diazotróficas na nutrição nitrogenada e na produtividade da cana de açúcar em diferentes regiões produtoras do Brasil (Capítulo 1) e quantificar o estoque de C e N do solo em um estudo de longo prazo com dez variedades em condições de ausência de aplicações de N-fertilizante baseado na contribuição natural das bactérias fixadoras (Capítulo 2). No primeiro capítulo foram instalados sete experimentos em áreas comerciais de usinas produtoras de açúcar e álcool e um no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, onde foram avaliadas doze variedades comerciais (Híbridos de *Saccharum* sp.) com ou sem inoculação. As variedades RB867515 e a RB72454 foram adotadas como referência em todos os ensaios de inoculação e comparadas a um controle com aplicação de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições, com parcelas que variaram de 22,4 a 90 m<sup>2</sup>. O inoculante foi composto por uma mistura de cinco bactérias diazotróficas. No segundo capítulo foram avaliados o potencial produtivo e a fixação de N naturalmente associada às variedades RB72454, CB4789, CB453, SP70-1143, SP79-2312, SP71-1406, SP71-6163, SP70-1284 e as cultivares krakatau (*Saccharum spontaneum*) e Chunee (*Saccharum barberi*). Os parâmetros avaliados nos dois capítulos foram o peso fresco de colmos, palha e folhas-bandeira no momento da colheita no campo, acúmulo de matéria seca, N total da parte aérea das plantas e a contribuição da fixação biológica de N (FBN). Para quantificar o N derivado da FBN foi adotada a técnica da abundância natural de <sup>15</sup>N, utilizando como referência a cana de açúcar não inoculada e plantas não fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico, todas cultivadas em amostras de solo das áreas experimentais em casa de vegetação. A adubação nitrogenada e a inoculação promoveram incrementos na produtividade de colmos da variedade RB867515 em 87,5% dos experimentos. O inoculante promoveu incremento na produtividade de colmos superior a 10% em 80% dos experimentos avaliados, porém não aumentou a contribuição do processo de FBN nos genótipos testados, sugerindo que o benefício proporcionado pelo inoculante na cana de açúcar pode ser efeito de promotores de crescimento de plantas. No estudo de longo prazo, sem aplicação de N-fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas, as variedades mantiveram o potencial produtivo em solo de baixa fertilidade natural com contribuição de aproximadamente 50% do N proveniente da FBN. Os estoques de C e N do solo do estudo de longo prazo foram reduzidos, no entanto, o balanço de N no sistema solo-planta foi positivo para duas das três variedades, a CB47-89 e SP70-1143.

**Palavras – chave:** *Saccharum* sp. Inoculante. Abundância natural de <sup>15</sup>N.

## GENERAL ABSTRACT

SCHULTZ, Nivaldo. **Biological nitrogen fixation in sugarcane crops: efficiency and contribution of diazotrophic bacteria inoculation.** 2012. 119p. Thesis (Doctor in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2012

The association between the sugarcane plant and symbiotic N<sub>2</sub> fixing bacteria can account for the production of up to half of the nitrogen (N) content of sugarcane crops, and N-fixing efficiency depends on plant genotype, soil and climatic conditions. To maximize the benefits from this plant/bacteria interaction, the present study tested the inoculation of sugarcane plants with a bacterial consortium of five diazotrophic species and evaluated N nutrition and stalk productivity in different sugarcane-growing regions of Brazil (Chapter 1). In addition, a long-term study determined soil carbon (C) and nitrogen (N) stocks of 10 sugarcane varieties cultivated without N-fertilization (Chapter 2). Chapter 1 describes an experiment that evaluated 12 commercial hybrid varieties of *Saccharum* sp, inoculated or not with the bacterial consortium, installed in seven sugar/ethanol mills, and another in the Experimental Field of *Embrapa Agrobiologia*. Two of the sugarcane varieties tested, RB867515 and RB72454, were also compared with a control treatment receiving 120 kg N ha<sup>-1</sup>. The experiment was conducted in a randomized block design with four replications and plots ranging from 22.4 to 90 m<sup>2</sup>. Chapter 2 describes a study on the natural potential of stalk production and N-fixing efficiency of sugarcane varieties RB72454, CB4789, CB453, SP70-1143, SP79-2312, SP71-1406, SP71-6163, SP70-1284, Krakatau (*Saccharum spontaneum*) and Chuneé (*Saccharum barberi*). The parameters evaluated in both chapters were fresh weight of stalks, straws and flag-leaves at harvest time, dry biomass accumulation, N content in the shoots, and contributions from biological N fixation (BNF). The <sup>15</sup>N natural abundance technique was used to quantify N derived from BNF, using non-inoculated sugarcane and non-fixing plants grown under greenhouse conditions in soil taken from the experimental plots as reference. In variety RB867515, N-fertilization and bacterial inoculation increased stalk yield in 87.5% of the experiments. The bacterial inoculum increased crop yield by more than 10% in 80% of the experiments, but since it did not enhance BNF contributions in the genotypes tested, the benefits provided are likely a consequence of the growth-promoting effects of the inoculum. In the long-term study, without the use of N-fertilizer and with complete removal of post-harvest residues, the sugarcane varieties tested maintained their production potential in low-fertility soils, obtaining BNF contributions of approximately 50% of plant N. Moreover, C and N stocks were reduced in the long-term study, whereas N balance in the soil-plant system was positive for two (CB47-89 and SP70-1143) of the three varieties tested.

**Key words:** *Saccharum* sp. Inoculum. <sup>15</sup>N natural abundance.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Espécies de bactérias endofíticas, estirpes, variedades e respectivas partes das plantas de cana de açúcar onde foram isoladas..... 19
- Tabela 2.** Características químicas do solo da área experimental. (Campo Experimental – Embrapa Agrobiologia)..... 23
- Tabela 3.** Características químicas dos solos das áreas experimentais das usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, RJ. .... 25
- Tabela 4.** Características químicas do solo da área experimental da usina Cruangi – Fazenda Maravilha, PE..... 27
- Tabela 5.** Características químicas do solo da área experimental da usina Cruangi – Timbaúba, PE..... 29
- Tabela 6.** Características químicas do solo da área experimental da usina Coruripe – AL..... 31
- Tabela 7.** Características químicas de solo da área experimental da usina Cruz Alta – grupo Guarani, SP. .... 32
- Tabela 8.** Características químicas de solo da área experimental da usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN, SP. .... 34
- Tabela 9.** Resumo de características edafoclimáticas reinantes nas áreas experimentais ..... 35
- Tabela 10.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas utilizando diferentes veículos para a inoculação e o controle - Campo Experimental Embrapa Agrobiologia, RJ ..... 37
- Tabela 11.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas utilizando diferentes veículos para a inoculação e o controle - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ ..... 38
- Tabela 12.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por três colheitas consecutivas em um PLANOSSOLO HÁPLICO no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ40
- Tabela 13.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ ..... 41
- Tabela 14.** Matéria seca e N total parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ..... 43
- Tabela 15.** Açúcares totais recuperáveis e produtividade de açúcar de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em um CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada,

inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	44
<b>Tabela 16.</b> Delta $^{15}\text{N}$ de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um em CAMBISSOLO FLÚVICO na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	46
<b>Tabela 17.</b> Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	47
<b>Tabela 18.</b> Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	48
<b>Tabela 19.</b> Açúcares totais recuperáveis e produtividade de açúcar de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	49
<b>Tabela 20.</b> Delta $^{15}\text{N}$ de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um em ARGISSOLO AMARELO na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ.....	51
<b>Tabela 21.</b> Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar cultivadas por quatro colheitas consecutivas em PLANOSSOLO HÁPLICO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi - Fazenda Maravilha, Goiana, PE.....	52
<b>Tabela 22.</b> Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar de segunda e terceira soqueiras, cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE.....	53
<b>Tabela 23.</b> Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO por quatro colheitas consecutivas com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE.....	54
<b>Tabela 24.</b> Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO por quatro colheitas consecutivas com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE.....	55
<b>Tabela 25.</b> Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE.....	56

<b>Tabela 26.</b> Delta <sup>15</sup> N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um PLANOSSOLO HÁPLICO na usina Cruangi - Fazenda Maravilha, Goiana, PE .....	58
<b>Tabela 27.</b> Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO, com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	59
<b>Tabela 28.</b> Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por dois anos consecutivos em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	60
<b>Tabela 29.</b> Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	61
<b>Tabela 30.</b> Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	62
<b>Tabela 31.</b> Delta <sup>15</sup> N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivada em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO na usina Cruangi, Timbaúba, PE .....	64
<b>Tabela 32.</b> Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca total e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	65
<b>Tabela 33.</b> Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	65
<b>Tabela 34.</b> Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle, na usina Coruripe, Coruripe, AL .....	66
<b>Tabela 35.</b> Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	67
<b>Tabela 36.</b> Delta <sup>15</sup> N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por dois anos em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	69

- Tabela 37.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de quatro variedades de cana de açúcar cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP ..... 70
- Tabela 38.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de quatro variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO, com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP..... 71
- Tabela 39.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP ..... 72
- Tabela 40.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP ..... 73
- Tabela 41.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP..... 74
- Tabela 42.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO por três anos consecutivos na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP ..... 77
- Tabela 43.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de cinco variedades de cana de açúcar, primeira e segunda soqueira, cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP ..... 78
- Tabela 44.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de cinco variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP ..... 79
- Tabela 45.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP ..... 80
- Tabela 46.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP ..... 81
- Tabela 47.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivada em ARGISSOLO VERMELHO na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP ..... 83

<b>Tabela 48:</b> Resumo da produtividade de colmos de cana de açúcar nas variedades RB867515 e RB72454, submetidas aos tratamentos com adubação nitrogenada, inoculação e o controle sem adubação nitrogenada e sem inoculação.....	86
<b>Tabela 49:</b> Resumo da produtividade de colmos nas variedades submetidas à inoculação com bactérias diazotróficas e o controle sem inoculação. ....	88
<b>Tabela 50.</b> Características químicas da área experimental em diferentes avaliações ao longo do período de experimentação (1989-2011) .....	94
<b>Tabela 51.</b> Produtividade de colmos frescos e acúmulo de matéria seca de dez variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ.....	99
<b>Tabela 52.</b> Acúmulo de N total da parte aérea de dez variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ.....	99
<b>Tabela 53.</b> Nitrogênio total (mg vaso <sup>-1</sup> ) acumulado pelas plantas testemunhas cultivadas em amostras de solo da área experimental e seus respectivos valores de delta <sup>15</sup> N (‰)....	100
<b>Tabela 54.</b> Delta <sup>15</sup> N (‰) das plantas testemunhas resultante da ponderação entre o N total acumulado por vaso (mg vaso <sup>-1</sup> ) e seu respectivo valor de delta <sup>15</sup> N .....	101
<b>Tabela 55.</b> Abundância natural de delta <sup>15</sup> N de folhas-bandeira e percentual de N derivado da FBN de dez variedades de cana de açúcar. ....	102
<b>Tabela 56.</b> Balanço de N no sistema solo-planta em três variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ. (60 cm de profundidade). ....	104
<b>Tabela 57.</b> Estoques e balanço de C e N do solo cultivado com três variedades de cana de açúcar e pastagem com braquiária ( <i>Urochloa</i> sp) por vinte um anos (1989 – 2011) sem aplicação de fertilizantes nitrogenados e remoção total da palhada da cana de açúcar (60 cm de profundidade) .....	105

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Precipitação média mensal registrada na região de Seropédica, RJ, entre os anos 2007 a 2010. ....	23
<b>Figura 2.</b> Precipitação média mensal registrada na região de Campos dos Goytacazes, RJ, entre os anos 2006 a 2010. ....	24
<b>Figura 3.</b> Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruangi – Fazenda Maravilha entre os anos de 2007 a 2011. ....	26
<b>Figura 4.</b> Modelo de croqui adotado nos experimentos com diferentes delineamentos experimentais. ....	28
<b>Figura 5.</b> Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruangi – Timbaúba entre os anos de 2009 a 2011. ....	29
<b>Figura 6.</b> Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Coruripe entre os anos de 2009 e 2011. ....	31
<b>Figura 7.</b> Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruz Alta – Grupo Guarani entre os anos de 2008 a 2011. ....	32
<b>Figura 8.</b> Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN entre os anos de 2008 a 2011. ....	33
<b>Figura 9.</b> Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta $^{15}\text{N}$ (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo do experimento do campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Painço ( <i>Panicum mileaceum</i> ); Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> ); Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ). ....	39
<b>Figura 10.</b> Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta $^{15}\text{N}$ (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Santa Cruz S.A. Painço ( <i>Panicum mileaceum</i> ); Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> ); Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ). ....	45
<b>Figura 11.</b> Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta $^{15}\text{N}$ (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Sapucaia S.A. Painço ( <i>Panicum mileaceum</i> ); Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> ); Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ). ....	50
<b>Figura 12.</b> Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta $^{15}\text{N}$ (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruangi – Fazenda Maravilha. Painço ( <i>Panicum mileaceum</i> ); Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> ); Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ). ....	57
<b>Figura 13.</b> Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta $^{15}\text{N}$ (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruangi – Timbaúba. Painço ( <i>Panicum mileaceum</i> ); Milheto ( <i>Pennisetum glaucum</i> ); Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> ). ....	63

- Figura 14.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Coruripe, Coruripe, AL. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). ..... 68
- Figura 15.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância natural de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruz Alta, grupo Guarani, SP. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). ..... 75
- Figura 16.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). ..... 82
- Figura 17.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da área experimental. Painço (*Panicum mileaceum*); capim pé de galinha (*Eleusine indica*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). ..... 101
- Figura 18.** Densidade do solo da área experimental e de pastagem adotada como testemunha para quantificar os estoques de C e N do solo. ..... 103
- Figura 19.** Relação C/N do solo cultivado com três variedades de cana de açúcar por vinte e um anos sem aplicação de N fertilizante e sem a manutenção da palhada após as colheitas..... 104

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. A Cultura de Cana de Açúcar no Brasil.....	4
2.2. Cenário Brasileiro e Mundial do Setor Sucoenergético .....	4
2.3. Importância Ambiental e Socioeconômica .....	4
2.4. Consumo de Nitrogênio Estimado no Setor Sucoenergético – Safra 2010/11 .....	5
2.5. Impactos da Adubação Nitrogenada no Meio Ambiente.....	6
2.6. Importância do Nitrogênio para a Cana de Açúcar.....	6
2.7. Adubação Nitrogenada em Cana-planta .....	6
2.8. Adubação Nitrogenada em Soqueiras de Cana de Açúcar.....	7
2.9. Fontes Alternativas à Adubação Nitrogenada.....	8
2.10. Evidências da Fixação Biológica de Nitrogênio em Cana de Açúcar .....	8
2.11. Evidências de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas.....	10
2.12. Fixação Biológica de Nitrogênio-Promoção de Crescimento de Plantas .....	10
2.13. O Inoculante para Cana de Açúcar .....	11
2.14. Fatores que Afetam a Interação Planta-Bactéria.....	12
2.15. Sustentabilidade do Potencial Produtivo da Cana de Açúcar .....	12
2.16. Influência da Fixação Biológica de Nitrogênio no Estoque Carbono e Nitrogênio em Solos Cultivados com Cana de Açúcar .....	13
2.17. Produção de Energia de Segunda Geração .....	13
2.18. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio.....	14
3. CAPÍTULO I.....	15
AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E CONTRIBUIÇÃO DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA PRODUTIVIDADE E NUTRIÇÃO NITROGENADA DA CULTURA DE CANA DE AÇÚCAR.....	15
RESUMO .....	16
ABSTRACT .....	17
3.1. INTRODUÇÃO.....	18
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.2.1. Procedimentos comuns a todos os ensaios. ....	19
3.2.2. Preparo do inoculante .....	19
3.2.3. Preparo do solo e plantio .....	20
3.2.4. Adubação e inoculação de soqueiras .....	20
3.2.5. Colheita, avaliações agronômicas, preparo e análises de amostras .....	20
3.2.6. Avaliação da FBN na cana de açúcar em função da inoculação.....	20
3.2.7. Variação da abundância natural do isótopo <sup>15</sup> N no perfil do solo .....	21
3.2.8. Estatística .....	22
3.2.9. Experimento implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ... 22	
3.2.10. Experimentos implantados nas usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ .....	24
3.2.11. Experimento implantado na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE.... 26	
3.2.12. Experimento implantado na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	29
3.2.13. Experimento implantado na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	30
3.2.14. Experimento implantado na usina Cruz Alta - grupo Guarani, Olímpia, SP.....	31

3.2.15. Experimento implantado na usina Univalem - grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP.....	33
3.2.16. Resumo das características de solo e clima das áreas experimentais .....	34
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
3.3.1. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado no Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ.....	36
3.3.2. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Santa Cruz S.A, RJ .....	40
3.3.3. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na Usina Sapucaia S.A, RJ.....	46
3.3.4. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE .....	51
3.3.5. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruangi, Timbaúba, PE.....	59
3.3.6. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Coruripe, Coruripe, AL.....	64
3.3.7. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruz Alta, Grupo Guarani, Olímpia, SP.....	69
3.3.8. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Univalem, Grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP .....	77
3.3.9. Resumo Geral de Produtividade de Colmos do Conjunto de Experimentos Avaliados .....	84
3.4. CONCLUSÕES .....	89
4. CAPITULO II.....	90
POTENCIAL PRODUTIVO DE DIFERENTES VARIEDADES DE CANA DE AÇÚCAR EM FUNÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E ESTOQUE DE CARBONO DO SOLO .....	90
RESUMO .....	91
ABSTRACT .....	92
4.1. INTRODUÇÃO.....	93
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	94
4.2.1. Localização e condução do experimento .....	94
4.2.2. Avaliações agronômicas e o balanço de N no sistema solo-planta em dez variedades de cana de açúcar .....	95
4.2.3. Avaliação do estoque de nitrogênio e carbono orgânico do solo.....	96
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	98
4.3.1. Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e nitrogênio total da parte aérea das plantas.....	98
4.3.2. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na nutrição nitrogenada da cana de açúcar .....	100

4.3.3. Estoque de nitrogênio e carbono no solo cultivado por três variedades de cana de açúcar .....	102
4.4. CONCLUSÕES .....	106
5. CONCLUSÕES GERAIS .....	107
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	108
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	109

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo da cana de açúcar no Brasil acompanha o país ao longo de sua história, desde a chegada dos primeiros colonizadores, sendo inicialmente cultivada basicamente para a produção de açúcar e aguardente pelos donos de engenhos nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil. Favorecida pelas condições edafoclimáticas encontradas no Brasil, a cana de açúcar expandiu-se rapidamente, de modo que no final do século XVI, os Estados de Pernambuco e Bahia possuíam juntos mais de cem engenhos, sendo o país nesta época líder mundial na produção de açúcar, o qual era praticamente todo exportado para a Europa.

Nos séculos seguintes o cultivo da cana de açúcar no Brasil passou por momentos de glória e decadência, em virtude de interesses políticos mundiais e dos próprios produtores que encontravam em outras culturas formas de obter lucros mais expressivos. No entanto, por tratar-se de uma cultura de manejo relativamente simples, muito bem adaptada às condições edafoclimáticas brasileiras e com várias opções de geração de lucros para os produtores, ela nunca desapareceu do cenário da economia brasileira.

A importância desta cultura ficou ainda mais expressiva com o advento da crise do petróleo ocorrida em meados da década de 1970, momento a partir do qual o mundo passou a buscar na cana de açúcar a solução para amenizar o problema do desabastecimento de combustível, a partir da produção de etanol para a utilização direta em motores a explosão ou em mistura com a gasolina. Diante desse novo contexto histórico mundial e o alto potencial da cultura nas condições edafoclimáticas brasileiras o governo brasileiro implantou o maior programa bioenergético do mundo denominado PROÁLCOOL. No entanto, em meados dos anos 80 o PROÁLCOOL sofreu retrações acentuadas em virtude principalmente da elevação dos preços do açúcar no mercado mundial, fazendo com que a maior parte da cana de açúcar produzida no Brasil fosse destinada à produção de açúcar.

No entanto, com o surgimento da crescente preocupação com a sustentabilidade do planeta no final do século XX e início do século XXI, a cana de açúcar voltou a ser destaque como fonte de combustíveis renováveis e cogeração de energia elétrica a partir de resíduos da indústria canavieira. Além disso, o advento dos veículos bicombustíveis impulsionou o cultivo da cana de açúcar no mundo, principalmente no Brasil.

Atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de cana de açúcar, com previsão para a safra 2011/2012 de 9,5 milhões de hectares de área plantada, produtividade média  $72,4 \text{ Mg ha}^{-1}$  e produção total de 662 milhões de toneladas de colmos. Um dos fatores de primordial importância para o sucesso do programa bioenergético brasileiro, diz respeito ao balanço energético positivo da cultura de cana de açúcar para a produção de combustível, cujo valor é de aproximadamente nove, podendo chegar a doze caso elimine-se o uso de fertilizantes nitrogenados na produção, diminuam-se as perdas industriais e haja um maior aproveitamento dos subprodutos da indústria. O elevado balanço positivo, quando comparado a outros países produtores cujo balanço energético do etanol de cana de açúcar raramente é superior a um, deve-se em grande parte, aos bons rendimentos da cultura com baixas aplicações de fertilizantes nitrogenados. Em países produtores de cana de açúcar, como Estados Unidos, Cuba, Venezuela e Peru, as adições de fertilizantes nitrogenados estão entre 200 e  $400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  de N, três a sete vezes maiores do que no Brasil.

Apesar da aplicação de fertilizantes nitrogenados na cana de açúcar no Brasil ser baixa, o montante final aplicado por ano no país torna-se elevado devido a grande área cultivada. Os fertilizantes nitrogenados apresentam características desfavoráveis no setor sucroenergético pela elevação do custo de produção e por requerer elevada demanda de energia fóssil por unidade de N fertilizante produzido. Partindo do moderno contexto mundial de produzir energia renovável de forma sustentável, a busca por fontes nitrogenadas

alternativas tornou-se fonte de pesquisa de especialistas que visam reduzir o custo de produção e ao mesmo tempo minimizar os impactos ambientais de monoculturas tais como a cana de açúcar. Associado à novas fontes de fertilizantes nitrogenados, encontram-se em andamento diversos trabalhos com os mais variados produtos que visam aumentar a eficiência da adubação nitrogenada, uma vez que a ureia, fonte nitrogenada mais difundida no mundo atualmente apresenta elevadas perdas principalmente pelo processo de volatilização.

A nutrição nitrogenada é fator determinante para que a cultura expresse seu potencial produtivo genético, no entanto diversas variedades desenvolvidas pelos Programas de Melhoramento Genético de Cana de Açúcar no Brasil apresentam alto potencial produtivo mesmo sob condições de solos de baixa fertilidade natural, principalmente de N. Este elevado potencial produtivo da cana de açúcar ao longo de décadas e até mesmo séculos, chamou a atenção de um grupo de especialistas em fertilidade de solo e nutrição de plantas do Centro Nacional de Pesquisas em Agrobiologia, atualmente Embrapa Agrobiologia, situada no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. Baseados na hipótese de que a cultura da cana de açúcar poderia estar formando associações com bactérias capazes de fixar  $N_2$  atmosférico, um grupo de pesquisadores liderados pela Dr<sup>a</sup> Johanna Doberëiner iniciou nas décadas de 1960 e 1970 os estudos sobre a fixação biológica de nitrogênio (FBN) nesta cultura. Desde então muitos avanços foram feitos, podendo se destacar a descoberta de várias espécies de bactérias diazotróficas associadas à cana de açúcar, a contribuição da FBN em até 70% em algumas variedades e o lançamento do inoculante para a cana de açúcar, desenvolvido pela Embrapa Agrobiologia.

O inoculante para a cana de açúcar é uma tecnologia inovadora, com a qual se espera aumentar a eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados na cana de açúcar, uma vez atualmente a maioria das variedades comerciais possuem potencial genético de produção superior à trezentas toneladas de colmos por hectare. Diversos estudos desenvolvidos em laboratórios e casas de vegetação comprovam o efeito benéfico da associação de bactérias diazotróficas à cultura de cana de açúcar, seja pela FBN ou pelo efeito de fitormônios promotores de crescimento das plantas, que podem promover alterações no sistema radicular, aumentando assim a eficiência de aproveitamento no N aplicado no solo.

Outro aspecto importante que vem sendo debatido atualmente é a produção de energia a partir da biomassa da palhada produzida pela cana de açúcar, seja pela degradação desta por microrganismos celulolíticos ou pela queima direta para a produção de energia elétrica. Entretanto, pouco se sabe sobre o impacto desse tipo de tecnologia na manutenção e conservação da qualidade do solo, uma vez que implica na redução de resíduos culturais sobre a superfície do solo. As respostas às diversas perguntas que precisam ser respondidas sobre o uso desta tecnologia deverão ser obtidas em estudos de longo prazo, os quais proporcionarão maior confiança na tomada de decisão, principalmente por tratar-se de uma tecnologia estratégica para ampliar a matriz energética do país, e que requer grandes investimentos. Entre as formas de avaliar o impacto da redução da biomassa vegetal sobre o solo, a avaliação dos estoques de C e N no solo, associados à manutenção do potencial produtivo da cultura de interesse ao longo do tempo, é sem dúvida uma das metodologias mais indicadas.

Assim, a justificativa para o desenvolvimento deste estudo é que é necessário ampliar os conhecimentos sobre o melhor aproveitamento do potencial genético da cana de açúcar, associado à maior eficiência no uso de fertilizantes nitrogenados, aumentando desta forma o balanço energético da cana de açúcar e ao mesmo tempo minimizando o impacto da cultura na emissão de Gases de Efeito Estufa.

Com base no contexto exposto acima a hipótese científica para o primeiro capítulo deste estudo é que o inoculante a base de bactérias diazotróficas para a cana de açúcar aumenta a eficiência produtiva da cultura, com o aumento da eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados e/ou a redução dos mesmos. Para o segundo capítulo a hipótese científica é que

a FBN naturalmente associada à cana de açúcar favorece o potencial produtivo da cultura, a manutenção dos estoques de C e N no solo, possibilitando o uso de parte da biomassa da parte aérea da cultura para a produção de energia de segunda geração.

Os objetivos foram: identificar variedades de cana de açúcar responsivas ao inoculante bacteriano e ampliar os conhecimentos sobre a eficiência e contribuição do inoculante no aumento do potencial produtivo da cana de açúcar. Com o segundo capítulo pretende-se ampliar os conhecimentos sobre o potencial produtivo da cana de açúcar decorrente da FBN naturalmente associada à cultura, e sua capacidade de conservar o solo mediante a avaliação dos estoques de C e N.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. A Cultura de Cana de Açúcar no Brasil**

A cana de açúcar é uma das culturas agrícolas que acompanha o desenvolvimento e a história do Brasil. As primeiras mudas de cana chegaram ao Brasil em 1502, trazidas da Ilha da Madeira, sendo efetivamente cultivada comercialmente a partir de 1532 por iniciativa de Martim Afonso de Souza (DE CARLI, 1936, citados por FIGUEIREDO (2008). Ao longo dos cinco séculos de história do país, a cana de açúcar passou por grandes mudanças, principalmente no que diz respeito ao melhoramento genético, visando sempre aumentar sua eficiência produtiva (LANDELL e BRESSSIANI, 2008).

Nos últimos anos a cana de açúcar foi uma das culturas que mais cresceu no Brasil avançando sobre novas fronteiras, influenciando de forma decisiva no desenvolvimento econômico, social e cultural das regiões onde novas unidades são instaladas. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2011), o segundo levantamento de safra realizado em agosto de 2011 mostrou que a cana de açúcar continua em expansão no Brasil, com destaque para os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Goiás e Mato Grosso, sendo 38,04% desta expansão ocorridos na região Sudeste.

### **2.2. Cenário Brasileiro e Mundial do Setor Sucroenergético**

Nos últimos quarenta anos o setor sucroenergético brasileiro apresentou crescimento contínuo, tornando o país o maior produtor mundial de cana de açúcar, seguido da Índia, China, Estados Unidos, Austrália e Tailândia (NEVES et al. 2011). Esta expansão continua, embora em ritmo menos acelerado nos últimos dois anos, sendo divulgado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE-SIDRA, 2011) a previsão para a safra 2011/2012, área plantada de 9,5 milhões de hectares, produtividade média estimada em 72,4 Mg ha<sup>-1</sup> e produção total de 662 milhões de toneladas.

Dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Companhia Nacional de Abastecimento Brasileiro (CONAB) apresentados por Neves et al. (2011), mostram a evolução na produção de açúcar e álcool brasileiro da safra 1970/71 a 2009/10. Segundo os autores na safra de 1970/71 a produção de açúcar e álcool era de 5,1 milhões de toneladas e aproximadamente 400 milhões de litros de etanol, respectivamente. Na safra de 2009/10 estes montantes atingiram 34,6 milhões de toneladas de açúcar e 26 bilhões de litros de álcool. O crescimento da produção de açúcar ao longo destes anos (1970/71 a 2009/10) foi de 577%, representando 46,5% de todo o açúcar produzido no mundo na safra 2009/10.

Apesar da desaceleração ocorrida no setor nos últimos anos, decorrente da crise mundial em 2008 e 2009, o setor continua em crescimento pela elevada demanda energética no mundo, principalmente pelo aumento da frota de carros flex e a elevação dos preços do açúcar no mercado mundial (NEVES et al., 2011). Segundo a União da Indústria de Cana de Açúcar (UNICA, 2012), o Brasil precisa produzir aproximadamente 1,37 bilhões de toneladas de cana de açúcar nos anos de 2020/2021 para não ocorrer déficit de abastecimento de etanol no mercado interno e para cumprir seus contratos de exportação.

### **2.3. Importância Ambiental e Socioeconômica**

A cana de açúcar é uma cultura que proporciona o aproveitamento de 100% de seus resíduos, despertando no meio científico o interesse de muitos especialistas e resultando em diversas linhas de pesquisas. A importância da biomassa como objeto de estudo tornou-se inegável na sociedade moderna (DANALATOS et al., 2007; RAVINDRANATH et al., 2006,

QUESADA, 2005). No Brasil, segundo dados do Balanço Energético Nacional Brasileiro do ano base de 2010 (EPE, 2011) os derivados de cana de açúcar contribuíram com 17,7% da oferta interna de energia, sendo superior à ofertada pela energia elétrica e hidráulica, que contribuíram com 14,0% do total de todas as fontes. A biomassa tem sido usada, por exemplo, na geração de eletricidade e no programa gasohol nos EUA (ROBERTSON and SHAPOURI, 1993). Apesar de todos os benefícios que a energia gerada de diferentes fontes propõe à humanidade, sua produção é a principal atividade humana geradora dos Gases do Efeito Estufa (GEE) com 57 % das emissões, sendo o CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e o N<sub>2</sub>O os principais gases, e a cana de açúcar é atualmente a cultura de destaque nessa discussão (SCARPINELLA, 2002).

O setor sucroenergético brasileiro tem sido alvo de muitas críticas por diversos setores da sociedade ao longo dos anos em que se desenvolveu, no entanto, a ciência tem mostrado que a contribuição da cultura da cana de açúcar na redução das emissões de CO<sub>2</sub> é de grande relevância, visto que o balanço energético da cana de açúcar brasileira é de 8:1 e a emissão de CO<sub>2</sub> de etanol de cana de açúcar brasileira é 85% inferior à emissão da queima de combustíveis fósseis (IEA, 2011). Estudos recentes realizados pela Embrapa Agrobiologia tem confirmado que nas condições atuais de produção desta cultura, o balanço energético da produção de etanol de cana do Brasil varia ao redor de 9,35 unidades de energia produzida por cada unidade de energia fóssil investida na sua produção (SOARES et al., 2009).

Em termos de importância socioeconômica, segundo dados da União da Indústria da Cana de Açúcar (UNICA, 2012), o setor atualmente conta com 432 usinas em funcionamento, englobando aproximadamente 70 mil fornecedores de matéria prima para a indústria sucroenergética, com geração de 1,28 milhões de empregos diretos e Produto Interno Bruto (PIB) de 28 bilhões de dólares, levando desenvolvimento e prosperidade às regiões produtoras. Os números apresentados neste tópico, embasados por órgãos de pesquisas e especialistas renomados não deixam dúvidas da importância desta cultura no desenvolvimento do país, não devendo ser esquecida a busca constante por novas tecnologias e produtos que tornem o setor cada vez mais eficiente, competitivo e sustentável. Dados da Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP, 2011) mostram que grande parte do impulso na geração de empregos no estado de São Paulo está relacionada ao setor sucroenergético, com 63% dos 46 mil novos postos de trabalhos criados em abril de 2011, ligados ao setor sucroenergético.

#### **2.4. Consumo de Nitrogênio Estimado no Setor Sucroenergético – Safra 2010/11**

A cana de açúcar é uma cultura semiperene, na qual aproximadamente 20 a 25% da área plantada são renovados anualmente (VITTI et al., 2008). O conhecimento do consumo de fertilizantes utilizados anualmente nas principais culturas torna-se uma ferramenta importante para o planejamento estratégico, visando desta forma, atender a demanda destes insumos sem comprometer a produtividade e conseqüentemente a produção. As doses de fertilizantes nitrogenados utilizadas nas áreas de cana de açúcar no Brasil são, em média, de 40 kg ha<sup>-1</sup> de N na cana-planta e de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N nas soqueiras (NUNES JUNIOR et al., 2005). Apesar de estas doses serem consideradas baixas, a dimensão da área cultivada resulta em grandes volumes anuais de fertilizantes, principalmente nitrogenados.

Em levantamento realizado por Cunha et al. (2010), o consumo total de N na agricultura brasileira no ano de 2009 foi de 2,5 milhões de toneladas. Neste mesmo ano a Associação Nacional para Difusão de Adubos – (ANDA, 2009) contabilizou a aplicação de N na cana de açúcar (safra 2009/2010) e concluiu que este montante foi de 538,65 mil toneladas de N. Tomando como referência as informações da ANDA (2009) e Cunha et al. (2010) conclui-se que no ano de 2009 a cana de açúcar foi responsável pelo consumo de 21,5% de todo o N utilizado na agricultura brasileira. Esses números mostram a importância da cana de açúcar no consumo de fertilizantes nitrogenados no Brasil e apontam para a necessidade de se

buscar fontes alternativas, uma vez que os fertilizantes nitrogenados fazem parte da lista de insumos agrícolas responsáveis pela geração de gases de efeito estufa (GEE) com grande impacto no aquecimento global (CRUTZEN et al., 2007; SOARES et al., 2009).

## **2.5. Impactos da Adubação Nitrogenada no Meio Ambiente**

Diversas pesquisas desenvolvidas em diversas partes do mundo mostram os impactos dos fertilizantes nitrogenados utilizados na agricultura na emissão de gases de efeito estufa (GEEs). Entre os GEEs mais importantes estão o CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e o N<sub>2</sub>O, sendo que o CH<sub>4</sub> e o N<sub>2</sub>O possuem potencial de efeito estufa 21 e 310 vezes maior que o CO<sub>2</sub>, respectivamente (SOARES et al., 2009). A grande preocupação quanto à utilização de fertilizantes nitrogenados está estreitamente relacionada ao fato de as maiores emissões de N<sub>2</sub>O ocorrerem na aplicação destes fertilizantes no solo (IPCC, 2006). Segundo o IPCC (2006), o fator de emissão de N<sub>2</sub>O do N aplicado ao solo é de 1%, no entanto, trabalhos realizados no Brasil em condições de clima tropical, indicam que em solos de boa drenagem como é o caso da maior parte dos solos agrícolas brasileiros este fator pode ser muito menor chegando a 1 décimo do fator adotado pelo IPCC (2006) (DAVIDSON et al., 2001; JANTALIA et al., 2008). Este baixo fator obtido nos estudos realizados em solos brasileiros não deve ser utilizado como referência conclusiva, tendo em vista que ainda se sabe muito pouco sobre o real impacto da atividade agrícola nas mudanças climáticas e muitos estudos precisam ainda ser realizados em diferentes condições edafoclimáticas para que padrões internacionais sejam estabelecidos (SOARES et al., 2009). De qualquer forma, a busca por sistemas produtivos sustentáveis deve ser permanente, mesmo sob a possibilidade de qualquer risco eminente não ser real.

## **2.6. Importância do Nitrogênio para a Cana de Açúcar**

O N é o segundo nutriente mais absorvido pela cana de açúcar, depois do K (COLETI et al., 2002). Apesar de fazer parte de apenas 1% da matéria seca da cana de açúcar, possui papel fundamental no desenvolvimento e potencial produtivo da cultura, sendo constituinte obrigatório de proteínas e ácidos nucleicos, atuando direta e indiretamente em diversos processos bioquímicos, enzimáticos e fazendo parte da molécula de clorofila (CARNAÚBA, 1990; MALAVOLTA et al., 1997).

Os sintomas mais nítidos da deficiência de N na cana de açúcar são a clorose das folhas mais velhas, diminuição da atividade meristemática da parte aérea, redução do tamanho dos perfilhos, área foliar e longevidade das folhas. Assim, a carência de N afeta todo o processo fotossintético e de assimilação de CO<sub>2</sub>, tornando deficiente a produção de esqueletos de C, resultando na redução do potencial produtivo e da longevidade do canavial (MALAVOLTA et al., 1997).

## **2.7. Adubação Nitrogenada em Cana-planta**

Após revisão em trabalho realizado por Espironello et al. (1980), o autor relata que na maioria dos experimentos conduzidos em diversos países foram obtidas respostas positivas à adubação nitrogenada em cana de açúcar. No entanto, no Brasil, o autor verificou que em apenas 35% dos experimentos avaliados, a adubação nitrogenada promoveu aumento na produção de cana-planta. Cantarella e Raij (1985) verificaram que em apenas 40% de um total de 81 experimentos realizados no Estado de São Paulo houve resposta à adubação nitrogenada em cana-planta. Orlando Filho et al. (1999) constataram que a adubação nitrogenada no plantio refletiu no maior vigor das soqueiras, aumentando a produção nos cortes subsequentes, entre a cana de açúcar com adubação e sem adubação nitrogenada. Azeredo et al. (1986) relataram que em apenas 19 % dos experimentos com aplicação de N fertilizante em cana-planta houve resposta significativa à adubação com este nutriente. Otto et al. (2009), estudando a fitomassa de raízes e da parte aérea da cana de açúcar relacionada à adubação

nitrogenada de plantio em dois solos diferentes (LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO eutrófico e LATOSSOLO VERMELHO Distrófico), verificaram que a adubação nitrogenada de plantio promoveu aumento no crescimento de raízes e da parte aérea da cana-planta em LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO eutrófico, no entanto, no LATOSSOLO VERMELHO Distrófico com grande quantidade de N orgânico incorporado ao solo por meio de resíduos culturais, a adubação nitrogenada de plantio não afetou o crescimento de raízes e da parte aérea da cana-planta. Existem relatos de que em cana de ano, ou seja, ciclo de 12 meses ocorre maior frequência de resposta à adubação nitrogenada do que em cana de ano e meio (ciclo de 18 meses). Orlando-Filho e Rodella (1995) e Korndorfer et al. (1997; 2002) observaram que em solos de textura leve a cana-planta pode ser altamente responsiva à adubação nitrogenada. Avaliando a produtividade e os atributos tecnológicos de cana-planta em relação a adubação nitrogenada, Franco et al. (2010) verificaram que houve incremento de produtividade, bem como alterações na qualidade tecnológica da cana de açúcar em função da adubação nitrogenada.

Segundo Vitti et al. (2008), vários fatores estão associados as baixas respostas de cana-planta à adubação nitrogenada, entre os quais a mineralização da matéria orgânica do solo e dos restos culturais da própria cana que é acelerada no momento do preparo do solo. Sampaio et al. (1985) e Araújo et al. (2001) estudando a mineralização do C e N em solo cultivado com cana de açúcar, verificaram que o N mineralizado de solos cultivados com cana de açúcar foi suficiente para atender à demanda da cana-planta. Outros fatores como o maior vigor do sistema radicular da cana-planta comparado ao da soqueira, a melhoria da fertilidade do solo associada à calagem, a incorporação de restos culturais do ciclo anterior, a adubação feita na reforma do canal, a menor demanda inicial por nutrientes da cana-planta, as perdas de N fertilizante por lixiviação e a contribuição do N dos toletes de plantio (mudas) podem estar favorecendo as baixas respostas da cana-planta à adubação nitrogenada. Além dos fatores mencionados acima, nas últimas décadas, grande ênfase tem sido dada a FBN associada à cana de açúcar (DÖBEREINER 1959, 1961; DÖBEREINER & RUSCHEL, 1958; BODDEY, 2003; URQUIAGA et al., 1992, 2011).

Além dos fatores citados anteriormente o acúmulo de erros experimentais associados a ensaios de adubação em condições de campo e a avaliação de resultados de ensaios isolados com pequenos incrementos na produtividade em razão da adubação nitrogenada, induzem muitos técnicos a considerar que a cana-planta pode dispensar a aplicação de fertilizantes nitrogenados (VITTI et al., 2008). No entanto, Marinho e Barbosa (1996) analisaram cento e quarenta e um ensaios conduzidos na região Nordeste do Brasil, os quais, no conjunto, apresentaram resposta significativa à adubação nitrogenada, embora isso nem sempre fosse verdadeiro para ensaios avaliados isoladamente. Com base em análises conjuntas de avaliações de resposta da cana de açúcar à adubação nitrogenada Cantarella et al. (2007) reuniram resultados de setenta e quatro ensaios e concluíram que apesar de serem em muitos casos pequenos, os incrementos de produtividade obtidos em cana-planta em função da adubação nitrogenada são significativos.

## **2.8. Adubação Nitrogenada em Soqueiras de Cana de Açúcar**

Nas soqueiras, a resposta à adubação nitrogenada é maior e com maior frequência, requerendo inclusive doses mais elevadas em relação à cana-planta. Desde os primeiros trabalhos realizados nos anos 80, observou-se que nas soqueiras a fertilização nitrogenada promovia incrementos expressivos (AZEREDO et al., 1980; ALBUQUERQUE e MARINHO, 1983; ZAMBELLO A AZEREDO, 1983). Segundo Raj et al. (1996), para Estado de São Paulo a recomendação varia de 60 a 120 kg ha<sup>-1</sup>, dependendo da produtividade esperada. Segundo Nunes Junior et al. (2005) a dose de fertilizante nitrogenado recomendada nas soqueiras de cana de açúcar no Brasil atualmente é de 80 kg ha<sup>-1</sup>. Estudando a resposta da

cana de açúcar a adubação nitrogenada em soqueira colhida mecanicamente sem a queima prévia, Vitti (2003) obteve resposta linear na produtividade de colmos até a dose de 175 kg ha<sup>-1</sup> de N. Boddey et al. (2001) e Urquiaga et al. (2003) afirmam que o manejo e o tipo de solo influenciam na eficiência da adubação nitrogenada em soqueiras de cana de açúcar. Estudando o efeito de doses de adubação nitrogenada e potássica em cobertura na cultura da cana de açúcar (variedade SP79-1011) primeira soca, com e sem irrigação, Moura et al. (2005) observou que houve resposta linear da cana de primeira soca a adubação nitrogenada até a dose de 236 kg ha<sup>-1</sup> de N. Este autor afirma ainda que esta dose pode não ter sido suficiente para que a cultura expressasse seu máximo potencial produtivo. Estudando o efeito residual da adubação na cana-planta e da adubação nitrogenada com ureia e potássica na cana de primeira soca, colhidas com e sem a queima da palhada, Schultz et al. (2010) obtiveram incremento no rendimento de colmos de 32,8 Mg ha<sup>-1</sup> e 46,1 Mg ha<sup>-1</sup> quando a cana de primeira soca recebeu 80 kg ha<sup>-1</sup> de N incorporado ao solo + vinhaça, na cana colhida crua e queimada, respectivamente, em relação ao tratamento que recebeu somente vinhaça.

Segundo Vitti et al. (2008), é provável que as doses de N atualmente recomendadas para a cana de açúcar estejam subestimando o potencial de resposta econômica deste elemento em lavouras com materiais genéticos mais produtivos, cultivados em ambientes de alto rendimento e com elevada quantidade de resíduos culturais de alta relação C:N.

Apesar da unanimidade em torno da resposta de soqueiras de cana de açúcar à adubação nitrogenada, existem relatos de estudos onde não foi constatado efeito de adubação nitrogenada na produtividade da cultura, principalmente em função do manejo e da variedade (RESENDE et al., 2006; SCHULTZ et al., 2012).

## **2.9. Fontes Alternativas à Adubação Nitrogenada**

Parte da adubação nitrogenada da cana de açúcar pode ser substituída por fontes alternativas oriundas da própria indústria canavieira, onde destacam-se a vinhaça (GLÓRIA & ORLANDO FILHO, 1983; SCHULTZ et al., 2010) e a torta de filtro (ELSAYED et al., 2008; BARRY et al., 2001); lodo de esgoto urbano (FRANCO et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2004); adubos verdes (AMBROSANO et al. 2005; DUARTE JUNIOR e COELHO, 2008; UMRIT et al., 2009); Ajifer (sub produto da indústria alimentícia rico em N e S) VITTI e HEIRINCHS, 2007) e o uso de inoculante composto por bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico (OLIVEIRA et al., 2003; 2006; MUÑOZ-ROJAS e CABALLERO-MELLADO, 2003; SILVA et al., 2009; REIS et al., 2009; PEREIRA, 2011; SCHULTZ et al., 2012); e promotoras de crescimento vegetal através da síntese de fitormônios (SUMANT et al., 2001; SAUBIDET et al., 2002; FUENTES-RAMÍREZ et al., 1993; ROESCH et al., 2005; VIDEIRA et al., 2012).

Apesar dos avanços feitos no Brasil quanto ao uso de fontes alternativas de N, ainda existem contradições quanto ao seu uso e eficiência. O Brasil é o maior detentor mundial da tecnologia do inoculante para a cana de açúcar, apesar de ainda haver grandes divergências de opiniões em torno do assunto (BALDANI et al. 2009).

## **2.10. Evidências da Fixação Biológica de Nitrogênio em Cana de Açúcar**

A cultura de cana de açúcar acumula quantidades elevadas de N, podendo chegar a valores em torno de 200 kg ha<sup>-1</sup> no ciclo de cana-planta e de 120 a 180 kg ha<sup>-1</sup> nas soqueiras (ORLANDO FILHO et al., 1980; URQUIAGA et al. 1992). Aproximadamente 70% do N acumulado na biomassa da parte aérea da cana de açúcar é exportado nos colmos destinados à indústria (SCHULTZ et al., 2010). Partindo do princípio de que no Brasil as doses de N aplicadas no cultivo de cana de açúcar são modestas, ao longo do tempo deveria ocorrer a exaustão de N do solo e redução de produtividade, haja vista, que o N é um dos nutrientes mais limitantes no potencial produtivo das plantas. Se a saída de N do sistema solo-planta é

maior que a reposição, isto indica que a cultura possui um sistema natural de reposição de N eficiente (URQUIAGA et al., 2011). Com base nestas evidências diversos estudos sugerem que esta reposição de N seja proveniente do processo de FBN (LIMA et al., 1987; DOBEREINER, 1992; URQUIAGA et al., 1992, 2011; BODDEY et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2003, 2006).

A hipótese de FBN na cana de açúcar foi embasada nos trabalhos pioneiros de Döbereine (1953) quando foi verificada a ocorrência de *Azotobacter chroococcum* em solos ácidos da Baixada fluminense, no Estado do Rio de Janeiro e nos anos seguintes a presença de *Beijerinckia fluminensis* associada à rizosfera de cana de açúcar (DÖBEREINER & RUSCHEL, 1958) e *Azotobacter paspali* associada à rizosfera de *Paspalum notatum*, cultivar batatais (DÖBEREINER, 1966), sendo essas duas últimas fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico.

Outro fator preponderante que reforçou a hipótese da FBN associada à cana de açúcar é o fato que a cultura responde pouco e com baixa frequência à adubação nitrogenada. Em um levantamento realizado nas principais áreas produtoras de cana de açúcar do país, Azeredo et al. (1986) relataram que em apenas 19% dos experimentos com aplicação de N fertilizante em cana-planta houve resposta significativa à adubação com este nutriente, o que tem sido confirmado em trabalhos recentes, inclusive para cana soca, por vários autores (RESENDE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2003, 2006; SCHULTZ et al., 2012). Estes resultados são muito expressivos, uma vez que a maioria dos solos cultivados com cana de açúcar no Brasil possui baixa fertilidade natural, principalmente em N.

As bactérias constituintes do inoculante para cana de açúcar, desenvolvido pela Embrapa Agrobiologia são: *Azospirillum amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983); *Herbaspirillum seropedicae* (BALDANI et al., 1986b); *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BALDANI et al., 1996); *Gluconacetobacter diazotrophicus* (CAVALCANTE & DÖBEREINER, 1988) e *Burkholderia tropica* (REIS et al., 2004). Estas bactérias possuem características muito importantes, que levam a acreditar que sejam as principais responsáveis pelas altas taxas de FBN associadas à cultura de cana de açúcar (BALDANI et al., 1997; BALDANI et al. 2009).

Fazendo-se uso de metodologias modernas, *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp., não têm sido encontradas nos solos, mesmo em amostras das entrelinhas de plantas de cana de açúcar, aparecendo somente em raízes, colmos e folhas, assim, estas espécies são conhecidas como bactérias endofíticas obrigatórias (BALDANI et al., 1997, SEVILLA et al., 2001). Uma forte razão para se acreditar que as bactérias diazotróficas que vivem no interior das plantas de cana sejam as principais responsáveis pela FBN nesta cultura é a possibilidade de as bactérias obterem foto assimilados em abundância, estarem num ambiente com baixa concentração de O<sub>2</sub> e, estando nestas condições, o N fixado poderia ser rapidamente assimilado pela planta hospedeira (REIS JÚNIOR et al., 2000). Experimentos em laboratório, onde foram cultivados juntos, em meio de cultura, *G. diazotrophicus* e uma levedura amilolítica, usado como um sistema modelo para representar a interação planta-bactéria mostraram que 50% do N fixado pela bactéria foi transferido para a levedura, desde o início da cultura, o que sugere que esta rápida transferência também pode ocorrer para a planta hospedeira (COJHO et al., 1993).

Trabalhando com as estirpes selvagem e mutante nif (não fixadora de N<sub>2</sub>) de PAL5 de *G. diazotrophicus*, crescendo em atmosfera marcada com <sup>15</sup>N<sub>2</sub>, Sevilla et al. (2001) demonstraram significativa contribuição da FBN na nutrição de plantas de cana de açúcar, no entanto, os mecanismos que envolvem a colonização das plantas pelas bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, como o próprio processo de FBN, ainda não estão totalmente elucidados (OLIVEIRA et al. 2009). Sabe-se que em cana de açúcar, estas bactérias podem ser transferidas nos toletes, que servem como propágulos, havendo também a possibilidade de que associações micorrízicas tenham um papel importante na infecção das plantas por estas bactérias, como

foi demonstrado para a espécie *G. diazotrophicus* por Paula et al., (1991). Resultados preliminares são muito promissores (OLIVEIRA et al., 2002; 2006; REIS et al., 2009; SILVA et al., 2009; SCHULTZ et al., 2012), mas ao que parece existe um componente genético na interação planta-bactéria que afeta não apenas a eficiência da inoculação como até mesmo o processo de FBN (NOGUEIRA et al., 2005).

### 2.11. Evidências de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas

Segundo diversos autores, os benefícios da interação planta-bactérias diazotróficas não são exclusivamente do processo de FBN (KAPULNIK et al., 1985; SEVILLA et al., 2001; BASHAN et al., 2004). Diversos estudos realizados com diferentes culturas sugerem que bactérias diazotróficas podem atuar também na promoção de crescimento de plantas (*plant growth-promoting bacteria* - *PGPBs*), principalmente alterando a morfologia do sistema radicular das plantas, influenciando assim de forma positiva o desenvolvimento e a produtividade de várias culturas de interesse econômico (BASHAN et al., 2004). As *PGPBs* são normalmente conhecidas como biofertilizantes e promovem o crescimento vegetal especificamente através do aumento da disponibilidade de nutrientes ou favorecendo acesso aos mesmos através do incremento da área superficial das raízes (SOMERS et al. 2004). Um dos principais fenômenos conhecidos na interação planta-*PGPBs* é a síntese de fitormônios, principalmente o ácido indolacético (AIA) (FUENTES-RAMÍREZ et al., 1993). Avaliando isolados de bactérias diazotróficas endofíticas de cana de açúcar na Índia, Suman et al. (2001), verificaram que *Gluconacetoacter diazotrophicus* promoveu a produção de ácido indolacético e a solubilização de fosfatos. Em trabalho realizado por Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), plantas micropropagadas de cana de açúcar (variedade MEX 57-473) inoculadas com *Glucocetobacter diazotrophicus* - estirpe PAL5<sup>T</sup>, cultivadas em vermiculita esterilizada apresentaram aumentos no peso de matéria seca de raízes, parte aérea e no acúmulo de N total, apesar de os teores de N total terem sido inferiores ao tratamento controle. Estes autores acreditam que os benefícios ocorridos para a cana de açúcar na presença de *Glucocetobacter diazotrophicus* - estirpe PAL5<sup>T</sup> pode ter sido proveniente de seu efeito promotor de crescimento de plantas.

Outros estudos mostram ainda que bactérias que formam interação com vegetais, principalmente na rizosfera podem promover aumento da solubilização de fosfatos (SINGH et al., 2007; SHUKLA et al., 2008), aumento no teor de carbono orgânico do solo, aumento de N e retenção de nutrientes essenciais na rizosfera, em função da elevação da população de microrganismos presentes na interface solo-rizosfera-raiz (YADAV et al., 2009).

As bactérias diazotróficas mais estudadas como BPCPs associativas, ou seja, que não formam simbiose com a planta hospedeira, são as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum* (BASHAN & de-BASHAN, 2005). Segundo Martin et al. (1989); Roesch et al. (2005) e Sala et al. (2005), a inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* spp em plantas de trigo promoveu várias modificações na morfologia das raízes, como aumento em número, comprimento, área e aumento na absorção mineral, possivelmente, relacionadas a substâncias promotoras de crescimento, secretadas pelas bactérias. É importante ressaltar que todas as bactérias dos gêneros mencionados estão associadas naturalmente com a cana de açúcar.

### 2.12. Fixação Biológica de Nitrogênio-Promoção de Crescimento de Plantas

Pela técnica da abundância natural de delta <sup>15</sup>N, a FBN promove a diluição isotópica de <sup>15</sup>N no tecido vegetal (UNKOVICH et al., 2008; URQUIAGA et al. 2011). No entanto, se ocorre o enriquecimento do isótopo <sup>15</sup>N em profundidade no solo, o cálculo da FBN pode ser prejudica, uma vez que com o aumento do processo de FBN ocorrerá maior desenvolvimento da planta, principalmente do sistema radicular, que vai absorver maior quantidade de N nas camadas mais profundas do solo onde valores do isótopo <sup>15</sup>N são mais elevados (LEDGARD

et al., 1984; URQUIAGA et al., 2011; SCHULTZ et al., 2012). Assim, o pressuposto de que plantas fixadoras (cana de açúcar inoculada) e o controle (cana de açúcar não inoculada) devem crescer em ambientes com a mesma estabilidade e uniformidade de marcação com isótopo  $^{15}\text{N}$  não é atendido, impossibilitando a real quantificação do processo de FBN (UNKOVICH et al., 2008).

Por outro lado, se o inoculante promove o aumento de desenvolvimento do sistema radicular da cana de açúcar inoculada, em função de promotores de crescimento, os valores de delta  $^{15}\text{N}$  da cana de açúcar inoculada deveriam ser superiores aos valores de delta  $^{15}\text{N}$  da cana de açúcar não inoculada (controle), porém se a promoção de crescimento do sistema radicular através de fitormônios ocorrer simultaneamente ao processo de FBN, os valores de delta  $^{15}\text{N}$  absorvidos em maiores profundidades, que deveriam ser maiores podem sofrer diluição pela FBN e comprometer a interpretação dos resultados do efeito positivo do inoculante no desenvolvimento da cultura da cana de açúcar (SCHULTZ et al., 2012).

Com base nos pressupostos apresentados nos parágrafos anteriores, o aumento de produtividade de colmos, matéria seca e N total da cana de açúcar inoculada, em relação ao controle não inoculado, sem a atuação efetiva do processo de FBN ou aumento dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas bandeiras em solos que apresentam enriquecimento do isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade, pode ser resultante do somatório dos dois fenômenos, ou seja, a FBN e promotores de crescimento atuando de forma conjunta. Assim, torna-se difícil inferir sobre qual efeito é mais relevante na interação planta-bactéria. Avaliando o desenvolvimento de plantas de cana de açúcar com inoculação de uma estirpe de *Gluconacetobacter* e uma mutante Nif negativa, Sevilla et al. (2001) concluíram que outros fatores, além da FBN podem proporcionar benefícios com a inoculação de bactérias diazotróficas.

### **2.13. O Inoculante para Cana de Açúcar**

O inoculante para a cana de açúcar é resultado de muitos anos de pesquisas realizadas principalmente pelo Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia - Embrapa Agrobiologia (REIS et al., 2009). O biofertilizante é composto por uma mistura de cinco bactérias, sendo elas: *Azospirillum amazonense*; *Herbaspirillum seropedicae*; *Herbaspirillum rubrisubalbicans*; *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica*, todas isoladas de tecidos de diferentes variedades de cana de açúcar (OLIVEIRA et al., 2003). Todas as estirpes foram descritas pela Embrapa Agrobiologia e apresentam como principais características a fixação biológica de N e a síntese de fitormônios (REIS et al., 2009).

O primeiro estudo com aplicação do inoculante em ensaio de campo foi realizado nas variedades comerciais SP70-1143 e SP81-3250, em três condições edafoclimáticas diferentes por dois anos consecutivos (OLIVEIRA et al., 2006). Os resultados destes ensaios mostraram que a eficiência do inoculante é dependente da fertilidade do solo, sendo os melhores resultados observados no solo de baixa fertilidade natural. Em dois ensaios realizados com as variedades comerciais RB72454 e RB867515, em áreas de cultivos comerciais nas usinas Santa Cruz S.A (CAMBISSOLO FLÚVICO) e Sapucaia S.A (ARGISSOLO AMARELO), região de Campos dos Goytacazes, norte do Estado do Rio de Janeiro, verificou-se que o inoculante promoveu incrementos na produtividade de colmos de forma similar a adubação com  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, nos ciclos de cana-planta, primeira e segunda socas (REIS et al., 2009; SCHULTZ et al., 2012). Estes resultados corroboram aqueles encontrados por Silva et al. (2009), em estudo realizado com as mesmas variedades em um PLANOSSOLO HÁPLICO, localizado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, município de Seropédica, RJ.

Os estudos preliminares de ensaios realizados em condições de campo sugerem que o inoculante para cana de açúcar é uma tecnologia promissora, que vai de encontro aos novos conceitos de agricultura sustentável, uma vez que pode proporcionar a eliminação, redução ou até mesmo o melhor aproveitamento do N fertilizante aplicado na cultura da cana de açúcar,

embora estes resultados não sejam constantes para todas as variedades e colheitas, o que não ocorre nem mesmo com os fertilizantes nitrogenados, para os quais muito mais estudos já foram desenvolvidos no Brasil e no mundo.

#### **2.14. Fatores que Afetam a Interação Planta-Bactéria**

Em estudos que avaliam o processo de FBN associado às plantas, alguns fatores como disponibilidade de água, fundamental para qualquer processo biológico, devem ser colocados em primeiro plano (BODDEY et al., 2003). A importância de adequados níveis de umidade do solo para a fixação biológica de N<sub>2</sub> atmosférico, associada tanto às leguminosas como às não leguminosas já é conhecida e apontada por diversos especialistas como primordial (WEIER, 1980; BODDEY & DÖBEREINER, 1984; BODDEY et al. 2003).

Outro fator muito importante para o aperfeiçoamento do processo de FBN consiste na nutrição adequada das plantas com micronutrientes, especialmente molibdênio, uma vez que este elemento é essencial para a síntese e atividade das enzimas nitrogenase, responsáveis pela FBN, e da redutase do nitrato, que possibilita a assimilação do N do solo pela planta. Trabalhos realizados por Urquiaga et al. (1996, 1999) e Polidoro (2001a), indicam aumento significativo na produção de colmos com a simples aplicação de 1 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio em solos com baixa disponibilidade deste nutriente, reduzindo a influência do N proveniente de fontes minerais. Um aspecto a ser observado quando se trata de FBN em espécies não leguminosas é o forte efeito que o genótipo da planta pode exercer sobre a eficiência da fixação de N<sub>2</sub> (OLIVEIRA et al., 2006; URQUIAGA et al., 1992, 2011). Urquiaga et al. (1992) relataram que os cultivares híbridos comerciais de cana CB45-3 e SP70-1143 apresentaram valores médios de FBN (3 anos de estudo) ao redor de 60% do total de N acumulado pela planta, enquanto SP79-2312, NA56-79, CB47-89, SP71-799 e IAC52-150 obtiveram valores de menor significância. Experimentos realizados por Reis Júnior (1998), buscando encontrar respostas para estas diferenças varietais relacionadas com a FBN e, baseando-se na hipótese de que variedades diferentes apresentariam características distintas em relação à população de diazotróficos endofíticos, qualitativa e quantitativamente, chegou à conclusão de que todas as bactérias estudadas puderam ser isoladas em proporções similares nos quatro genótipos avaliados, tanto nas variedades eficientes como SP70-1143 e CB45-3, como na variedade Chuneé (*Saccharum barberi*), comprovadamente de baixa eficiência para a fixação biológica de N<sub>2</sub>.

Intensificar os estudos que procurem entender os fatores que afetam a associação da planta com as bactérias diazotróficas na cana de açúcar é uma necessidade. Alguns autores (MUTHUKUMARASAMY et al., 1999; REIS JUNIOR et al., 2000), têm observado que plantas de cana crescendo em solos adubados com altas doses de N fertilizante apresentam redução na população de bactérias diazotróficas. Assim, pode-se deduzir que a FBN associada a culturas não leguminosas, como a cana de açúcar, funciona de forma complementar a disponibilidade de N do solo, de modo similar ao que ocorre com leguminosas, mas isto ainda precisa ser mais bem entendido.

#### **2.15. Sustentabilidade do Potencial Produtivo da Cana de Açúcar**

A manutenção do potencial produtivo da cana de açúcar ao longo dos anos em solos de baixa fertilidade natural é resultado de um conjunto de fatores proporcionados pelas condições edafoclimáticas das regiões tropicais e subtropicais, onde se concentram os grandes cultivos da cultura por todo o mundo. Dentre estes fatores estão à descoberta nas décadas de 1950 e 1960 do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) naturalmente associado à cana de açúcar. Desde então, diversos estudos foram desenvolvidos no intuito de ampliar os conhecimentos sobre o fenômeno da FBN em plantas da família das *Poaceas* e ao mesmo tempo quantificar a contribuição deste processo na nutrição nitrogenada das plantas

(BALDANI et al. , 2009). Estudos realizados com diversas variedades no Brasil mostram significativa contribuição da FBN na nutrição nitrogenada (LIMA et al. 1987; URQUIAGA et al. 1992; BODDEY et al. 2001; OLIVEIRA et al. 2003; ). Avaliando o balanço de N em um solo cultivado com diferentes variedades de cana de açúcar durante 15 anos Urquiaga et al. (2011) verificaram que na maioria das variedades a FBN contribui com pelo menos 40 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N, proporcionando ao solo balanço positivo deste elemento.

## **2.16. Influência da Fixação Biológica de Nitrogênio no Estoque Carbono e Nitrogênio em Solos Cultivados com Cana de Açúcar**

A relação carbono/nitrogênio (C/N) no tecido vegetal da cana de açúcar é aproximadamente de 75:1 (TRIVELIN et al., 1995). Segundo Canellas et al. (2007) no solo esta relação entre estes dois elementos ocorre de forma estreita, ou seja, a variação de um implica na variação do outro. Assim, o aumento do estoque de N no solo (URQUIAGA et al., 2011) resulta na elevação do estoque de carbono orgânico no solo (COS). O resultado da elevação dos estoques de C e N no solo favorece a sustentabilidade do sistema, uma vez que o aumento no estoque de COS melhora as condições físicas, químicas e biológicas do solo (CANELLAS et al., 2003) e é fundamental para a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola (MIELNICZUK et al., 2003). Com base neste contexto, o processo de FBN associado à cana de açúcar afeta de maneira positiva não somente a nutrição nitrogenada da cultura, e sim, o estado nutricional das plantas como um todo. Possivelmente, a elevação dos estoques de C e N em solos cultivados com cana de açúcar seja o fator preponderante para explicar o elevado potencial produtivo e a sustentabilidade da cultura, mesmo em condições adversas de solos, principalmente pobres em N.

A cultura da cana de açúcar tem alto potencial de acúmulo de biomassa, tanto da parte aérea quanto do sistema radicular, podendo acumular entre 10 a 20 Mg ha<sup>-1</sup> de matéria seca de palhada (folhas secas + folhas-bandeira) na cana-planta e entre 8 a 12 Mg ha<sup>-1</sup> nas soqueiras (SCHULTZ et al., 2010). Quanto ao sistema radicular, Otto et al. (2009) avaliando a fitomassa de raízes e da parte aérea da cana de açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio em dois solos diferentes verificaram acúmulo de matéria seca de raízes médios em torno de 1,6 Mg ha<sup>-1</sup> aos seis meses, 5,1 Mg ha<sup>-1</sup> aos dez meses e 2,2 Mg ha<sup>-1</sup> aos 15 meses, no controle. Estes resultados mostram que ao final do ciclo (aos quinze meses) grande parte do sistema radicular quantificado aos seis meses foi incorporado ao solo, levando a inferir que ao longo dos anos pode ocorrer o aumento do estoque de carbono no solo, elevando também o estoque de N, uma vez que os dois elementos apresentam relação estreita (CANELLAS et al. 2007). Baseado nestas premissas é possível que o sistema de produção de cana de açúcar se mantenha sustentável, mesmo com extração de parte da biomassa produzida na parte aérea para produção de energia de segunda geração. Segundo Hassuani et al. (2005), a manutenção de 50% da palhada sobre o solo é o suficiente para proteger o solo de processos erosivos, promover a ciclagem de nutrientes e preservar a umidade do solo.

## **2.17. Produção de Energia de Segunda Geração**

A busca por novas fontes de energia é atualmente um desafio para a sociedade, sendo a energia renovável produzida a partir da biomassa vegetal uma das alternativas mais viáveis, tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental. O Brasil já é exemplo de sustentabilidade por utilizar em sua matriz energética 46,8% de fontes renováveis, enquanto a média mundial é de apenas 14%. Nos últimos anos diversas empresas privadas do setor energético e o governo vêm juntando esforços na busca pelo ponto de equilíbrio sustentável do sistema produtivo de cana de açúcar, para que se faça uso de parte da biomassa produzida para a produção de energia de segunda geração. No entanto, não é fácil encontrar este ponto de equilíbrio, uma vez que somente resultados de ensaios de longa duração podem refletir a

estabilidade do sistema produtivo, bem como sua manutenção ao longo dos anos.

## 2.18. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio

A técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  baseia-se no fato de que geralmente o N do solo é levemente enriquecido com o isótopo  $^{15}\text{N}$  em comparação ao  $\text{N}_2$  do ar (SHEARER & KOHL, 1986). O  $\text{N}_2$  atmosférico apresenta cerca de 0,3663% de  $^{15}\text{N}$  e o restante (99,6337%) de  $^{14}\text{N}$  (UNKOVICH et al., 2008). No entanto, devido à discriminação isotópica que ocorre durante as transformações do N no sistema solo-planta, ambos podem apresentar valores de  $^{15}\text{N}$  um pouco maiores que os encontrados na atmosfera (SHEARER & KOHL, 1986). Estas variações são extremamente pequenas, então se convencionou empregar a unidade delta, sendo que cada unidade de delta  $^{15}\text{N}$  seria a abundância natural dividida por mil, ou seja, 0,0003663 átomos % de  $^{15}\text{N}$  em excesso. Espécies capazes de obter da atmosfera a maior parte do N necessário para sua nutrição, apresentarão valores de delta  $^{15}\text{N}$  bem próximos a zero, uma vez que a maior parte virá do  $\text{N}_2$  atmosférico que é o padrão da técnica, e possui 0,3663 % de  $^{15}\text{N}$ , ou seja, zero unidades de delta  $^{15}\text{N}$  em excesso. Por outro lado, as espécies não fixadoras crescendo no mesmo solo, terão valores de delta  $^{15}\text{N}$  mais elevados e próximos aos do solo, uma vez que todo ou a maior parte do N necessário para o seu desenvolvimento será derivado do N disponível no solo.

A uniformidade da marcação de  $^{15}\text{N}$  do N disponível do solo para as plantas, no tempo e em profundidade, é um dos pressupostos para a utilização da técnica de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  para quantificação da FBN, desde que as plantas testemunhas tenham enraizamento e marcha de absorção de N do solo similares aos da planta em avaliação (UNKOVICH et al., 2008). Esta limitação pode ser contornada selecionando-se espécies referências, com desenvolvimento radicular e demanda de N semelhantes à planta avaliada. No caso da avaliação da influência da inoculação na FBN da cana de açúcar, o controle poderá ser a própria cana de açúcar não inoculada, devendo-se ressaltar que o efeito do inoculante no desenvolvimento do sistema radicular pode comprometer o resultado da quantificação do N derivado da FBN, uma vez que o inoculante pode alterar a morfologia do sistema radicular, o que já foi constatado em estudos com inoculação de bactérias diazotróficas na cultura de trigo (ROESCH et al., 2005). Em estudo desenvolvido por SCHULTZ et al. (2012) foram constatadas fortes evidências de que o inoculante pode influenciar a marcha de absorção do N disponível no solo, provavelmente alterando a morfologia do sistema radicular, comprometendo assim a quantificação do N derivado do processo de FBN.

É conhecido que os solos geralmente apresentam menores valores de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  na camada superficial, com aumento progressivo em profundidade, principalmente na zona de maior concentração do sistema radicular da cana de açúcar (LEDGARD et al., 1984; URQUIAGA et al., 2011; SCHULTZ et al. 2012). Assim, plantas que possuem condições favoráveis para o desenvolvimento de seu sistema radicular em profundidade, onde ocorre o enriquecimento com o isótopo  $^{15}\text{N}$ , podem apresentar maiores valores de delta  $^{15}\text{N}$  em seu tecido vegetal quando comparadas a plantas que apresentam sistema radicular pouco desenvolvido e superficial (SCHULTZ et al., 2012).

Partindo do pressuposto do parágrafo anterior, é possível inferir, ainda que de forma indireta, que o inoculante influencia no desenvolvimento do sistema radicular e na parte aérea da cana de açúcar pelo efeito de hormônios vegetais, sintetizados pelas bactérias que compõem o inoculante. A síntese de fitormônios e a influência dos mesmos na morfologia do sistema radicular de plantas são conhecidas pela comunidade científica, com relatos de diversos especialistas e podem promover melhor aproveitamento de nutrientes e água do solo (FUENTES-RAMIREZ et al., 1993; SUMAN et al., 2001; BASHAN et al., 2004; ROESCH et al., 2005; YADAV et al., 2009; PARTIDA-MARTÍNEZ & HEIL, 2011).

### **3. CAPÍTULO I**

## **AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA E CONTRIBUIÇÃO DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA PRODUTIVIDADE E NUTRIÇÃO NITROGENADA DA CULTURA DE CANA DE AÇÚCAR**

## RESUMO

O inoculante bacteriano para a cultura da cana de açúcar pode ser uma alternativa econômica e ambientalmente viável, uma vez que atende tanto os interesses econômicos, por tratar-se de um produto de baixo custo, quanto os interesses ambientais por não apresentar riscos ao meio ambiente. Por tratar-se de um produto biológico que sofre influência do meio e do próprio genótipo da cultura é importante que sejam desenvolvidos ensaios nas diferentes regiões produtoras. Baseado nestas premissas o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência e a contribuição do inoculante na nutrição nitrogenada e na produtividade da cana de açúcar em diferentes variedades e regiões produtoras. Para isso, foram instalados oito experimentos nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições. As variedades testadas foram RB867515, RB72454, RB98710, RB93509, RB92579, RB935744, RB855453, SP81-3250, CTC2, CTC4, CTC15 e IAC94-4004. As variedades RB867515, RB72454 foram avaliadas com três tratamentos, sendo inoculação com bactérias diazotróficas, adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> e o controle experimental (sem inoculação ou adubação). As demais variedades foram avaliadas apenas com inoculação e o controle experimental. O inoculante foi composto por uma mistura de cinco bactérias diazotróficas: *Azospirillum amazonense*; *Herbaspirillum seropedicae*; *Herbaspirillum rubrisubalbicans*; *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica*. Os parâmetros avaliados foram o peso fresco de colmos, palha e folhas-bandeira no momento da colheita, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea das plantas, a fixação biológica de N e a produtividade de açúcar. Para quantificar o N derivado da fixação biológica foi adotada a técnica da abundância natural de <sup>15</sup>N, utilizando como referência a cana de açúcar não inoculada e plantas não fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico, crescidas em amostras de solo das áreas experimentais, cultivadas em casa de vegetação. Este estudo contribuirá significativamente no direcionamento de novas linhas de pesquisa para o entendimento dos benefícios do inoculante para a cana de açúcar, bem como para o aumento da eficiência produtiva da cana de açúcar com a adubação nitrogenada, uma vez que alguns especialistas acreditam que o inoculante pode melhorar a eficiência de aproveitamento do N do solo e de fontes nitrogenadas. O inoculante promove aumentos na produtividade em algumas variedades, ao passo que em outras pode resultar na redução de produtividade, indicando efeito negativo da interação planta-bactéria. A adubação nitrogenada e a inoculação promoveram incrementos na produtividade de colmos da variedade RB867515 em 87,5% dos experimentos. O inoculante promoveu incremento na produtividade de colmos superior a 10% em 80% dos experimentos avaliados. O inoculante não aumentou potencial de FBN na cana de açúcar, dando indícios de que o benefício proporcionado pelo inoculante na cana de açúcar pode ser efeito de promotores de crescimento de plantas. A fixação biológica de N naturalmente associada à cana de açúcar contribui com aproximadamente 50% do N acumulado na parte aérea das plantas. A resposta da cana de açúcar à adubação nitrogenada e ao inoculante apresenta grande variabilidade ao longo dos anos.

**Palavras-chave:** *Saccharum* sp. Inoculante. Fixação biológica de nitrogênio.

## ABSTRACT

Bacterial inoculation of sugarcane crops is economically and environmentally feasible because in addition to being a low-cost procedure, it does not contaminate water resources or produce greenhouse gasses. Given that the inoculum is a biological product affected by factors such as soil, climatic conditions and plant variety, studies on its application to sugarcane crops must be carried out in different cropping regions and on different sugarcane genotypes. Thus, the present study evaluated the efficiency and contributions of bacterial inoculum application to nitrogen nutrition and crop yield in different sugarcane-growing regions of Brazil and different sugarcane varieties. Eight experiments, arranged in a randomized block design with four replications, were conducted in Southeast and Northeast Brazil. Sugarcane varieties tested were RB867515, RB72454, RB98710, RB93509, RB92579, RB935744, RB855453, SP81-3250, CTC2, CTC4, CTC15 and IAC94-4004. Varieties RB867515 and RB72454 were subjected to three treatments: inoculation with diazotrophs, fertilization with 120 kg N ha<sup>-1</sup> and a control treatment without inoculum or fertilizer. The other varieties were tested with and without (control) the inoculums. The inoculum contained a combination of five diazotrophs: *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, and *Burkholderia tropica*. The parameters evaluated were fresh weight of stalks, straws and flag-leaves at harvest time, dry biomass accumulation, N content in the shoots, contributions from biological N fixation (BNF) and sugar yield. The <sup>15</sup>N natural abundance technique was used to quantify N<sub>2</sub> derived from BNF, using non-inoculated sugarcane and non-fixing plants grown under greenhouse conditions in soil collected from the experimental plots as reference. The findings presented are important for promoting pioneering studies on the benefits of bacterial inoculums to sugarcane crops. In addition, they contribute to increasing sugarcane production since specialists contend that the inoculum improves N uptake from the soil and nitrogen sources. Although the inoculum increases the yield of some sugarcane varieties, it decreases the production of others, evidencing a negative plant-bacteria interaction. The use of N-fertilization and inoculum increased the yield of variety RB867515 in 87.5% of the experiments. The inoculum alone increased crop yield by more than 10% in 80% of the experiments but did not enhance BNF contributions, indicating that the benefits derived are likely a consequence of the growth-promoting effects of the inoculum. Natural biological N<sub>2</sub> fixation by sugarcane accounts for approximately 50% of the N content accumulated in this plant. Sugarcane response to nitrogen fertilization and the inoculum has been widely variable over the years.

**Key words:** *Saccharum* sp. Inoculum. Biological nitrogen fixation.

### 3.1. INTRODUÇÃO

Desde a chegada da cana de açúcar no Brasil grandes avanços e investimentos foram feitos no sentido de aprimorar cada vez mais seu potencial produtivo. A prova disso é o seu elevado balanço energético que atualmente é de aproximadamente nove para um e pode melhorar com o aumento da eficiência da adubação nitrogenada, o aproveitamento de resíduos da cultura e a eficiência dos processos da indústria de açúcar e álcool. O elevado potencial produtivo da cultura despertou o interesse de grandes investidores ocasionando seu avanço sobre novas fronteiras, influenciando de forma decisiva no desenvolvimento econômico, social e cultural das regiões onde novas unidades são instaladas, entretanto, muito ainda precisa ser aprimorado em sua cadeia produtiva, uma vez que a produtividade média brasileira encontra-se ao redor de 25% do potencial fisiológico da cultura.

Entre os fatores mais limitantes para a elevação da produtividade da cana de açúcar destaca-se a nutrição nitrogenada. O N é o segundo nutriente mais absorvido pela cana de açúcar, depois do K, apesar de fazer parte de apenas 1% da matéria seca. A deficiência de N compromete o desenvolvimento e potencial produtivo da cultura, por ser constituinte obrigatório de proteínas e ácidos nucleicos, atuando direta e indiretamente em diversos processos bioquímicos, enzimáticos, além de fazer parte da molécula de clorofila, diretamente responsável pela fotossíntese. Apesar da importância do N para a cultura, diversos trabalhos desenvolvidos nas principais regiões produtoras do Brasil e de outros países mostram que a eficiência de recuperação do N aplicado na cultura é de aproximadamente 20%, o que sugere que é preciso buscar alternativas para melhorar a eficiência de absorção deste nutriente de fontes nitrogenadas bem como do que está disponível no solo.

Entre as diversas formas de melhorar a eficiência de aproveitamento do N disponibilizado à cultura seja por fontes nitrogenadas ou pelo que o solo disponibiliza para as plantas encontra-se o inoculante composto por cinco bactérias diazotróficas, desenvolvido a partir de bactérias isoladas da própria cana de açúcar. Trabalhos desenvolvidos em laboratórios, casas de vegetação e experimentos de campo mostram que a inoculação com bactérias diazotróficas pode promover incrementos na produtividade da cana de açúcar. No entanto, por tratar-se de um produto biológico e da interação deste com plantas em condições de grande influência de fatores edafoclimáticos é preciso que sejam desenvolvidos estudos que permitam identificar as formas de atuação destas bactérias e quais fatores promovem efeitos negativos ou positivos na interação planta-bactéria.

O desenvolvimento de novas tecnologias requer muitos anos de avaliação e em diferentes regiões, buscando assim oferecer tais tecnologias com segurança ao maior número possível de interessados. Neste contexto este trabalho procurou abranger as grandes regiões produtoras de cana de açúcar e ao mesmo tempo avaliar a eficiência do inoculante sob diferentes regiões edafoclimáticas.

Os objetivos deste estudo foram identificar variedades de cana de açúcar responsivas ao inoculante bacteriano e ampliar os conhecimentos sobre a eficiência e contribuição do inoculante no aumento do potencial produtivo da cana de açúcar.

## 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1. Procedimentos comuns a todos os ensaios.

Este estudo foi composto por oito experimentos distribuídos nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil, sendo dois implantados na região norte do Estado do Rio de Janeiro, no município de Campos dos Goytacazes; um no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica, na baixada fluminense; dois no Noroeste do Estado de São Paulo, nos municípios de Olímpia e Valparaíso e três na região Nordeste do Brasil, sendo dois no Estado de Pernambuco e um no Estado de Alagoas.

### 3.2.2. Preparo do inoculante

As cinco estirpes de bactérias diazotróficas que compõem o inoculante para cana de açúcar foram previamente testadas e selecionadas por Oliveira et al. (2003) em estudos com plântulas micro propagadas de cana de açúcar, nas variedades SP70-1143 e SP81-3250, que receberam inoculação com bactérias diazotróficas, em diferentes ambientes de produção. A Tabela 1 apresenta as cinco espécies, a identificação das estirpes, as variedades e as respectivas partes das plantas de onde foram isoladas.

**Tabela 1.** Espécies de bactérias endofíticas, estirpes, variedades e respectivas partes das plantas de cana de açúcar onde foram isoladas.

Espécies	Estirpes	Variedades	Partes da planta
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR 11281	<i>Saccharum sp.</i>	Raízes
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR 11335	SP70-1143	Raízes
<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	BR 11504	SP70-1284	Colmos
<i>Azospirillum amazonense</i>	BR 11145	CB45-3	Colmos
<i>Bulkholderia tropica</i>	BR 11366	SP71-1406	Perfilhos

Todas as estirpes estão depositadas na coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia.

Para a obtenção do inoculante as bactérias foram cultivadas em meio de cultura Dyg's (RODRIGUES NETO et al., 1986) de forma individualizada. Na sequência, 75 mL de meio de cultura Dyg's com população de  $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  de cada estirpe foi misturado em 175 g de turfa estéril com pH final 6,0 ou em polímero de carboximetilcelulose e amido a 60% e 40% (p/v), respectivamente. O polímero em questão é uma formulação com proporção de 60/40 de carboximetilcelulose/amido protegida por patente (no PI0506338-8) no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual e receberam a seguinte denominação: IPC 0,8, na forma líquida, e IPC 2,2, na forma de gel. Antes de receber a suspensão bacteriana os polímeros foram transferidos para sacos de polipropileno com gramatura de aproximadamente 0,05 mm, com 175 g de cada veículo (líquido e gel) e selados. Em seguida foram autoclavados a 120°C por 20 minutos, sendo a suspensão bacteriana (75 mL) com população de  $10^9$  células  $\text{mL}^{-1}$  acondicionado em seguida. Desta forma cada embalagem contendo as estirpes separadamente pesou 250 g, sendo 175 g de veículo e 75 g de suspensão bacteriana. A dose contendo as cinco estirpes pesou 1,25 kg.

Para o preparo da suspensão inoculante para a imersão dos toletes no plantio e para a inoculação das soqueiras (reinoculação) uma dose composta pelas cinco estirpes (cinco embalagens de 250 g) foi diluída em 100 litros de água limpa, correspondendo à dose de 12,5 g do produto por litro de água.

### **3.2.3. Preparo do solo e plantio**

Para o preparo dos solos das áreas experimentais foram realizadas aração, gradagem e incorporação de corretivos de solo de acordo com análise de solo ou recomendação das usinas. Em todos os experimentos foram realizadas adubações com NPK e micronutrientes de acordo com análise de solo e/ou recomendação padrão das usinas, no plantio e após cada colheita. Para o plantio foram adotados de 15 gemas por metro linear de sulco, sendo preparadas em toletes com três gemas, selecionados, visando assim maior uniformidade do canavial. Para evitar possível contaminação, os tratamentos foram plantados na seguinte ordem: controle experimental, adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e por último o tratamento com inoculação. Após o corte da cana utilizada para mudas, os toletes foram acondicionados em sacos de rafia nas quantidades adequadas para cada linha de plantio nas parcelas e submetidos à inoculação por imersão na suspensão inoculante (1 dose para 100 L de água) por uma hora, com auxílio de caixas de fibra. Após o período de imersão os sacos contendo os toletes foram retirados da suspensão, dispostos sob sombra natural por trinta minutos e plantados em seguida.

### **3.2.4. Adubação e inoculação de soqueiras**

Após cada corte da cana de açúcar (colheita) foi realizada limpeza das linhas de plantio nas soqueiras com a retirada da palhada sobre as mesmas para adubação de rotina; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N nas parcelas que receberam este tratamento e a aplicação da suspensão inoculante sobre a soqueira (reinoculação), com jato dirigido na superfície de corte, com auxílio de aplicador costal de 20 L, em seus devidos tratamentos. Após a aplicação dos fertilizantes e da suspensão inoculante a palhada foi novamente redistribuída de forma homogênea em toda a área experimental.

### **3.2.5. Colheita, avaliações agronômicas, preparo e análises de amostras**

As avaliações agronômicas foram realizadas com a determinação dos pesos frescos dos colmos, palha e folhas-bandeira nas linhas úteis de cada parcela, sendo descartadas duas linhas de bordadura de cada parcela. Após a pesagem das frações colmos, palha e folhas-bandeira foram retiradas subamostras, as quais foram secadas em estufa de circulação de ar forçado a 65 °C até atingirem peso constante. Com base nos pesos frescos determinados no campo e na porcentagem de matéria seca foram estimadas a produtividade de colmos frescos e a massa de matéria seca total da parte aérea por hectare. Após a secagem as subamostras foram inicialmente passadas em moinho tipo Wiley (2 mm) para depois serem finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004). Em seguida foram realizadas as determinações de N segundo o método semimicro-Kjeldahl (NOGUEIRA & SOUZA, 2005). A análise de abundância natural de <sup>15</sup>N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) foi feita somente nas subamostras das folhas-bandeira, que segundo Boddey et al. (2001) representa a marcação isotópica de toda a planta. Após a análise do teor de N total nas folhas-bandeira, foram determinados os pesos para análise de delta <sup>15</sup>N, dividindo-se o valor 4 pelo teor de N total em percentual, atendendo o espectro de ação do espectrômetro de massas (Finnigan MAT, Bremen, Germany) do Laboratório de Isótopos Estáveis John M Day da Embrapa Agrobiologia (RAMOS et al., 2001).

A avaliação do rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) foi realizada segundo a metodologia preconizada por Fernandes (2000) e o Manual de Instruções do CONSECANA (2006).

### **3.2.6. Avaliação da FBN na cana de açúcar em função da inoculação**

A uniformidade da marcação de <sup>15</sup>N do N disponível do solo para as plantas, no tempo e em profundidade, é um dos pressupostos para a utilização da técnica de diluição isotópica de

<sup>15</sup>N para quantificação da FBN, desde que as plantas testemunhas tenham enraizamento e marcha de absorção de N do solo similares aos da planta em avaliação (UNKOVICH et al., 2008). Assim, como o objetivo foi avaliar a influência do inoculante na FBN da cana de açúcar inoculada, a planta controle adotada foi a própria cultura da cana de açúcar não inoculada, uma vez que esta apresenta as mesmas condições fisiológicas que a cana de açúcar que recebeu o tratamento com a inoculação. Partindo do princípio que o processo de FBN promove a diluição isotópica na planta fixadora (cana inoculada) em relação a não fixadora (cana controle não inoculada), a cana de açúcar inoculada deveria apresentar valores de delta <sup>15</sup>N menores que os valores obtidos na cana controle não inoculada. Com base nestas premissas a FBN foi calculada utilizando a equação para a técnica de abundância natural de <sup>15</sup>N, seguindo a metodologia proposta por Unkovich et al. (2008).

$$\%Ndfa = ((\delta^{15}N \text{ PTNF} - \delta^{15}N \text{ PTF}) / (\delta^{15}N \text{ PTNF} - B)) \times 100$$

Onde:

%Ndfa – Porcentagem de N derivado da fixação biológica.

$\delta^{15}N$  PTNF – Valor de delta <sup>15</sup>N do solo obtido através da cana de açúcar não inoculada, neste caso, utilizada como referência.

$\delta^{15}N$  PTF - Valor de delta <sup>15</sup>N da cana de açúcar inoculada.

B – Valor da discriminação isotópica de <sup>15</sup>N feita pelas plantas durante o processo de FBN, igual a zero segundo Boddey et al. (2001).

### 3.2.7. Variação da abundância natural do isótopo <sup>15</sup>N no perfil do solo

Para verificar o grau de uniformidade do isótopo <sup>15</sup>N do N disponível no perfil do solo, foram coletadas amostras de solo em três pontos dentro de cada área experimental, nas camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm de profundidade. Estas amostras de solo foram secadas ao ar livre e peneiradas em malha de 2 mm. Após o preparo das amostras de solo foi desenvolvido um estudo complementar em casa de vegetação, onde estas amostras de solo foram cultivadas por três espécies de plantas controle, consideradas não fixadoras ou de fixação insignificante. As plantas adotadas para o estudo foram sorgo – *Sorghum bicolor*, painço – *Panicum mileaceum* e milho – *Pennisetum glaucum*. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 4, sendo três espécies de plantas e quatro profundidades avaliadas, com quatro repetições. O ensaio foi desenvolvido em vasos contendo 400 g de terra fina seca ao ar. Antes da semeadura foi realizada adubação com 100 mg kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de super fosfato simples, 100 mg kg<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma sulfato de potássio, 20 mg kg<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio e 50 mg kg<sup>-1</sup> de FTE BR12. Após a adubação foi realizada a semeadura, utilizando-se entre 6 a 10 sementes por vaso. Cada vaso foi cultivado por apenas uma espécie. As plantas foram cultivadas por aproximadamente 30 dias, quando apresentaram amarelecimento das folhas, indicando o esgotamento de N disponível do solo. Em seguida as plantas foram coletadas inteiras (raízes e parte aérea), secadas, pesadas, moídas, pulverizadas e analisadas da mesma forma como descrito anteriormente para as subamostras de cana de açúcar no item 3.2.5.

Com base nos resultados deste estudo foram realizadas as seguintes avaliações: avaliação do N disponível no solo (mg por vaso), uma vez que as plantas cresceram nos vasos até o esgotamento total do N presente no solo; avaliação do comportamento do isótopo <sup>15</sup>N ao longo do perfil do solo a cada 15 cm, até a camada de 60 cm de profundidade, através dos valores de delta <sup>15</sup>N determinados nas plantas controle; por último foi calculado o valor médio ponderado do delta <sup>15</sup>N do solo, através da ponderação entre N extraído pelas plantas, em mg por vaso, em cada profundidade e seu respectivo valor de delta <sup>15</sup>N, sendo o N o fator de ponderação, de acordo com a fórmula abaixo.

$$\delta^{15}\text{N ponderado} = \frac{(\delta^{15}\text{N} \times \text{N total (mg) 0-15 cm}) + (\delta^{15}\text{N} \times \text{N total (mg) 15-30 cm}) + \dots(45-60 \text{ cm})}{\text{N total (mg) 0-60 cm}}$$

Para a correção dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  do solo em função da alteração ocasionada com adição das sementes de plantio das plantas testemunhas, foram determinados os teores de N total e delta  $^{15}\text{N}$  nas mesmas, considerando a umidade de 14% das sementes seguindo a metodologia descrita acima. A correção foi calculada utilizando a fórmula abaixo.

$$\delta^{15}\text{N do solo corrigido} = \frac{((\text{N total da planta} \times \delta^{15}\text{N da planta}) - (\text{N total das sementes} \times \delta^{15}\text{N das sementes}))}{(\text{N total da planta} - \text{N total das sementes})}$$

Onde: O N total das plantas testemunhas deve entrar na fórmula em mg, ou seja, conteúdo de N das plantas testemunhas cultivadas nos vasos em casa de vegetação.

A distribuição e uniformidade do isótopo  $^{15}\text{N}$  no perfil do solo foi utilizada para auxiliar na explicação dos resultados, principalmente nos casos onde foi verificado resposta da cana de açúcar ao inoculante, porém sem afetar a FBN.

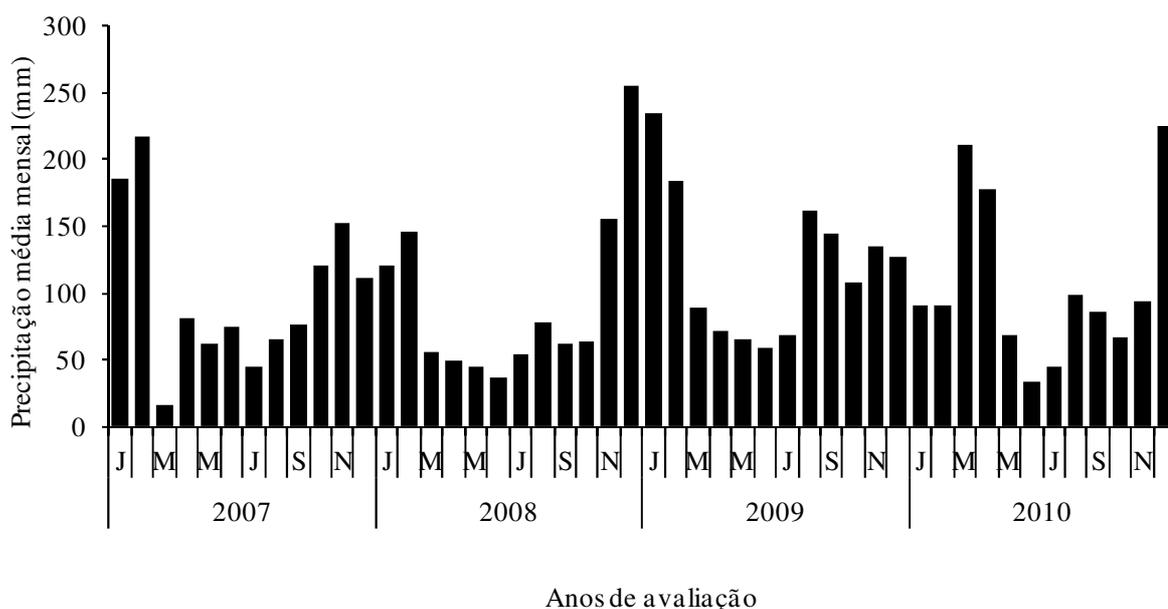
Este estudo foi realizado uma única vez para cada área experimental, ou seja, não foi repetido ao longo dos anos de avaliação da cana de açúcar no campo. Segundo Unkovich et al. (2008), o isótopo  $^{15}\text{N}$  é muito estável no solo, o que justifica apenas uma avaliação da uniformidade e homogeneidade, mesmo nos experimentos onde foram realizadas avaliações até a terceira soca (4 anos).

### 3.2.8. Estatística

Os dados foram submetidos à análise estatística para verificar a normalidade e homogeneidade das variâncias pelos testes de Lilliefors e Cochran e Bartlett, respectivamente, pelo software SAEG 9.1. Em seguida foram submetidos à análise de variância pelo software SISVAR, sendo as médias comparadas pelo teste t LSD (Least Significant Difference) com nível de significância de 10% ( $p < 0,10$ ). Foram comparadas as médias do desdobramento do efeito de tratamentos dentro de cada variedade (desdobramento tratamento x variedade) e o efeito de tratamento na média das variedades (média de variedades).

### 3.2.9. Experimento implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

O experimento foi implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia ( $22^{\circ}44'38''$  S e  $43^{\circ}42'28''$  W e 26 m de altitude), em setembro de 2007 e finalizado em outubro de 2010. O clima da região é do tipo Aw, segundo classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e com temperatura média anual de  $24^{\circ}\text{C}$ . Os ciclos avaliados foram cana-planta, primeira e segunda soqueiras. Durante o ciclo de cana-planta (setembro de 2007 a outubro de 2008), a precipitação acumulada foi de 1.177 mm, para os ciclos de primeira e segunda soca, colhidas com 12 meses após o corte, as precipitações acumuladas foram de 1.598 e 1.230 mm, respectivamente (Figura 1).



**Figura 1.** Precipitação média mensal registrada na região de Seropédica, RJ, entre os anos 2007 a 2010.

O solo da área experimental foi classificado como PLANOSSOLO HÁPLICO segundo Santos et al. (2006). Solos desta ordem apresentam um horizonte B plânico imediatamente abaixo de um horizonte A ou E, podendo o último algumas vezes ser identificado como um horizonte E álbico. Nas épocas de maior precipitação a presença do gradiente textural, condiciona a formação de um lençol freático suspenso. A textura arenosa, dos horizontes superficiais favorece a perda de nutrientes, principalmente N e K por lixiviação. Ao mesmo tempo apresentam atributos que podem ser favoráveis ao cultivo da cana de açúcar por ser uma cultura que possui sistema radicular profundo podendo alcançar o lençol freático, minimizando os efeitos negativos de estiagens prolongadas. A Tabela 2 mostra as características químicas do solo da área experimental antes da implantação do experimento.

**Tabela 2.** Características químicas do solo da área experimental. (Campo Experimental – Embrapa Agrobiologia).

Prof cm	pH H <sub>2</sub> O	C -----g dm <sup>-3</sup> -----	N -----	Ca -----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Mg -----	Al -----	V ---%---	P -----mg dm <sup>-3</sup> -----	K -----
0 – 20	5,4	4,8	0,4	0,7	0,2	0,3	24	19	12
20 – 40	5,1	3,0	0,3	0,8	0,3	0,6	29	5	7

(NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

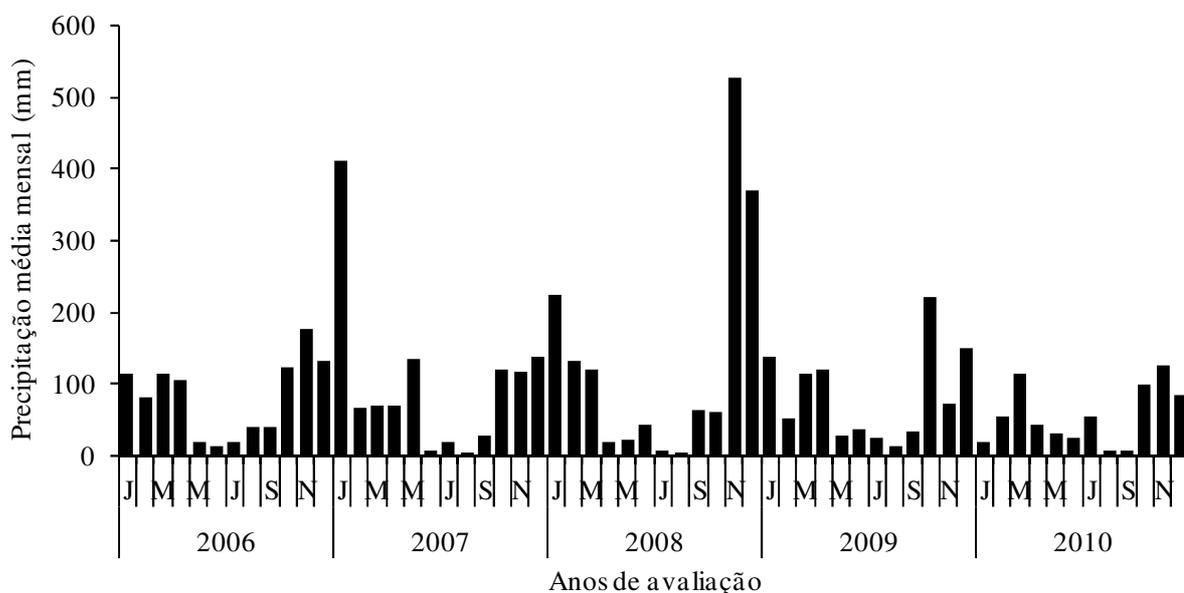
O delineamento experimental foi o de bloco ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4 (duas variedades e quatro tratamentos), com 4 repetições, totalizando 32 parcelas. As variedades utilizadas foram RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo o polímero líquido (IPC 0,8 g L<sup>-1</sup>), inoculação utilizando como veículo o polímero gel (IPC 2,2 g L<sup>-1</sup>), adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). As parcelas foram constituídas com 5 linhas de 5 m, espaçadas a 1,1 m, com um sulco sem cultivo entre blocos, totalizando 27,5 m<sup>2</sup> por parcela e 1144 m<sup>2</sup> de área experimental total. Antes do plantio foi realizada correção do solo com aplicação de calcário equivalente a duas Mg ha<sup>-1</sup> 40 dias antes do plantio. No momento do plantio foi realizada adubação nos sulcos com doses equivalentes

a  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , na forma de superfosfato simples;  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ , na forma cloreto de potássio;  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de FTE BR12, e  $0,4 \text{ kg ha}^{-1}$  de molibdato de sódio. No tratamento que recebeu  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, foram realizadas duas aplicações, sendo  $60 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, no fundo do sulco de plantio e  $60 \text{ kg ha}^{-1}$  de N em cobertura 60 dias após o plantio. A fonte nitrogenada utilizada no plantio foi ureia.

Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada ciclo foram descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de N e a reinoculação foram realizados até três dias após as colheitas, conforme apresentado no item 3.2.4. A fonte nitrogenada utilizada na aplicação de cobertura em superfície foi ureia. Para adubação das soqueiras foi aplicado dose equivalente a  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , na forma de superfosfato simples;  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ , na forma cloreto de potássio;  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  de FTE BR12, e  $0,4 \text{ kg ha}^{-1}$  de molibdato de sódio.

### 3.2.10. Experimentos implantados nas usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Os experimentos foram implantados em área de cultivo comercial de cana de açúcar nas usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, localizados no município de Campos dos Goytacazes, RJ ( $21^\circ 45' 14''\text{S}$  e  $41^\circ 19' 26''\text{O}$ , a 14 m de altitude), em março de 2006 e finalizado em julho de 2010. As avaliações foram realizadas nas safras de 2006/2007 (cana-planta aos 18 meses), 2007/2008, 2008/2009 e 2009/2010, primeira, segunda e terceira socas colhidas 12 meses após o corte, respectivamente. O clima da região é do tipo Aw, segundo classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e com temperatura média anual de  $22,7^\circ\text{C}$ . Durante o ciclo de cana-planta (março de 2006 a julho de 2007), a precipitação acumulada foi de 1.565 mm, para o ciclo de primeira soca (agosto de 2007 a julho de 2008), o total foi de 977 mm, segunda soca (agosto de 2008 a julho de 2009), 1.540 mm e terceira soca (agosto de 2009 a julho de 2010), 835 mm (Figura 2).



**Figura 2.** Precipitação média mensal registrada na região de Campos dos Goytacazes, RJ, entre os anos 2006 a 2010.

Os solos das áreas experimentais foram classificados como CAMBISSOLO FLÚVICO Eutrófico, com argila de atividade alta, com elevada capacidade de retenção de umidade (Usina Santa Cruz S.A) e ARGISSOLO AMARELO (Usina Sapucaia S.A), de

acordo com Santos et al. (2006). Para o ARGISSOLO AMARELO verificou-se uma adensamento a partir de 30 cm de profundidade, essa redução da porosidade, que é inerente a essa ordem de solo, pode ser agravada pelas ações antrópicas, resultante do processo de aração e gradagem ao longo de muitos anos. A Tabela 3 mostra as características químicas dos solos das áreas experimentais das usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, respectivamente, antes do plantio.

**Tabela 3.** Características químicas dos solos das áreas experimentais das usinas Santa Cruz S.A e Sapucaia S.A, RJ.

Prof cm	pH H <sub>2</sub> O	C -----g dm <sup>-3</sup> -----	N	Ca	Mg -----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Al	V ---%---	P -----mg dm <sup>-3</sup> -----	K
CAMBISSOLO FLÚVICO (Usina Santa Cruz S.A)									
0 – 20	5,0	8,3	0,7	3,2	1,8	0,4	56	5	100
20 – 40	5,8	6,7	0,6	3,9	2,2	0,0	68	18	49
ARGISSOLO AMARELO (Usina Sapucaia S.A)									
0 – 20	6,2	12,5	0,8	3,6	1,6	0,0	70	66	49
20 – 40	5,2	7,5	0,6	2,0	0,7	0,3	44	29	27

(NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 3 (duas variedades e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 32 parcelas. As variedades estudadas foram a RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo a turfa; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental. As parcelas foram constituídas com 4 linhas de 4 m, espaçadas a 1,4 m, totalizando 22,4 m<sup>2</sup> por parcela e 716,8 m<sup>2</sup> de área experimental total.

As mudas utilizadas foram derivadas de plantas micropropagadas (matrizes). Estas matrizes foram produzidas na Biofábrica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (Campus Leonel Miranda, Campos dos Goytacazes, RJ), da seguinte forma: após o período de micropropagação de sete dias, um terço das plântulas micropropagadas (cem mudas) foi tratada com o inoculante de bactérias diazotróficas segundo a metodologia descrita por Reis et al. (1999), com aplicação de 0,1 mL da suspensão inoculante contendo 10<sup>9</sup> células por mL por plântula (muda). Em seguida, todas as plântulas (trezentas mudas, cem para cada tratamento de campo) foram transplantadas em canteiros separados por tratamento (cem inoculadas e duzentas não inoculadas para os tratamentos controle e adubado com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N) em casa de vegetação, onde permaneceram por seis meses em temperatura ambiente e irrigação monitorada diariamente, evitando-se assim que as plantas fossem submetidas à condição de estresse hídrico. Após esta etapa, as mudas foram transplantadas para o viveiro a pleno sol. Dez meses após o plantio no viveiro, foram retirados os toletes para o plantio do experimento na área comercial da usina.

No momento do plantio nas áreas comerciais (implantação dos experimentos), as mudas utilizadas para o tratamento inoculado, as quais foram inoculadas *in vitro* aos sete dias, foram novamente inoculadas para o plantio definitivo, conforme descrito no item 3.2.2 e 3.2.3. Assim os tratamentos foram: toletes provenientes de plantas micropropagadas sem inoculação (controle); toletes provenientes de plantas micropropagadas com inoculação *in vitro* aos sete dias e no plantio definitivo no campo (inoculado); e toletes provenientes de plantas micropropagadas, adubados com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N fertilizante, na forma de ureia, aplicada em dose única no fundo do sulco no momento do plantio.

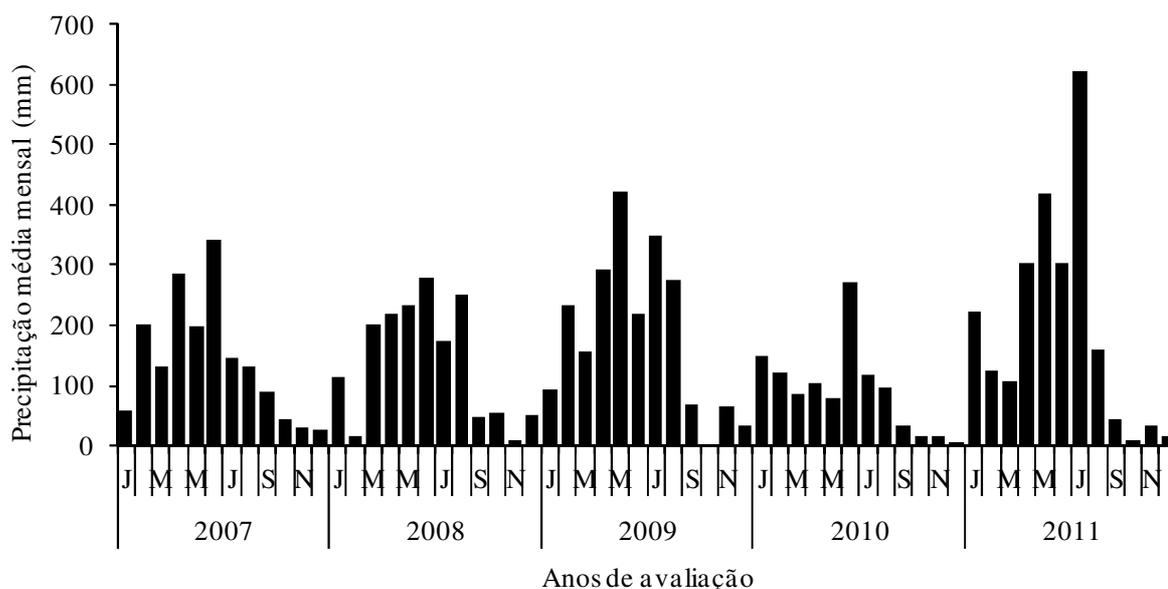
Para adubação de plantio foram aplicados 400 kg ha<sup>-1</sup> da formulação 04-30-20, na forma de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O. Além da fertilização química, foi aplicado o equivalente a 15 Mg ha<sup>-1</sup> de torta de filtro no fundo dos sulcos no momento do plantio.

Nas adubações das soqueiras foram aplicadas doses equivalentes a 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, na forma de superfosfato simples; 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio; 40 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12 e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio, três dias após as colheitas.

As avaliações realizadas em cada ciclo estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação das soqueiras foram realizados até três dias após o corte da cana, conforme apresentado no item 3.2.4. A fonte de N utilizada foi ureia, aplicada em dose única na superfície do solo.

### 3.2.11. Experimento implantado na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

O experimento foi implantado em área de cultivo comercial de cana de açúcar na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, localizada no município de Goiana, PE (7°33'39''S e 35°0'10''W, a 80 m de altitude) em setembro de 2007 e finalizado em novembro de 2011. As avaliações foram realizadas nas safras de 2007/2008 (cana-planta aos 12 meses), 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011, primeira, segunda e terceira socas colhidas 12 meses após o corte, respectivamente. O clima da região é do tipo tropical Aw, segundo classificação de Köppen, com temperatura média anual de 24,6 °C. Durante o ciclo de cana-planta (setembro de 2007 a setembro de 2008), a precipitação acumulada foi de 1.731 mm. Para os ciclos de primeira, segunda e terceira socas as precipitações acumuladas foram 2.228, 1.167 e 2.334 mm, respectivamente (Figura 3).



**Figura 3.** Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruangi – Fazenda Maravilha entre os anos de 2007 a 2011.

O solo da área experimenta foi classificado como PLANOSSOLO HÁPLICO de acordo com Santos et al. (2006). Apesar de sua textura arenosa, suas propriedades químicas não apresentam limitações para o desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que são realizadas adubações de rotina para atender as necessidades da cultura, principalmente de potássio (Tabela 4).

**Tabela 4.** Características químicas do solo da área experimental da usina Cruangi – Fazenda Maravilha, PE.

Prof	pH	C	N	Ca	Mg	Al	V	P	K
cm	H <sub>2</sub> O	-----g dm <sup>-3</sup> -----		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			---%---	-----mg dm <sup>-3</sup> -----	
0 – 20	6,6	7,5	0,6	2,3	0,8	0,0	67	22	24
20 – 40	6,3	4,4	0,4	1,2	0,5	0,0	36	18	10

Embrapa (1997); N – Semimicro Kjeldahl (NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

Este experimento foi implantado com dois arranjos experimentais, ambos em blocos ao acaso, da seguinte forma: um fatorial 2 x 3 (duas variedades e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram a RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo a turfa na cana-planta e primeira soca e polímero nas duas socas seguintes; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). A fonte nitrogenada foi ureia, sendo aplicados 60 kg ha<sup>-1</sup> no fundo dos sulcos no plantio e 60 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura 60 dias após o plantio. Nas soqueiras a dose foi mantida em 120 kg ha<sup>-1</sup> de N, sendo aplicada em dose única na superfície do solo após as colheitas.

O segundo delineamento foi um fatorial 3 x 2 (três variedades e dois tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram RB863129, RB92579 e SP81-3250. Os tratamentos foram inoculação com bactérias diazotróficas e o controle experimental sem inoculação. As parcelas foram constituídas de 7 linhas de 10 m de comprimento, espaçadas a 1,10 m entre linhas, totalizando 77 m<sup>2</sup> por parcela e 4.416 m<sup>2</sup> de área experimental total. A Figura 4 mostra o modelo de croqui da área experimental, visando melhor compreensão dos delineamentos.

A adubação de rotina de plantio foi de 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples; 160 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio; 30 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12 e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. Após cada corte foi realizada adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio em toda a área experimental.

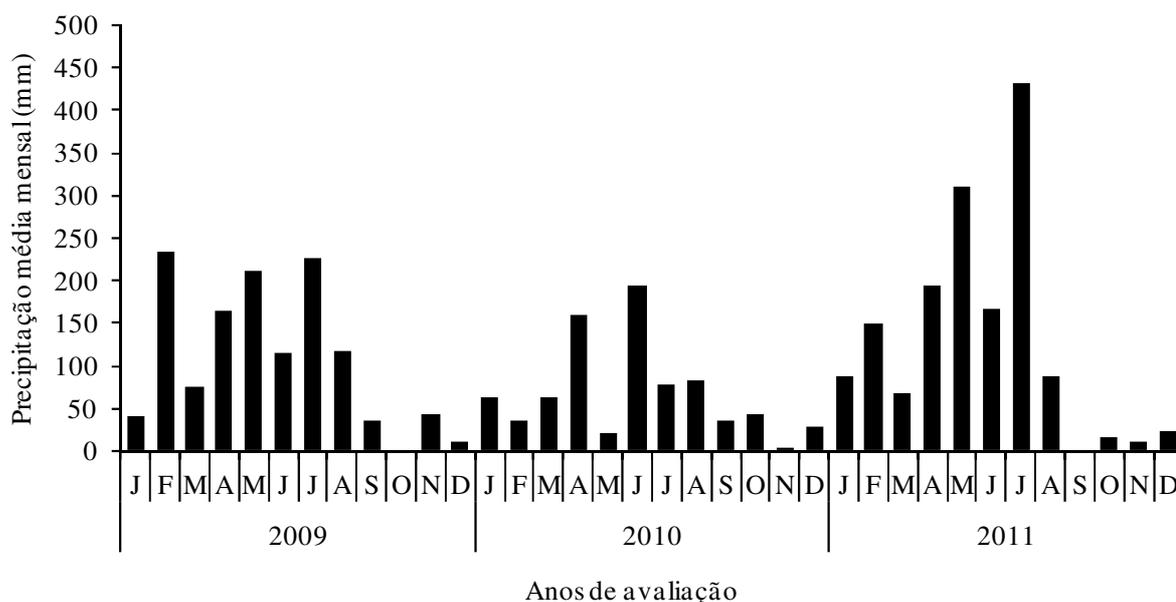
Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada ciclo estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação das soqueiras foram realizados três dias após o corte da cana, conforme apresentado no item 3.2.4.

<b>B1</b>	RB 92579 inóculo 1	SP813250 2	RB92579 3	RB72454 4	RB867515 120 kg N 5	RB867515 inóculo 6	RB 72454 inóculo 7	SP813250 inóculo 8	RB863129 9	RB867515 10	RB863129 inóculo 11	RB72454 120 kg N 12
V VEGETAÇÃO ESPONTÂNEA 2 m												
<b>B2</b>	SP813250 inóculo 13	RB86755 inóculo 14	RB72454 inóculo 15	RB863129 16	SP813250 17	RB863129 inóculo 18	RB72454 120 kg N 19	RB867515 20	RB92579 21	RB72454 22	RB867515 120 kg N 23	RB92579 inóculo 24
V VEGETAÇÃO ESPONTÂNEA 2 m												
<b>B3</b>	RB72454 inóculo 25	RB863129 26	SP813250 27	RB92579 inóculo 28	RB867515 29	RB72454 30	RB867515 inóculo 31	RB72454 120 kg N 32	RB863129 inóculo 33	SP813250 inóculo 34	RB92579 35	RB867515 120 kg N 36
V VEGETAÇÃO ESPONTÂNEA 2 m												
<b>B4</b>	RB867515 inóculo 37	RB72454 120 kg N 38	RB863129 inóculo 39	SP813250 inóculo 40	RB92579 41	RB867515 120 kg N 42	RB 72454 inóculo 43	RB863129 44	RB813250 45	RB92579 inóculo 46	RB867515 47	RB72454 48

**Figura 4.** Modelo de croqui adotado nos experimentos com diferentes delineamentos experimentais.

### 3.2.12. Experimento implantado na usina Cruangi, Timbaúba, PE

O experimento foi implantado em área de cultivo comercial de cana de açúcar na usina Cruangi – Timbaúba, localizada no município de Timbaúba, PE (7°30'18''S e 35°19'04''W, a 102 m de altitude) em junho de 2009 e finalizado em novembro de 2011. As avaliações foram realizadas nas safras de 2009/2010 (cana-planta aos 17 meses) e primeira soca (2010/2011 aos 12 meses). O clima da região é do tipo tropical chuvoso com verão seco As', segundo classificação de Köppen, com temperatura média anual de 28 °C. Durante o ciclo de cana-planta (junho de 2009 a outubro de 2010), a precipitação acumulada foi de 1.327 mm e para o ciclo de primeira soca a precipitação acumulada foi de 1.538 mm (Figura 5).



**Figura 5.** Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruangi – Timbaúba entre os anos de 2009 a 2011.

O solo da área experimental foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO de acordo com Santos et al. (2006). Apesar dos teores de fósforo estarem na faixa considerada baixa, suas propriedades químicas não apresentam limitações para o desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que foram realizadas adubações de rotina para atender as necessidades da cultura em cada ciclo (Tabela 5).

**Tabela 5.** Características químicas do solo da área experimental da usina Cruangi – Timbaúba, PE.

Prof	pH	C	N	Ca	Mg	Al	V	P	K
cm	H <sub>2</sub> O	-----g dm <sup>-3</sup> -----		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			---%---	-----mg dm <sup>-3</sup> -----	
0 – 20	5,7	10,4	0,9	3,0	1,4	0,0	60	3	131
20 – 40	5,9	5,9	0,6	3,0	1,4	0,0	66	2	45

Embapa, (1997); N – Semimicro Kjeldahl (NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

O experimento foi implantado com dois arranjos experimentais, ambos em blocos ao acaso, da seguinte forma: um fatorial 2 x 3 (duas variedades e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram a RB867515 e IAC94-4004. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa na cana-planta e polímero na primeira soca; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle

experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). A fonte nitrogenada foi ureia, sendo aplicada em dose única no fundo dos sulcos no plantio. Para a primeira soca a aplicação foi realizada em dose única na superfície do solo três dias após o corte da cana-planta.

O segundo delineamento foi um fatorial 3 x 2 ( três variedades e dois tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram RB863129, RB92579 e SP81-3250. Os tratamentos foram inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa na cana-planta e polímero na primeira soca e o controle experimental sem inoculação. As parcelas foram constituídas de 5 linhas de 10 m de comprimento, espaçadas a 1,10 m entre linhas, totalizando 55 m<sup>2</sup> por parcela e 3.360 m<sup>2</sup> de área experimental total. O croqui da área experimental segue o mesmo padrão apresentado na Figura 4.

A adubação de rotina de plantio foi de 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples; 80 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio; 40 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12 e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. Após o corte da cana-planta foi realizada adubação com 100 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio em toda a área experimental.

Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada ciclo estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação da primeira soca foi realizada três dias após o corte da cana-planta, conforme apresentado no item 3.2.4.

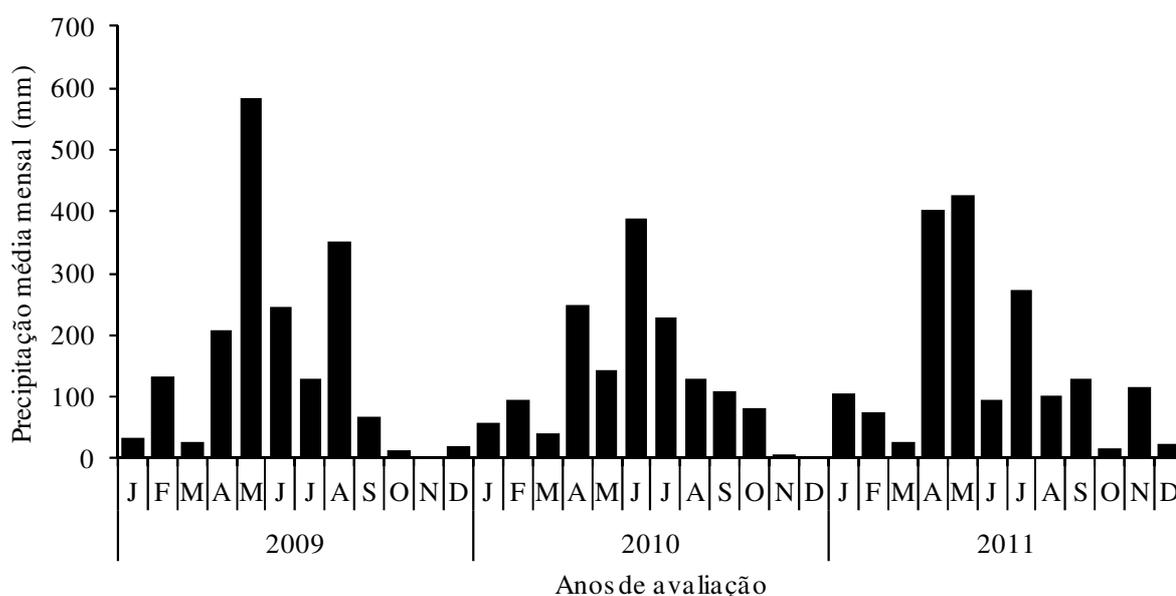
### **3.2.13. Experimento implantado na usina Coruripe, Coruripe, AL**

O experimento foi implantado em área de cultivo comercial de cana de açúcar na usina Coruripe, localizada no município de Coruripe, AL (10° 07'33''S e 36°10'33''W, a 16 m de altitude) em novembro de 2009 e finalizado em novembro de 2011. As avaliações foram realizadas na safra de 2009/2010 (cana-planta aos 13 meses) e na primeira soca (2010/2011 aos 12 meses). O clima da região é do tipo tropical, quente e úmido, chuvoso entre abril e junho, segundo classificação de Köppen, com temperatura média anual de 24,4 °C. Durante o ciclo de cana-planta, a precipitação acumulada foi de 1.543 mm e para o ciclo de primeira soca a precipitação acumulada foi de 1.773 mm (Figura 6).

O solo da área experimental foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO (Santos et al. (2006), apresentando textura arenosa na camada superficial. Na Tabela 6 encontram-se as características químicas do solo da área experimental, podendo-se inferir que estas não apresentam limitações ao desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que o K, o qual se encontra em valores abaixo dos recomendados são fornecidos anualmente pelas adubações adotadas pela usina.

O arranjo experimental foi com dois fatoriais em blocos ao acaso, da seguinte forma: um fatorial 2 x 3 (duas variedade e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa no ciclo de cana-planta e polímero na primeira soca; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). A fonte nitrogenada foi ureia, aplicados em dose única no fundo dos sulcos no plantio no ciclo de cana-planta. Na primeira soca a dose foi mantida em 120 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia, sendo aplicada em dose única na superfície do solo.

O segundo delineamento foi um fatorial 3 x 2 (três variedades e dois tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram RB98710, RB92579 e RB93509. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa no ciclo de cana-planta e polímero na primeira soca e o controle experimental sem inoculação. As parcelas foram constituídas de 6 linhas de 5 m de comprimento, espaçadas a 1,0 m entre linhas, totalizando 36 m<sup>2</sup> por parcela e 1.800 m<sup>2</sup> de área experimental total. O croqui da área experimental segue o mesmo padrão apresentado na Figura 4.



**Figura 6.** Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Coruripe entre os anos de 2009 e 2011.

**Tabela 6.** Características químicas do solo da área experimental da usina Coruripe – AL.

Prof cm	pH H <sub>2</sub> O	C ----g dm <sup>-3</sup> ----	N -----	Ca -----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Mg -----	Al -----	V ---%---	P -----mg dm <sup>-3</sup> -----	K -----
0 – 20	6,7	9,5	0,8	2,6	0,9	0,0	77	46	52
20 – 40	6,2	5,9	0,5	1,7	0,6	0,0	58	34	19

Embrapa (1997); N – Semimicro Kjeldahl (NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

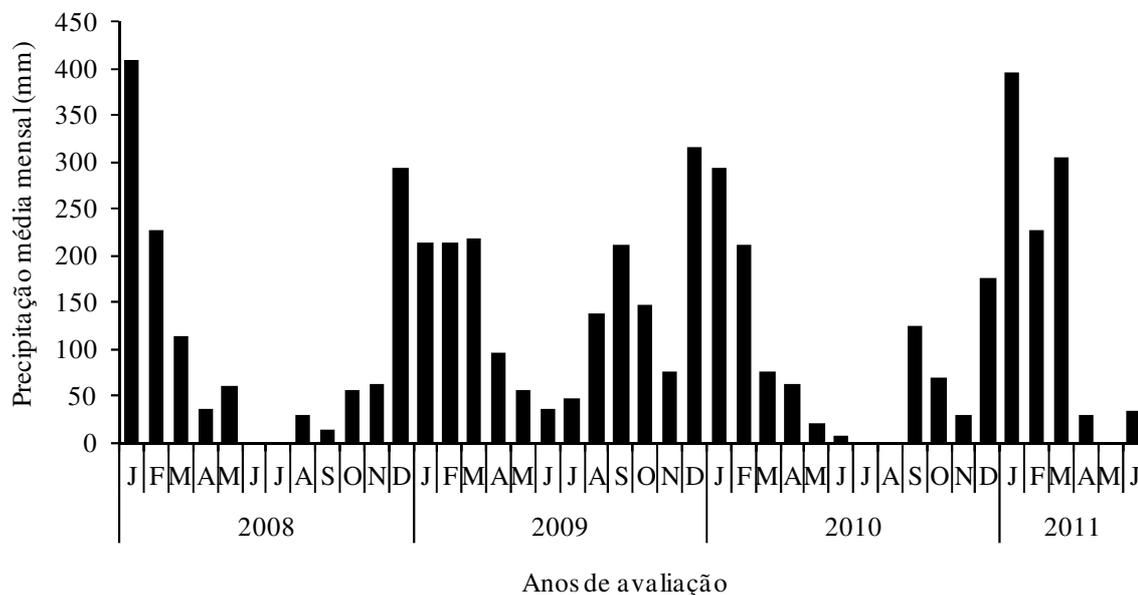
A área experimental foi cultivada com *Crotalaria juncea* seis meses antes do plantio. Após o cultivo, os resíduos culturais foram incorporados com aração e gradagem, ficando sob pousio por aproximadamente quatro meses. No momento do plantio foi realizada adubação com 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no fundo dos sulcos na forma de superfosfato simples; 144 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio; 30 kg ha<sup>-1</sup> de micronutrientes (B = 3%, Cu = 5%, Fe = 0,4%, Mn = 15%, e Zn = 5%) e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. Após o corte da cana-planta foi realizada adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio em toda a área experimental.

Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada ciclo estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação da primeira soca foi realizada três dias após o corte da cana-planta, conforme apresentado no item 3.2.4.

### 3.2.14. Experimento implantado na usina Cruz Alta - grupo Guarani, Olímpia, SP

O experimento foi implantado em área de cultivo comercial de cana de açúcar na usina Cruz Alta – Grupo guarani, localizada no município de Olímpia, SP (20°44'13''S e 48°54'54''W, a 506 m de altitude) em abril de 2008 e finalizado em junho de 2011. As avaliações foram realizadas nas safras de 2008/2009 (cana-planta aos 15 meses), 2009/2010 (primeira soca aos 12 meses) e 2010/2011 (segunda soca aos 12 meses). O clima da região é do tipo tropical Aw, segundo classificação de Köppen, com temperatura média anual de 23,3 °C. Durante o ciclo de cana-planta (abril de 2008 a junho de 2009), a precipitação acumulada foi de 1.385 mm. Para os ciclos de primeira e segunda socas a precipitação acumulada foi de 1.608 mm (julho de 2009 a junho de 2010) e 1.391 mm (julho de 2010 a junho de 2011),

respectivamente (Figura 7).



**Figura 7.** Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Cruz Alta – Grupo Guarani entre os anos de 2008 a 2011.

O solo da área experimental foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO, de acordo com Santos et al. (2006). Suas propriedades químicas não apresentam limitações para o desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que são realizadas adubações de rotina para atender as necessidades da cultura em cada ciclo (Tabela 7).

**Tabela 7.** Características químicas de solo da área experimental da usina Cruz Alta – grupo Guarani, SP.

Prof cm	pH <sup>1</sup> CaCl <sub>2</sub>	C <sup>1</sup> -----g dm <sup>-3</sup> -----	N <sup>2</sup>	Ca <sup>1</sup>	Mg <sup>1</sup>	Al <sup>1</sup>	V <sup>1</sup> ---%---	P <sup>1</sup> -----mg dm <sup>-3</sup> -----	K <sup>1</sup>
0 – 25	6,1	7,5	0,7	2,1	0,7	0,0	71	22	64
25 – 50	6,0	6,7	0,6	1,6	0,8	0,0	62	6	26

<sup>1</sup>Raij e Andrade, (2001); <sup>2</sup>Semimicro Kjeldahl (NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

O experimento foi implantado com dois arranjos experimentais, ambos em blocos ao acaso, da seguinte forma: um fatorial 2 x 3 (duas variedades e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram a RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa na cana-planta e polímero nas duas soqueiras; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). A fonte nitrogenada foi nitrato de potássio (33%), sendo aplicada em dose única no fundo dos sulcos no plantio. Para as soqueiras a aplicação foi realizada em dose única na forma de nitrato de potássio, na superfície do solo três dias após as colheitas.

O segundo delineamento foi um fatorial 4 x 2 (quatro variedades e dois tratamentos), com 4 repetições, totalizando 32 parcelas. As variedades foram RB935744, CTC2, CTC4, CTC15. Os tratamentos foram inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo turfa na cana-planta e polímero nas soqueiras e o controle experimental sem inoculação. As parcelas foram constituídas de 6 linhas de 10 m de comprimento, espaçadas a 1,5 m entre linhas, totalizando 90 m<sup>2</sup> por parcela e 5.880 m<sup>2</sup> de área experimental total. O croqui da área

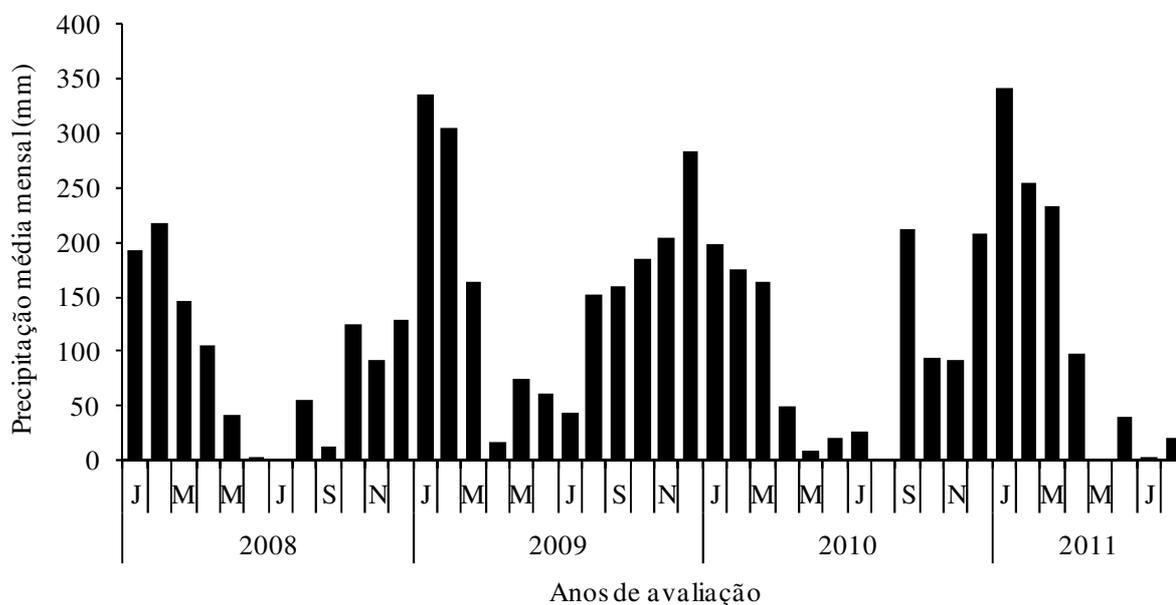
experimental segue o mesmo padrão apresentado na Figura 4.

A adubação de plantio foi de 500 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato reativo no preparo do solo. Em seguida foi realizada a adubação, sendo aplicados 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio, 40 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12 e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. Após o corte de cada ciclo foi realizada adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio em toda a área experimental.

Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada ciclo estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação nas soqueiras foi realizada três dias após cada colheita, conforme apresentado no item 3.2.4.

### 3.2.15. Experimento implantado na usina Univalem - grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

O experimento foi implantado em área de cultivo comercial de cana de açúcar na usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN, localizada no município de Valparaíso, SP (21°13'40''S e 50°52'04''W, a 449 m de altitude) em abril de 2008 e finalizado em junho de 2011. As avaliações foram realizadas nas safras de 2009/2010 (primeira soca aos 12 meses) e 2010/2011 (segunda soca aos 12 meses). O clima da região é do tipo tropical Aw, segundo classificação de Köppen, com temperatura média anual de 23,4 °C. Durante o ciclo de cana-planta (abril de 2008 a junho de 2009), a precipitação acumulada foi de 1.524 mm. Para os ciclos de primeira e segunda socas a precipitação acumulada foi de 1.647 mm (julho de 2009 a junho de 2010) e 1600 mm (julho de 2010 a junho de 2011), respectivamente (Figura 8). Ressalta-se que o ciclo de cana-planta não foi avaliado, porém os dados de precipitação foram apresentados, uma vez que as soqueiras são afetadas pelas condições climáticas ocorridas na cana-planta.



**Figura 8.** Precipitação média mensal registrada no campo experimental da usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN entre os anos de 2008 a 2011.

O solo da área experimental foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO de acordo com Santos et al. (2006). Trata-se de um solo de textura arenosa nos horizontes superficiais, sendo evidenciado pelos resultados da análise química, a qual mostra teores de N e Ca na camada de 25 – 50 cm superiores aos valores observados na camada de 0 – 25 cm.

Estes resultados levam a inferir que houve lixiviação destes elementos da camada superficial para a camada sub superficial. As propriedades químicas não apresentam limitações para o desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que são realizadas adubações de rotina para atender as necessidades da cultura em cada ciclo (Tabela 8).

**Tabela 8.** Características químicas de solo da área experimental da usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN, SP.

Prof	pH <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	Ca <sup>1</sup>	Mg <sup>1</sup>	Al <sup>1</sup>	V <sup>1</sup>	P <sup>1</sup>	K <sup>1</sup>
cm	CaCl <sub>2</sub>	-----g dm <sup>-3</sup> -----		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			---%---	-----mg dm <sup>-3</sup> -----	
0 – 25	5,7	6,7	0,6	1,1	0,4	0,0	63	6	83
25 – 50	5,8	5,9	0,7	1,6	0,4	0,0	68	3	48

<sup>1</sup>Raij e Andrade, (2001); <sup>2</sup>Semimicro Kjeldahl (NOGUEIRA e SOUZA, 2005)

O experimento foi implantado com dois arranjos experimentais, ambos em blocos ao acaso, da seguinte forma: um fatorial 2 x 3 (duas variedades e três tratamentos), com 4 repetições, totalizando 24 parcelas. As variedades foram a RB867515 e RB72454. Os tratamentos foram: inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo o polímero nas duas socas; adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle experimental (sem adubação nitrogenada e sem inoculação). A fonte nitrogenada foi ureia, sendo aplicada em dose única no fundo dos sulcos no plantio. Para as soqueiras a aplicação foi realizada em dose única na forma de ureia, na superfície do solo três dias após as colheitas.

O segundo delineamento foi um fatorial 5 x 2 (cinco variedades e dois tratamentos), com 4 repetições, totalizando 32 parcelas. As variedades foram CT15, RB935744, RB855453, RB92579, SP81-3250. Os tratamentos foram inoculação com bactérias diazotróficas utilizando como veículo o polímero nas duas soqueiras e o controle experimental sem inoculação. As parcelas foram constituídas de 6 linhas de 10 m de comprimento, espaçadas a 1,4 m entre linhas, totalizando 84 m<sup>2</sup> por parcela e 6.336 m<sup>2</sup> de área experimental total. O croqui da área experimental segue o mesmo padrão apresentado na Figura 4.

Adubação de plantio foi de 400 kg ha<sup>-1</sup> de fosfato reativo no preparo do solo. Em seguida foi realizada a adubação, sendo aplicados 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio, 40 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR12 e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. Após o corte da primeira soca foi realizada adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio em toda a área experimental.

Os procedimentos de preparo do inoculante e plantio estão descritos nos itens 3.2.2 e 3.2.3. As avaliações realizadas em cada colheita estão descritas no item 3.2.5. A reinstalação dos tratamentos com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e a reinoculação das soqueiras foi realizada três dias após as colheitas, conforme apresentado no item 3.2.4.

### 3.2.16. Resumo das características de solo e clima das áreas experimentais

Após a descrição individual das características das áreas experimentais foi elaborado um resumo geral para a apresentação da ordem, as principais características químicas do solo, temperatura e precipitação média anual, reinantes nas áreas experimentais (Tabela 9). A junção destes dados em forma de síntese proporcionará melhor compreensão dos resultados obtidos nas diferentes condições de solo e clima.

**Tabela 9.** Resumo de características edafoclimáticas reinantes nas áreas experimentais

Área experimental	Ordem	Solo								Clima		
		pH	Ca	Mg	Al	P	K	V	C	N	TMA	PMA
		H <sub>2</sub> O	-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			----mg dm <sup>-3</sup> ----		%	-----g dm <sup>-3</sup> -----		°C	mm
Usina Santa Cruz S.A – RJ	CAMBISSOLO FLÚVICO Eutrófico	5,0	3,2	1,8	0,4	5	100	56	8,3	0,7	22,7	1.100
Usina Sapucaia S.A – RJ	ARGISSOLO AMARELO	6,2	3,6	1,6	0,0	66	49	70	12,5	0,7	22,7	1.100
Usina Cruz Alta-Guarani – SP	ARGISSOLO VERMELHO	6,1	2,1	0,7	0,0	22	64	71	7,5	0,7	23,3	1.349
Usina Univalem-COSAN/RAÍZEN – SP	ARGISSOLO VERMELHO	5,7	1,1	0,4	0,0	6	83	63	6,7	0,6	23,4	1.241
Usina Cruangi – Fazenda Maravilha – PE	PLANOSSOLO HÁPLICO	6,6	2,3	0,8	0,0	22	24	67	7,5	0,6	24,6	2.002
Campo Experimental – Embrapa Agrobiologia – RJ	PLANOSSOLO HÁPLICO	5,4	0,7	0,2	0,3	19	12	24	4,8	0,4	24,0	1.250
Usina Cruangi – Timbaúba – PE	ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO	5,7	3,0	1,4	0,0	3	131	60	10,4	0,9	28,0	1.083
Usina Coruripe – AL	ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO	6,7	2,6	0,9	0,0	46	52	77	9,5	0,8	24,4	1.634

TMA: Temperatura média anual. PMA: Precipitação média anual. As características químicas de solo são referentes à camada de 0 – 20 cm.

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado no Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

A produtividade de colmos das duas variedades apresentou respostas distintas aos tratamentos nas três colheitas (Tabela 10). No desdobramento de tratamento dentro de cada variedade, a variedade RB72454 foi responsiva aos tratamentos com inoculação utilizando o polímero gel e a adubação nitrogenada na cana-planta e na segunda soca, com aumento na produtividade de colmos de 19,7 Mg ha<sup>-1</sup> nos dois tratamentos em relação ao controle na cana-planta e 17,3 e 37,2 Mg ha<sup>-1</sup> na segunda soca. Na primeira soca não houve diferença significativa entre os tratamentos na variedade RB72454, no entanto os tratamentos com inoculação utilizando polímero líquido, gel e a adubação nitrogenada promoveram incrementos na produtividade de colmos de 15,5; 13,7 e 13,1 Mg ha<sup>-1</sup> respectivamente, em relação ao controle. A variedade RB867515 não foi significativamente influenciada pelos tratamentos na cana-planta e na primeira soca, no entanto foi responsiva à adubação nitrogenada na segunda soca.

Na média das variedades, na cana-planta os tratamentos inoculados foram superiores ao controle, com incrementos de 15,4 e 14,3 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, porém não diferiram do tratamento que recebeu a adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N. Na primeira soca a inoculação com polímero líquido foi superior ao controle, com aumento de 13,3 Mg ha<sup>-1</sup> de colmos. Não houve diferença entre os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada na primeira soca. Na segunda soca o tratamento com adubação nitrogenada foi superior aos demais tratamentos, com incrementos de 35,3; 26,4 e 23,2 Mg ha<sup>-1</sup> em relação ao controle, inoculação com polímero líquido e gel, respectivamente. Na segunda soca ainda, a inoculação utilizando o polímero gel foi superior ao controle, com aumento de 12,1 Mg ha<sup>-1</sup> de colmos. Apesar da inoculação não ter promovido incrementos significativos na produtividade de colmos da variedade RB867515, estes resultados evidenciam que o inoculante afetou de forma positiva as duas variedades. Silva et al. (2009), avaliando os mesmos tratamentos em um ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO na mesma região obtiveram resultados similares a 15% de probabilidade. Estes resultados corroboram aqueles relatados por Oliveira et al. (2006), avaliando o mesmo inoculante na variedade SP70-1143 cultivada em um ARGISSOLO de baixa fertilidade natural, nos ciclos de cana-planta e primeira soca.

A superioridade dos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada em relação ao controle na média das duas variedades é um indicativo de que o aumento do número de variedades responsivas torna os ganhos significativos, mesmo que individualmente essa diferença não seja estatisticamente significativa. Estes resultados mostram que o polímero a base de carboximetilcelulose manteve a viabilidade das bactérias do inoculante. O estabelecimento da interação planta-bactérias é dependente de adequada disponibilidade de água ao longo do ciclo da cultura, o que ter sido um fator determinante para a obtenção dos resultados deste estudo, uma vez que não houve estiagem prolongada ao longo do período de avaliação (Figura 1).

**Tabela 10.** Produtividade de colmos ( $Mg\ ha^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas utilizando diferentes veículos para a inoculação e o controle - Campo Experimental Embrapa Agrobiologia, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Cana-planta (colheita de 2008)			
Controle	83,3 b	97,1	90,2 b
Pol. Líquido	100,6 ab	110,6	105,6 a
Pol. Gel	103,0 a	106,0	104,5 a
120 kg N	103,0 a	98,3	100,6 ab
C. V. (%)		14,4	
Primeira soca (colheita de 2009)			
Controle	86,3	104,8	95,6 b
Pol. Líquido	101,8	114,4	108,9 a
Pol. Gel	100,0	108,2	104,1 ab
120 kg N	99,4	110,3	104,9 ab
C. V. (%)		14,0	
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	34,8 c	52,5 b	43,6 c
Pol. Líquido	39,7 bc	65,3 b	52,5 bc
Pol. Gel	52,1 b	59,1 b	55,7 b
120 kg N	72,0 a	85,3 a	78,9 a
C. V. (%)		18,7	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média das variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Pol.: polímero. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea das plantas apresentou respostas diferenciadas em função dos tratamentos (Tabela 11). Na cana-planta a inoculação com polímero gel promoveu acúmulo de matéria seca superior ao controle na variedade RB72454 e na média das variedades. Na primeira soca a inoculação com polímero líquido promoveu acúmulo de matéria seca superior ao controle na variedade RB867515 e na média das variedades. Na segunda soca o acúmulo de matéria seca acompanhou a produtividade de colmos.

Para o acúmulo de N total na variedade RB72454, o tratamento inoculado utilizando o polímero gel foi superior ao controle e à inoculação utilizando o polímero líquido na cana-planta, na primeira soca não houve diferença entre os tratamentos e o controle e na segunda soca a adubação nitrogenada promoveu acúmulo superior ao controle e aos tratamentos inoculados. Na variedade RB867515, os tratamentos não diferiram do controle na cana-planta e na primeira soca para o acúmulo de N total. Na segunda soca houve efeito da adubação nitrogenada no acúmulo de N total, sendo superior aos tratamentos com inoculante e o controle. Na média das variedades, o acúmulo de N total do tratamento inoculado utilizando o polímero gel foi superior ao controle e o tratamento inoculado utilizando o polímero líquido, na cana-planta. Na primeira soca os tratamentos não diferiram entre si para o acúmulo de N total. Na segunda soca a adubação nitrogenada apresentou acúmulo de N total superior aos tratamentos inoculados, independentemente do veículo (gel ou líquido) e o controle. Os resultados apresentam elevada variabilidade ao longo dos anos, entretanto, de forma geral os tratamentos, tanto com inoculação quanto com adubação nitrogenada mostram influencia positiva no potencial produtivo da cana de açúcar.

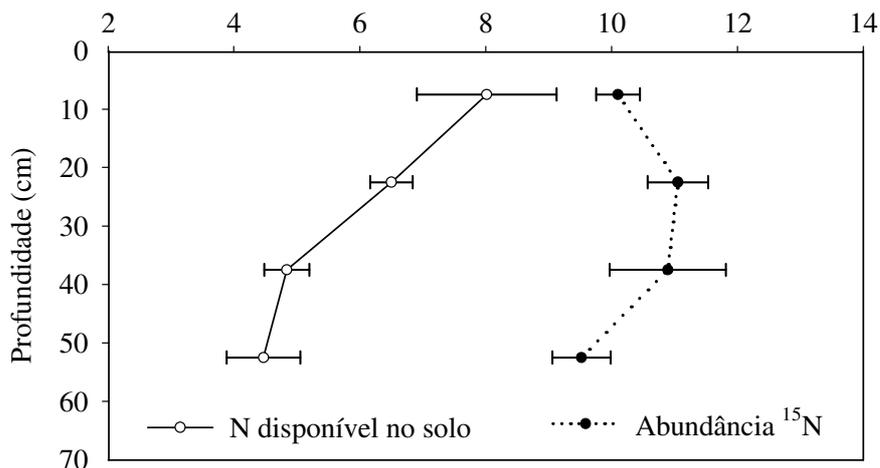
**Tabela 11.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas utilizando diferentes veículos para a inoculação e o controle - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2008)			
Controle	37,5 b	43,4	40,5 b
Pol. Líquido	41,8 ab	48,0	44,9 ab
Pol. Gel	45,7 a	45,1	45,4 a
120 kg N	43,0 ab	46,4	44,7 ab
C. V. (%)		13,0	
Primeira soca (colheita de 2009)			
Controle	47,1	49,4 b	48,3 b
Pol. Líquido	50,5	57,7 a	54,1 a
Pol. Gel	50,3	56,2 ab	53,3 a
120 kg N	48,4	53,4 ab	50,9 ab
C. V. (%)		11,0	
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	23,7 c	33,4 b	28,6 c
Pol. Líquido	25,9 bc	36,9 b	31,4 bc
Pol. Gel	32,4 b	36,3 b	34,3 b
120 kg N	45,7 a	50,4 a	48,0 a
C. V. (%)		15,3	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2008)			
Controle	120,3 c	131,3	125,8 c
Pol. Líquido	137,2 bc	139,7	138,4 bc
Pol. Gel	189,4 a	139,3	164,3 a
120 kg N	161,0 ab	148,2	154,6 ab
C. V. (%)		19,6	
Primeira soca (colheita de 2009)			
Controle	116,2	116,2	116,2
Pol. Líquido	124,8	131,3	128,0
Pol. Gel	126,0	125,1	125,5
120 kg N	133,7	128,6	131,1
C. V. (%)		15,5	
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	57,0 b	60,8 b	58,9 b
Pol. Líquido	59,7 b	75,4 b	67,6 b
Pol. Gel	72,8 b	68,4 b	70,6 b
120 kg N	124,6 a	130,4 a	127,5 a
C. V. (%)		18,5	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Pol.: polímero. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O solo da área experimental apresenta redução dos teores de N disponível até 60 cm de profundidade e enriquecimento com o isótopo <sup>15</sup>N em aproximadamente um delta na camada de 15 a 45 cm (Figura 9). Os valores médios de delta <sup>15</sup>N do solo foram +10,10, +11,05, +10,89 e +9,52 para as camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm, respectivamente. O enriquecimento do solo com o isótopo <sup>15</sup>N em profundidade foi relatado por Ledgard et al. (1984); Urquiaga et al. (2011) e Schultz et al. (2012). Estes autores verificaram

enriquecimento mais acentuado nas camadas mais profundas do solo. Segundo Schultz et al. (2012) o enriquecimento do solo em profundidade com isótopo  $^{15}\text{N}$  pode resultar no aumento dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar se os benefícios proporcionados pelo inoculante à cana de açúcar estiverem associados ao aumento do sistema radicular da cultura. Roesch et al. (2005) avaliando o efeito de bactérias do gênero *Azospirillum* na cultura de trigo verificaram aumentos no tamanho e na quantidade de pelos radiculares nas plantas inoculadas e aumento no conteúdo de N total nas raízes e parte aérea das plantas, indicando que o inoculante aumentou a eficiência de absorção do N no solo.



**Figura 9.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (%), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo do experimento do campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).  
As barras representam o erro padrão da média.

A análise da abundância natural de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira, coletadas no momento da colheita e a FBN indicam que não houve diferença entre os tratamentos com o inoculante e o controle não inoculado (Tabela 12). A similaridade entre os valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira da cana de açúcar inoculada e o controle não inoculado evidencia que o inoculante não influenciou a FBN nas duas variedades. Entretanto, tomando como referência o delta  $^{15}\text{N}$  do solo resultante do cultivo de plantas testemunhas não fixadoras, nas diferentes camadas do solo até 60 cm de profundidade, a FBN naturalmente associada às duas variedades contribuiu na nutrição nitrogenada da cana de açúcar, variando de 63,3 a 83,6%. O elevado potencial das duas variedades para a FBN naturalmente associada às mesmas indica que a população de bactérias naturais do sistema foi mais eficiente para a FBN do que aquelas introduzidas via inoculação.

Os resultados apresentados mostram que o inoculante aumentou o potencial produtivo da cultura, entretanto, a inoculação não afetou o potencial da FBN. Estes resultados levam a inferir que a inoculação proporcionou outros benefícios à cana de açúcar, os quais podem estar associados à ação de hormônios vegetais sintetizados por bactérias diazotróficas, solubilização de fosfatos, retenção de N e outros nutrientes essenciais na rizosfera. Diversos estudos mostram que bactérias diazotróficas podem atuar na promoção de crescimento de plantas (*plant growth-promoting bacteria - PGPBs*), principalmente alterando a morfologia do sistema radicular das plantas, influenciando assim de forma positiva o desenvolvimento e a produtividade de várias culturas de interesse econômico (BASHAN et al., 2004; SOMERS et al. 2004). Suman et al. (2001) avaliando isolados de bactérias diazotróficas endofíticas de cana de açúcar na Índia, verificaram que *Gluconacetobacter diazotrophicus* promoveu a

produção de ácido indolacético e a solubilização de fosfatos. Yadav et al. (2009) avaliando o efeito de *Glucacetobacter diazotrophicus* and *Trichoderma viride* no solo e na produtividade de cana de açúcar na Índia verificaram que houve aumento no teor de carbono orgânico do solo, aumento de N e retenção de nutrientes essenciais na rizosfera, em função da elevação da população de microrganismos presentes na interface solo-rizosfera-raiz. Em trabalho realizado por Muñoz-Rojas & Caballero-Mellado (2003), plantas micropropagadas de cana de açúcar (variedade MEX 57-473) inoculadas com *Glucacetobacter diazotrophicus* - estirpe PAL5<sup>T</sup>, cultivadas em vermiculita esterilizada apresentaram aumentos no peso de matéria seca de raízes, parte aérea e no acúmulo de N total, apesar de os teores de N total terem sido inferiores ao tratamento controle. Estes autores acreditam que os benefícios ocorridos para a cana de açúcar na presença de *Glucacetobacter diazotrophicus* - estirpe PAL5<sup>T</sup> pode ter sido proveniente de seu efeito promotor de crescimento de plantas.

**Tabela 12.** Delta <sup>15</sup>N de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por três colheitas consecutivas em um PLANOSSOLO HÁPLICO no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

Tratamento	RB72454			RB867515			Delta <sup>15</sup> N do solo (%)
	Cana-planta	1ª soca	2ª soca	Cana-planta	1ª soca	2ª soca	
	Delta <sup>15</sup> N nas folhas-bandeira da cana de açúcar (%)						
Controle	3,5	3,1	2,4	2,8	2,6	2,2	10,4
Inoculado líquido	3,8	2,9	1,7	3,4	3,1	2,3	
Inoculado Gel	3,1	2,9	2,4	3,3	3,0	2,4	
C. V. (%)	12,4	21,1	33,5	12,4	21,1	33,5	
	N derivado da FBN (%)						
Controle	66,3	70,2	77,0	73,1	75,0	78,8	
Inoculado líquido	63,3	72,1	83,6	67,3	70,2	77,9	
Inoculado Gel	70,2	72,1	77,0	68,3	71,1	77,0	
C. V. (%)	5,9	7,3	9,3	5,9	7,3	9,3	

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Delta <sup>15</sup>N do solo é proveniente das plantas testemunhas Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). A ausência de letras significa que não houve diferença entre os tratamentos. Teste LSD a 10% de significativo.

### 3.3.2. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Santa Cruz S.A, RJ

As duas variedades apresentaram respostas distintas aos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada para a produtividade de colmos (Tabela 13). A variedade RB72454 não foi influenciada pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada nas quatro colheitas. A variedade RB867515 não foi significativamente afetada pelos tratamentos no ciclo de cana-planta, entretanto a inoculação e a adubação nitrogenada promoveram incrementos na produtividade de colmos de 14,7 e 19,3 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente em relação ao controle. Nas três soqueiras a variedade RB867515 foi significativamente responsiva à inoculação e a adubação nitrogenada para a produtividade de colmos, com incrementos que variação de 24,1 a 33,4 Mg ha<sup>-1</sup> no tratamento inoculado em relação ao controle e 32,3 a 50,1 Mg ha<sup>-1</sup> na adubação nitrogenada em relação ao controle.

Na média das variedades não houve diferença entre os mesmos na cana-planta e primeira soca, na segunda soca a inoculação e a adubação nitrogenada foram superiores ao controle, na terceira soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle, porém não diferiu do tratamento inoculado.

As duas variedades apresentaram elevado potencial produtivo nas quatro colheitas,

com destaque para a cana-planta e a primeira soca, uma vez que a produtividade média do Estado do Rio de Janeiro é de 48 Mg ha<sup>-1</sup> (IBGE-SIDRA, 2012). Esta elevada produtividade é decorrente de alguns fatores inerentes às condições de implantação e condução do ensaio, tais como o preparo e correção do solo; adição de 15 Mg ha<sup>-1</sup> de torta de filtro; nutrientes adicionados nos toletes utilizados como mudas e a origem das mudas provenientes de plantas micropropagadas, cultivadas em viveiro com acompanhamento periódico. O regime de chuvas da região ao longo do período de condução do ensaio foi favorável ao desenvolvimento da cultura, não sendo registrados períodos prolongados de estiagem (Figura 2).

**Tabela 13.** Produtividade de colmos (Mg ha<sup>-1</sup>) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	172,4	137,9	155,1
Inoculado	153,8	152,6	153,2
120 kg N	177,7	157,2	167,7
C. V. (%)		12,8	
Primeira soca (colheita de 2008)			
Controle	127,4	82,2 b	104,8
Inoculado	105,8	115,6 a	110,7
120 kg N	107,8	132,3 a	120,0
C. V. (%)		26,7	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	76,3	52,1 b	59,7 b
Inoculado	66,3	81,5 a	73,9 a
120 kg N	67,5	87,5 a	77,5 a
C. V. (%)		20,5	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	69,0	52,8 b	60,9 b
Inoculado	60,5	76,9 a	68,7 ab
120 kg N	75,1	85,1 a	80,1 a
C. V. (%)		18,9	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A diferença de respostas das duas variedades aos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada pode ter forte influência de sua origem. Segundo a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro - RIDESA (2010), a variedade RB72454 é extremamente rústica, tendo como característica determinante o elevado potencial produtivo em ambientes de solos pobres; esta adaptação a solos pobres, inclusive em N pode estar associada à interação eficiente desta variedade com bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> atmosférico. Polidoro et al. (2001b) verificaram que a variedade RB72454 possui elevado potencial natural para FBN, o que justifica a elevada produtividade e a ausência de resposta aos tratamentos com adubação nitrogenada e a inoculação. A variedade RB867515 é classificada pela RIDESA como uma variedade de média exigência em fertilidade de solo, justificando sua resposta ao fertilizante nitrogenado e ao inoculante. Respostas da cana de

açúcar à inoculação com bactérias diazotróficas foram observadas por Oliveira et al. (2006), avaliando a produtividade das variedades SP70-1143 e SP81-3250 em três solos diferentes, sendo as variedades mais responsivas à inoculação nos solos de baixa fertilidade natural. Em estudo desenvolvido por Silva et al. (2009), avaliando o mesmo inoculante e as mesmas variedades, porém em um ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO, na região de Seropédica, RJ, as duas variedades foram responsivas aos tratamentos para a produtividade de colmos com significância de 15%.

Os resultados desse experimento mostram a influência determinante do genótipo das variedades na interação planta-bactéria, reforçando a hipótese levantada por Urquiaga et al. (1992, 2011) e Boddey et al. (2003). Para estas variações ainda não se tem respostas definitivas, porém é possível que a interação de fatores edafoclimáticos e o genótipo atuem no sentido de favorecer ou inibir a interação planta-bactéria, inclusive aquelas naturalmente associadas à cultura. Em revisão publicada por Partida-Martínez & Heil (2011), diversos trabalhos citados apresentam evidências que a interação planta-bactéria pode ser de mutualismo/antagonismo, podendo se alternar ao longo do tempo, sendo o genótipo e o meio os reguladores dos efeitos da interação planta-bactéria.

Os acúmulos de matéria seca e N total da parte aérea das plantas apresentaram resultados similares à produtividade de colmos (Tabela 14). A variedade RB72454 não foi influenciada pelos tratamentos e a variedade RB867515 foi afetada na segunda e terceira soqueira. A similaridade entre os resultados do acúmulo de matéria seca, N total e a produtividade de colmos se justifica pelo fato da fração colmo corresponder a aproximadamente 80% da matéria seca total da parte aérea da cana de açúcar. Este resultado indica que os tratamentos não afetaram os teores de N no tecido vegetal e o conteúdo de N total foi determinado pela produtividade de colmos.

Nas colheitas da segunda e terceira soca foi avaliado o rendimento de açúcares totais recuperáveis por tonelada de cana de açúcar (ATR) e o rendimento de toneladas de açúcar por hectare (TAH) (Tabela 15). Os valores de ATR não foram afetados pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada nas duas variedades nos dois ciclos avaliados. Estes resultados indicam que as vias de síntese de açúcares não foram influenciadas pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada. A influência da inoculação sobre as características tecnológicas da cana de açúcar ainda é um assunto a ser explorado em estudos futuros. Quanto ao efeito da adubação nitrogenada nas características tecnológicas da cana de açúcar, existem controvérsias na literatura. Em estudo desenvolvido por Resende et al. (2006) na região Nordeste do Brasil, em um ARGISSOLO a fertilização nitrogenada reduziu a porcentagem de sacarose aparente (Pol) e a porcentagem de sólidos solúveis (Brix). Schultz (2009) verificou que a aplicação de doses de 40 e 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, associada ou não a aplicação de vinhaça não influenciou na qualidade tecnológica da cana de açúcar quando colhida sem a queima prévia da palha.

**Tabela 14.** Matéria seca e N total parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	69,9	61,2	65,6
Inoculado	65,4	74,0	69,7
120 kg N	72,5	69,6	71,1
C. V. (%)		16,2	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	33,1	26,3 b	29,6 b
Inoculado	32,0	36,9 a	34,4 ab
120 kg N	32,1	43,0 a	37,5 a
C. V. (%)		21,1	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	31,2	24,8 b	28,0 b
Inoculado	27,7	33,2 a	30,4 b
120 kg N	32,3	38,9 a	35,6 a
C. V. (%)		16,6	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	242,3	156,7	199,5
Inoculado	179,2	234,5	206,8
120 kg N	238,3	224,3	231,3
C. V. (%)		30,9	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	120,4	75,5 b	98,0 b
Inoculado	114,6	132,3 a	123,5 ab
120 kg N	119,1	165,2 a	142,2 a
C. V. (%)		32,9	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	110,1	66,0 b	88,1 b
Inoculado	95,5	101,6 ab	98,6 b
120 kg N	119,7	140,2 a	130,0 a
C. V. (%)		31,2	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. O acúmulo de matéria seca e N total não foi avaliado na primeira soca. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O rendimento de toneladas de açúcar por hectare (TAH) não foi influenciado pelos tratamentos na variedade RB72454, ao passo na variedade RB867515 os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada promoveram incrementos significativos em relação ao controle. Estes resultados são similares aos observados para a produtividade de colmos, o que se justifica pelo fato do ATR não ter sido afetado pelos tratamentos e o rendimento de TAH ser resultante da multiplicação da produtividade de colmos pela porcentagem de sacarose aparente (Pol%). Na média das variedades, na segunda soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle, porém não diferiu da inoculação. Na terceira soca, a adubação nitrogenada foi superior aos dois tratamentos.

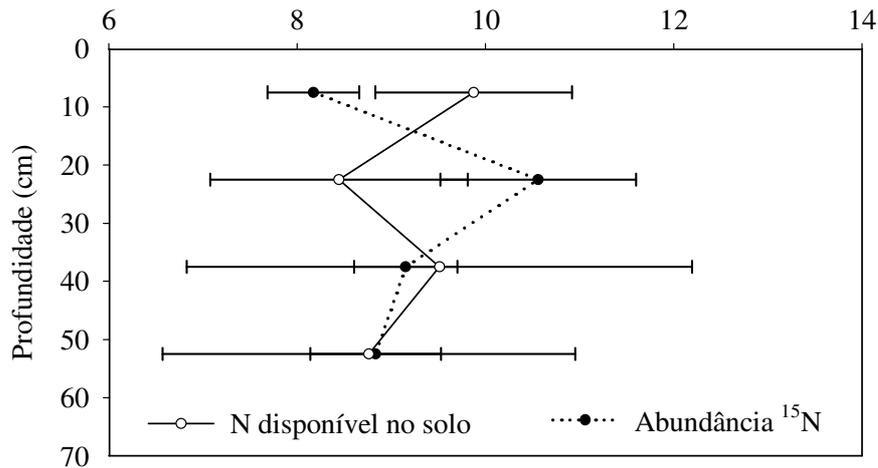
**Tabela 15.** Açúcares totais recuperáveis e produtividade de açúcar de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em um CAMBISSOLO FLÚVICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	136,9	138,5	137,6
Inoculado	134,0	130,6	132,3
120 kg N	136,1	131,6	133,8
C. V. (%)		7,3	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	152,4	148,6	150,5
Inoculado	140,9	143,3	142,1
120 kg N	143,3	144,5	143,9
C. V. (%)		6,8	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	9,2	7,3 b	8,2 b
Inoculado	8,8	10,6 a	9,7 ab
120 kg N	9,2	11,6 a	10,4 a
C. V. (%)		21,8	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	10,5	7,8 b	9,1 b
Inoculado	8,4	11,0 a	9,7 b
120 kg N	10,7	12,3 a	11,5 a
C. V. (%)		17,8	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. O rendimento de ATR e TAH não foi avaliado na cana-planta e na primeira soca. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A avaliação do N disponível e a variabilidade do isótopo <sup>15</sup>N no perfil do solo da área experimental, utilizando plantas testemunhas cultivadas em vasos, em casa de vegetação, mostrou pequena redução do N disponível e enriquecimento de delta <sup>15</sup>N em profundidade (Figura 10). Os valores médios de delta <sup>15</sup>N das três plantas testemunhas na camada de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram de +8,17, +10,56, +9,15 e 8,83, respectivamente. Em estudo similar em um ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO Urquiaga et al. (2011) verificaram redução mais acentuada do N disponível em profundidade, porém com enriquecimento do isótopo <sup>15</sup>N em profundidade apresentando o mesmo padrão observado neste estudo.

A variabilidade do N disponível e do enriquecimento do isótopo <sup>15</sup>N no perfil do solo nas condições deste estudo podem auxiliar no entendimento dos possíveis benefícios proporcionados pelo inoculante no desenvolvimento da cana de açúcar, uma vez que o aumento na eficiência de absorção de N em profundidade pode influenciar nos valores de delta <sup>15</sup>N da cana de açúcar, causando a elevação dos mesmos em relação ao controle não inoculado.



**Figura 10.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Santa Cruz S.A. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

A análise isotópica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira da cana de açúcar ao final do ciclo da cultura mostrou que as duas variedades apresentaram padrões distintos (Tabela 16). Na variedade RB72454, os valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira das plantas controle e da cana inoculada foram muito próximos, enquanto que na variedade RB867515, o tratamento inoculado mostrou valores de delta  $^{15}\text{N}$  superiores ao controle, na fase de cana-planta. Pela técnica de diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , se a maior produtividade registrada para a variedade RB867515 fosse decorrente do incremento da FBN na planta, deveria ocorrer uma redução proporcional dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas plantas inoculadas em comparação ao controle (UNKOVICH et al., 2008), no entanto, existem evidências de que os pressupostos de estabilidade e uniformidade de marcação isotópica do solo em profundidade não foram atendidos, o que pode ser observado pela avaliação do N disponível e a variabilidade do isótopo  $^{15}\text{N}$  no perfil do solo da área experimental (Figura 10).

Os resultados evidenciam que as plantas inoculadas mais bem nutridas apresentaram maior desenvolvimento radicular, que permitiu a absorção de N de camadas mais profundas do solo com marcação isotópica de  $^{15}\text{N}$  superior ao da camada mais superficial. Essa condição limitaria o adequado uso da técnica empregada para quantificar a FBN.

Por outro lado, o maior vigor das plantas inoculadas, observado na variedade RB867515 pelo aumento de produtividade e o acúmulo de matéria seca e N total, pode estar associado a efeitos de promotores de crescimento de plantas das bactérias do inoculante. O efeito promotor de crescimento pode ter promovido aumento de eficiência do sistema radicular em absorver e aproveitar melhor os nutrientes e água em camadas mais profundas do solo, proporcionando às soqueiras maior resistência ao estresse hídrico ocorrido nos dois meses após as colheitas da cana-planta, primeira e segunda soca (Figura 2). O solo pode inclusive ter beneficiado a interação planta-bactéria, por tratar-se de um CAMBISSOLO FLÚVICO, que possui argilas de atividade alta, capacidade de troca catiônica (CTC) da fração argila  $\geq 27 \text{ cmol}_c$  por kg de argila e decorrente disto elevada capacidade de retenção de água. Quanto à resistência ao estresse hídrico de plantas inoculadas com bactérias diazotróficas, Creus et al. (2004), estudando a inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* em trigo cultivado em um Argiudol typic (CHERNOSSOLO) no Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária na Argentina, verificaram que o inoculante promoveu aumento na resistência das plantas ao estresse hídrico.

Baseado no valor de delta  $^{15}\text{N}$  do solo (9,00), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar, a contribuição da FBN oscilou de 1,1% na variedade RB867515 na cana-planta a 47,7% na variedade RB72454 na terceira soca. O baixo potencial das duas variedades para FBN na cana-planta pode estar associado ao fato do solo da área experimental apresentar boa fertilidade, principalmente na cana-planta, devido ao preparo do solo para o plantio, sendo aplicado  $400 \text{ kg ha}^{-1}$  da formulação 04-30-20, na forma de N,  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $\text{K}_2\text{O}$ , além da aplicação da dose equivalente a  $15 \text{ Mg ha}^{-1}$  de torta de filtro no fundo dos sulcos. Oliveira et al. (2003), avaliando o potencial do inoculante para a cana de açúcar verificaram que o processo de FBN na cana de açúcar foi mais eficiente no solo de baixa fertilidade, corroborando os resultados deste estudo. De maneira geral observa-se redução dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas soqueiras, mostrando que a FBN se torna mais eficiente à medida que a fertilidade natural do solo vai se esgotando com as sucessivas colheitas ao longo dos anos.

**Tabela 16.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um em CAMBISSOLO FLÚVICO na usina Santa Cruz S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	RB72454				RB867515				Delta $^{15}\text{N}$ Do solo (%)
	Planta	1ª soca	2ª soca	3ª soca	Planta	1ª soca	2ª soca	3ª soca	
	Delta $^{15}\text{N}$ nas folhas-bandeira (%)								
Controle	7,9	7,5	5,4	5,5	7,1 b	6,2	5,1	4,9	9,0
Inoculado	8,2	7,6	4,8	4,7	8,9 a	7,7	5,8	5,4	
C. V. (%)	6,4	17,5	16,6	20,0	6,4	17,5	16,6	20,0	
	N derivado da FBN (%)								
Controle	12,0	16,7	40,1	38,9	21,1 a	31,1	43,3	45,5	
Inoculado	8,8	15,5	45,7	47,7	1,1 b	14,4	35,5	40,0	
C. V. (%)	24,0	35,6	24,0	26,7	24,0	35,6	24,0	26,7	

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste LSD com 10% de significância.

### 3.3.3. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na Usina Sapucaia S.A, RJ

Os resultados mostram variabilidade de respostas dos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada na produtividade de colmos das duas variedades (Tabela 17). A variedade RB72454 não foi influenciada pelos tratamentos na cana-planta, primeira e segunda soca. Na terceira soca o controle apresentou produtividade de colmos superior aos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada. A variedade RB867515 foi responsiva a inoculação e à adubação nitrogenada na cana-planta e responsiva a adubação nitrogenada na terceira soca. Na primeira e segunda soqueira não houve influência de tratamentos na produtividade de colmos da variedade RB867515.

Na média das variedades, na cana-planta os tratamentos foram superiores ao controle. Na primeira e segunda soqueira não houve diferença entre os tratamentos. Na terceira soca a inoculação apresentou produtividade de colmos inferior ao controle e a adubação nitrogenada.

A ausência de resposta da variedade RB72454 a adubação nitrogenada e a inoculação nos ciclos de cana-planta, primeira e segunda soca pode estar associada a sua rusticidade, adaptação em solos pobres (RIDESA, 2010) e ao elevado potencial para a FBN (POLIDORO et al. 2001b). O elevado potencial para a fixação biológica de  $\text{N}_2$  atmosférico da variedade RB72454 indica que a mesma possui interação eficiente com bactérias diazotróficas, assim, a

redução da produtividade de colmos verificada na terceira soca, na presença dos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada pode ser resultante de impacto negativo do fertilizante nitrogenado e das bactérias introduzidas pela inoculação. Efeitos negativos da inoculação de bactérias diazotróficas na produtividade da cana de açúcar ainda são pouco conhecidos, no entanto, Oliveira et al. (2002) e Canuto et al. (2003) verificaram redução do potencial germinativo de plântulas de cana de açúcar micropropagadas em condições de laboratório e casa de vegetação. Quanto à influência do N sobre bactérias diazotróficas, algumas estirpes apresentam elevada sensibilidade aos fertilizantes nitrogenados. Fuentes-Ramirez et al. (1993) e Reis Junior et al. (2000), verificaram que *Gluconacetobacter diazotrophicus* reduz sua população na presença de fertilizantes nitrogenados. Resultados similares foram relatados por Muthukumarasamy et al. (1999), avaliando o efeito do N em *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum spp* na Índia.

**Tabela 17.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	141,2	103,8 b	122,5 b
Inoculado	137,7	126,0 a	131,8 a
120 kg N	145,1	130,3 a	137,7 a
C. V. (%)		9,2	
Primeira soca (colheita de 2008)			
Controle	127,0	107,9	117,4
Inoculado	127,2	109,0	118,1
120 kg N	108,1	114,9	111,5
C. V. (%)		13,5	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	103,7	77,8	90,5
Inoculado	90,9	84,9	87,9
120 kg N	77,8	92,2	85,0
C. V. (%)		17,7	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	63,1 a	50,7 b	56,9 a
Inoculado	42,6 b	42,0 b	42,3 b
120 kg N	49,2 b	67,6 a	58,4 a
C. V. (%)		20,0	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Quanto à variedade RB867515, ao que tudo indica o aumento de produtividade promovido pelo inoculante na cana-planta, de forma similar à adubação nitrogenada pode ter resultado da maior eficiência no aproveitamento de água e nutrientes do solo, inclusive N. A ausência de resposta da variedade nas soqueiras pode ser devida a fatores climáticos e do genótipo, pois se trata do estabelecimento de dois organismos vivos (bactérias e planta) que sofrem diversas interferências externas, principalmente da população de microrganismos naturais do sistema onde o inoculante é introduzido (PARTIDA-MARTÍNEZ & HEIL, 2011). Os resultados da cana-planta mostram a importância do genótipo da variedade tanto na interação planta-bactéria quanto na resposta da cana de açúcar à adubação nitrogenada, uma vez que sobre as mesmas condições edafoclimáticas a variedade RB72454 não foi afetada

pelos tratamentos e a variedade RB867515 foi responsiva aos dois tratamentos.

Os acúmulos de matéria seca e N total foram afetados pelos tratamentos nos ciclo de segunda e terceira soqueira na variedade RB72454 e na terceira soqueira na variedade RB867515 (Tabela 18). O acúmulo de matéria seca na variedade RB72454 no controle foi superior ao tratamento inoculado e à adubação nitrogenada na segunda soca. Na terceira soca o acúmulo de matéria seca no tratamento inoculado foi inferior ao controle, no entanto não diferiu da adubação nitrogenada. Na variedade RB867515 os ciclos de cana-planta e segunda soqueira não apresentaram diferenças entre os tratamentos e o controle para o acúmulo de matéria seca. Na terceira soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle e ao tratamento inoculado. Na média das variedades não houve diferença entre os tratamentos e o controle para o acúmulo de matéria seca na cana-planta e primeira soca. Na terceira soca o controle e a adubação nitrogenada apresentaram acúmulo de matéria seca superior à inoculação.

**Tabela 18.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	59,2	48,4	53,8
Inoculado	60,8	57,5	59,1
120 kg N	59,7	61,5	60,6
C. V. (%)		16,5	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	44,7 a	33,0	38,8
Inoculado	36,4 b	34,5	35,5
120 kg N	33,6 b	40,2	36,9
C. V. (%)		16,7	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	31,3 a	25,8 b	28,6 a
Inoculado	21,9 b	22,2 b	22,1 b
120 kg N	26,1 ab	33,4 a	29,7 a
C. V. (%)		19,3	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	226,1	195,0	210,5
Inoculado	218,8	182,7	200,8
120 kg N	212,0	178,3	195,2
C. V. (%)		18,2	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	112,0 a	65,2	88,6
Inoculado	88,7 a	68,2	78,5
120 kg N	58,9 b	72,0	65,4
C. V. (%)		26,2	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	84,5 a	65,4 ab	75,0 a
Inoculado	58,7 b	55,0 b	56,9 b
120 kg N	74,8 ab	86,1 a	80,4 a
C. V. (%)		20,5	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. O acúmulo de matéria seca e N total não foi avaliado na primeira soca. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O acúmulo de N total não foi afetado pelos tratamentos nas duas variedades na cana-planta. A adubação nitrogenada reduziu significativamente o acúmulo de N total na variedade RB72454 na segunda soca e terceira soqueira. Na variedade RB867515 não houve influência de tratamento nos ciclos de cana-planta e segunda soca, na terceira soca o acúmulo de N total no tratamento com adubação nitrogenada foi superior ao tratamento inoculado, no entanto os dois tratamentos não diferiram do controle. Na média das variedades os tratamentos não afetaram o acúmulo de N total na cana-planta e na segunda soca, ao passo que na terceira soca o controle e a adubação nitrogenada foram superiores ao tratamento inoculado.

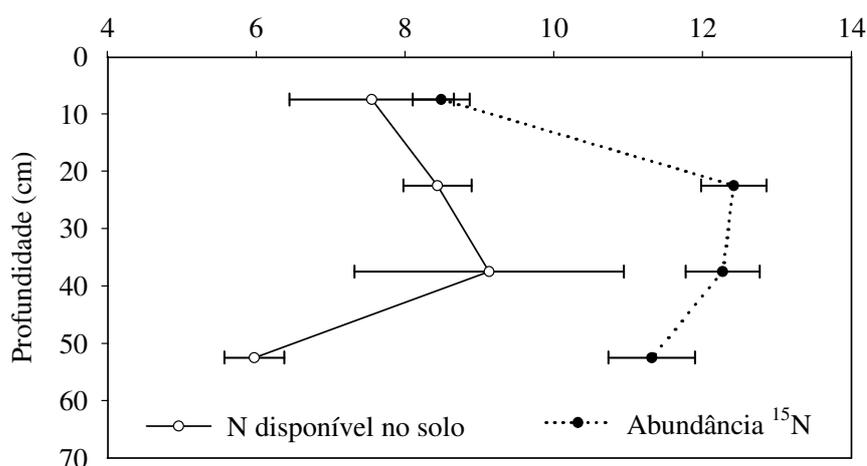
Na segunda e terceira soqueira foram avaliados os açúcares totais recuperáveis – ATR e o rendimento de açúcar em toneladas por hectare – TAH (Tabela 19). Não foram verificadas diferenças nos valores de ATR entre os tratamentos e o controle, indicando que as vias de síntese de açúcares não foram alteradas pela inoculação e pela adubação nitrogenada. O rendimento de TAH não foi afetado pelos tratamentos na segunda soca, nas duas variedades. Na terceira soca o tratamento inoculado foi inferior ao controle na variedade RB72454, entretanto o controle e a inoculação não diferiram da adubação nitrogenada. Na variedade RB867515 o tratamento inoculado foi inferior à adubação nitrogenada, no entanto os dois tratamentos não diferiram do controle. Para o efeito de tratamento a inoculação foi inferior ao controle e a adubação nitrogenada na terceira soca. De maneira geral o rendimento de TAH acompanhou a produtividade de colmos.

**Tabela 19.** Açúcares totais recuperáveis e produtividade de açúcar de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas em um ARGISSOLO AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média das variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	153,5	155,3	154,4
Inoculado	154,3	151,4	152,9
120 kg N	157,8	153,7	155,7
C. V. (%)		2,5	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	146,6	149,1	147,9
Inoculado	144,1	146,0	145,1
120 kg N	146,6	147,7	147,1
C. V. (%)		3,3	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	15,9	12,0	13,9
Inoculado	14,1	12,8	13,4
120 kg N	12,3	14,2	13,2
C. V. (%)		18,8	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	9,1 a	7,6 ab	8,4 a
Inoculado	6,2 b	6,1 b	6,2 b
120 kg N	7,2 ab	10,0 a	8,6 a
C. V. (%)		21,6	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. O rendimento de ATR e TAH não foi avaliado na cana-planta e na primeira soca. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas não diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O solo da área experimental apresentou aumento do N disponível e dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  em profundidade (Figura 11). Possivelmente o aumento do N disponível no solo até 45 cm de profundidade seja resultado do acúmulo no horizonte mais adensado/compactado, haja vista que, após análise visual realizada no momento da coleta de amostras de terra para o estudo complementar em casa de vegetação não foi verificada a presença de raízes abaixo da camada de 45 cm. Os valores médios de delta  $^{15}\text{N}$  das três plantas testemunhas na camada de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram +8,48, +12,42, +12,27 e +11,32, respectivamente, mostrando enriquecimento do isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade, inclusive até 30 cm de profundidade, início da camada compactada. A distribuição do isótopo  $^{15}\text{N}$  no perfil do solo e os teores de  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira apresentados na Tabela 20 dão evidências de que o inoculante atuou na promoção de crescimento das plantas.



**Figura 11.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (%o), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Sapucaia S.A. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

O tratamento com inoculante não influenciou significativamente os valores delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira e a FBN da cana de açúcar nas duas variedades nas quatro colheitas, com exceção da variedade RB867515 na cana-planta onde o delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar inoculada foi superior ao controle a 12% de significância ( $p < 0,12$ ) (Tabela 20). A ausência de resposta significativa ao inoculante na produtividade de colmos, no acúmulo de matéria seca e N total associada à similaridade entre os valores de delta  $^{15}\text{N}$  e a FBN do controle e o tratamento inoculado indica que a inoculação não apresentou eficiência, principalmente na variedade RB72454. Na variedade RB867515, no ciclo de cana-planta o inoculante promoveu aumento significativo no rendimento de colmos em relação ao controle, podendo ser resultado de maior aproveitamento de água e nutrientes do solo, principalmente N, uma vez que o valor de delta  $^{15}\text{N}$  do N presente nas folhas-bandeira da cana inoculada foi superior ao valor observado na cana de açúcar não inoculada (controle).

Baseado no valor de delta  $^{15}\text{N}$  do solo (11,2), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar, a variedade RB72454 apresentou FBN de 16,9% na cana-planta a 54,5% na segunda soca, ambas no tratamento inoculado. Na variedade RB867515 a FBN oscilou de 35,7% na cana-planta a 49,1% na terceira soca, no tratamento inoculado. A elevada eficiência natural da cultura em suprir parte de sua necessidade nutricional em N, torna possível a obtenção de produtividades satisfatórias mesmo em condições de solo e clima desfavoráveis como é o caso deste ensaio. Estes resultados vão de encontro aos relatados por Urquiaga et al. (1992, 2011).

**Tabela 20.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um em ARGISSOLO AMARELO na usina Sapucaia S.A, Campos dos Goytacazes, RJ

Tratamentos	RB72454				RB867515				Delta $^{15}\text{N}$ do solo (‰)
	Planta	1ª soca	2ª soca	3ª soca	Planta	1ª soca	2ª soca	3ª soca	
	Delta $^{15}\text{N}$ nas folhas-bandeira (‰)								
Controle	9,1	6,7	6,3	6,7	6,6 b	7,1	6,1	6,9	
Inoculado	9,3	6,7	5,1	6,2	7,2 a	6,8	5,9	5,7	11,2
C. V. (%)	6,3	9,6	18,3	13,3	6,3	9,6	18,3	13,3	
	N derivado da FBN (%)								
Controle	18,7	40,2	43,7	40,2	41,1	36,6	45,5	38,4	
Inoculado	16,9	40,2	54,5	44,6	35,7	39,3	47,3	49,1	
C. V. (%)	16,3	15,2	19,9	17,9	16,3	15,2	19,9	17,9	

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste LSD com 10% de significância e 12% para delta  $^{15}\text{N}$  de cana-planta na variedade RB867515.

### 3.3.4. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Na cana-planta o inoculante promoveu aumento significativo na produtividade de colmos da variedade RB863129, com incremento de  $14,1 \text{ Mg ha}^{-1}$  em relação ao controle não inoculando (Tabela 21). Os incrementos promovidos pelo inoculante na produtividade de colmos das variedades SP81-3250 e RB92579 não foram estatisticamente significativos, no entanto na média das três variedades a inoculação promoveu aumento significativo na produtividade de colmos sendo superior ao controle em  $9,3 \text{ Mg ha}^{-1}$  na cana-planta.

Nas três soqueiras não foram observadas diferenças significativas entre a inoculação e o controle não inoculado na produtividade de colmos. Na variedade RB92579 o inoculante promoveu aumento na produtividade de colmos de  $16,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , no entanto devido a elevada variabilidade dos dados, comprovado pelo coeficiente de variação (18,7%) esta diferença não foi significativa.

O acúmulo de matéria seca e N total não diferiu entre a inoculação e o controle nas quatro colheitas, com exceção do N total na variedade RB863129 na segunda soqueira, onde a inoculação promoveu aumento significativo no acúmulo de N total em relação ao controle, entretanto o aumento no acúmulo de N total não influenciou na produtividade de colmos.

De maneira geral não é possível afirmar que os incrementos observados, principalmente na produtividade de colmos, nas três variedades, nas quatro colheitas são resultantes da influência do inoculante, uma vez que as diferenças entre o controle e o tratamento inoculado não foram comprovadas estatisticamente, entretanto, pode-se inferir que houve de aumento de produtividade quando as variedades foram inoculadas, haja vista que, das três variedades avaliadas ao longo de quatro colheitas somente dois casos de ausência de resposta foram observados (SP81-3250 primeira soca e RB92579 segunda soca).

Os resultados dão evidências de que a interação planta-bactéria não ocorreu satisfatoriamente, principalmente nas soqueiras, possivelmente pela limitação de algum fator de produção, principalmente a ausência de chuvas nos meses de outubro e novembro (Figura 3), época em que foram realizadas as colheitas e a reinoculação das soqueiras. Para cana-planta, na qual foi observado o melhor resultado de incremento na produtividade de colmos pelo inoculante, foi registrada precipitação de 100 mm no mês de setembro e 50 mm no mês de outubro de 2007 (Figura 3), período em que o ensaio foi implantado. Além disso, as mudas

foram imersas na suspensão inoculante para o plantio, o que pode tornar a inoculação mais eficiente na cana-planta.

**Tabela 21.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar cultivadas por quatro colheitas consecutivas em PLANOSSOLO HÁPLICO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi - Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Variedades	Colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )		Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )		N-total (kg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Cana-planta (colheita de 2008)						
RB863129	116,6 <sup>1</sup> b	130,7 a	48,9	54,2	120,3	108,5
SP81-3250	117,7	123,2	52,4	53,5	122,1	118,9
RB92579	142,3	150,4	63,3	62,2	144,6	156,2
Média de var.	125,5 <sup>2</sup> b	134,8 a	54,7	56,6	129,0	127,8
C. V. (%)	8,9		10,0		19,9	
Primeira soca (colheita de 2009)						
RB863129	84,1	85,8	37,9	39,4	106,4	104,4
SP81-3250	72,7	67,1	35,5	31,4	85,1	82,2
RB92579	86,9	103,4	42,9	46,7	118,2	122,6
Média de var.	81,2	85,4	38,5	39,2	103,2	103,0
C. V. (%)	18,7		16,1		19,3	
Segunda soca (colheita de 2010)						
RB863129	104,0	108,1	37,0	39,6	105,0 b	125,9 a
SP81-3250	84,0	88,2	34,2	33,9	88,3	94,0
RB92579	89,3	83,5	36,5	39,0	95,4	91,3
Média de var.	92,4	93,3	35,9	37,5	96,2 b	103,7 a
C. V. (%)	14,4		13,2		8,7	
Terceira soca (colheita de 2011)						
RB863129	92,5	95,3	36,7	35,5	105,7	96,2
SP81-3250	76,3	78,6	30,7	32,0	99,6	83,7
RB92579	99,8	102,0	41,6	44,2	118,4	112,0
Média de var.	89,5	92,0	36,3	37,2	107,9	97,3
C. V. (%)	11,8		13,2		23,1	

<sup>1, 2</sup> Médias de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Nas colheitas da segunda e terceira soqueiras foram avaliados os rendimentos de açúcares totais recuperáveis (ATR) e o rendimento de açúcar em toneladas de açúcar por hectare (TAH) (Tabela 22). Estes parâmetros não foram influenciados de forma significativa pelos tratamentos nas duas colheitas. A similaridade entre os valores de ATR da cana de açúcar inoculada e o controle sem inoculação reforçam os resultados quanto a ausência de influência da inoculação nas vias de síntese de açúcares.

**Tabela 22.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar de segunda e terceira soqueiras, cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Tratamento	ATR (kg Mg <sup>-1</sup> )		TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Segunda soca (colheita de 2010)				
RB863129	141,7 <sup>1</sup>	137,5	14,7	14,8
SP81-3250	146,8	145,7	12,3	12,7
RB92579	148,7	152,4	13,2	12,7
Média de var.	145,7 <sup>2</sup>	145,2	13,4	13,4
C. V. (%)	6,3		11,4	
Terceira soca (colheita de 2011)				
RB863129	152,7	164,4	17,9	17,3
SP81-3250	156,5	160,3	15,3	18,5
RB92579	162,7	160,2	17,7	19,2
Média de var.	157,3	161,6	17,0	18,3
C. V. (%)	4,9		21,4	

<sup>1, 2</sup> Médias de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. A ausência de letras significa que não houve diferença entre os tratamentos. Teste t LSD com 10% de significância.

As variedades RB867515 e RB72454 apresentaram respostas distintas aos tratamentos com inoculação, adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle na produtividade de colmos (Tabela 23). Na cana-planta a adubação nitrogenada promoveu aumento significativo na produtividade de colmos em relação ao controle e a inoculação nas duas variedades. Na primeira soca não houve efeito de tratamento na produtividade de colmos. Na segunda soca a inoculação promoveu aumento na produtividade de colmos em relação ao controle e a adubação nitrogenada na variedade RB72454. Na terceira soca a adubação nitrogenada foi superior à inoculação, no entanto os tratamentos não diferiram do controle na variedade RB72454, ao passo que na variedade RB867515 a adubação nitrogenada proporcionou produtividade de colmos superior ao controle, não diferindo do tratamento inoculado. Na média das duas variedades na cana-planta e terceira soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle e a inoculação, na primeira e segunda soqueira os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram do controle.

A variabilidade das respostas das variedades aos tratamentos com inoculante e adubação nitrogenada, dificulta a identificação dos possíveis fatores de produção que atuaram no desenvolvimento e na produtividade da cultura, uma vez que sob as mesmas condições edafoclimáticas as variedades apresentaram respostas diferentes ao longo dos ciclos avaliados.

**Tabela 23.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO por quatro colheitas consecutivas com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Cana-planta (colheita de 2007)			
Controle	99,8 b	123,2 b	111,5 b
Inoculado	100,9 b	116,8 b	108,9 b
120 kg N	125,0 a	141,4 a	133,2 a
C. V. (%)		8,0	
Primeira soca (colheita de 2008)			
Controle	67,6	87,5	77,5
Inoculado	76,7	83,5	80,1
120 kg N	86,9	91,5	89,2
C. V. (%)		19,8	
Segunda soca (colheita de 2009)			
Controle	89,1 b	93,3	91,2
Inoculado	109,0 a	93,5	101,3
120 kg N	92,3 b	92,8	92,5
C. V. (%)		12,8	
Terceira soca (colheita de 2010)			
Controle	77,4 ab	81,1 b	79,3 b
Inoculado	74,8 b	96,1 ab	85,5 b
120 kg N	93,4 a	105,4 a	99,4 a
C. V. (%)		16,8	

Média do desdobramento tratamento x variedade é resultante de 4 repetições. Média de variedades é resultante de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Na cana-planta e na primeira soca o acúmulo de matéria seca acompanhou a produtividade de colmos nas duas variedades (Tabela 24). Na segunda soca a variedade RB72454 inoculada apresentou acúmulo de matéria seca superior ao controle, porém não diferiu da adubação nitrogenada. Na variedade RB867515 e na média das variedades (segunda soca) os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram do controle para o acúmulo de matéria seca. Na terceira soca a variedade RB72454 não foi influenciada pelos tratamentos para o acúmulo de matéria seca, ao passo que na variedade RB867515 o acúmulo de matéria seca acompanhou a produtividade de colmos. Na média das variedades da terceira soca a adubação nitrogenada apresentou acúmulo de matéria seca superior ao controle, no entanto não diferiu do tratamento inoculado.

O acúmulo de N total na cana-planta de modo geral acompanhou a produtividade de colmos nas duas variedades. Na primeira soca a adubação nitrogenada apresentou acúmulo de N total superior ao controle na variedade RB72454, porém não diferiu do tratamento inoculado. Na variedade RB867515 (primeira soca) não houve efeito de tratamento no acúmulo de N total, assim como verificado na média das variedades. Na segunda soca não houve efeito de tratamento no desdobramento tratamentos x variedade, porém na média das variedades a inoculação foi superior ao controle, não diferindo da adubação nitrogenada. Na terceira soca os tratamentos não influenciaram o acúmulo de N total da parte aérea das plantas.

**Tabela 24.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO por quatro colheitas consecutivas com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2008)			
Controle	38,8 b	54,8 b	46,8 b
Inoculado	41,9 b	54,3 b	48,1 b
120 kg N	45,8 a	64,6 a	55,2 a
C. V. (%)		6,8	
Primeira soca (colheita de 2009)			
Controle	32,1	40,2	36,2
Inoculado	36,2	38,8	37,5
120 kg N	40,3	40,3	40,3
C. V. (%)		19,0	
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	35,4 b	40,6	38,0
Inoculado	43,5 a	40,9	42,2
120 kg N	38,3 ab	41,4	39,8
C. V. (%)		12,7	
Terceira soca (colheita de 2011)			
Controle	32,4	33,0 b	32,7 b
Inoculado	31,8	41,6 ab	36,7 ab
120 kg N	38,1	45,0 a	41,5 a
C. V. (%)		19,3	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2008)			
Controle	105,3 b	110,4 b	107,8 b
Inoculado	114,5 b	136,4 ab	125,5 b
120 kg N	191,8 a	158,7 a	175,2 a
C. V. (%)		16,4	
Primeira soca (colheita de 2009)			
Controle	86,1 b	118,5	102,3
Inoculado	103,4 ab	108,5	105,9
120 kg N	117,6 a	102,5	110,0
C. V. (%)		20,9	
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	89,6	81,4	85,5 b
Inoculado	103,7	96,5	100,1 a
120 kg N	87,5	100,3	93,9 ab
C. V. (%)		17,4	
Terceira soca (colheita de 2011)			
Controle	80,2	80,3	80,2
Inoculado	81,5	102,7	92,1
120 kg N	88,8	95,3	92,1
C. V. (%)		23,0	

Média do desdobramento tratamento x variedade é resultante de 4 repetições. Média de variedades é resultante de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Na segunda soca não houve influência de tratamento no rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) nas duas variedades (Tabela 25). Na terceira soca a adubação nitrogenada

reduziu o rendimento de ATR na variedade RB867515 em relação ao controle e a inoculação, sendo o mesmo resultado observado na média das variedades.

O rendimento de TAH da variedade RB72454 foi positivamente influenciado pela inoculação na segunda soca e reduzida na presença da adubação nitrogenada na terceira soca. O rendimento de TAH na variedade RB867515 não foi afetado pelos tratamentos nas duas soqueiras. Na média das variedades não houve diferença entre os tratamentos e o controle na segunda soca, ao passo que na terceira soca a adubação nitrogenada reduziu o rendimento de TAH em relação ao controle, porém não diferiu da inoculação.

A redução do ATR observado na variedade RB867515 na terceira soca se justifica pelo fato da adubação nitrogenada prolongar o período vegetativo da cana de açúcar, resultando em menores teores de açúcares uma vez que a cultura não atingiu sua maturação fisiológica e o acúmulo máximo de açúcares (CASAGRANDE, 1991). Resende et al. (2006), em estudo desenvolvido na mesma região, verificaram que a adubação nitrogenada reduziu os teores de açúcar de cana de açúcar, no entanto, o ganho promovido na produtividade de colmos resultou em efeito positivo, ou seja, o ganho com aumentou na produtividade de colmos superou a redução dos teores de açúcares, contrariando os resultados deste estudo.

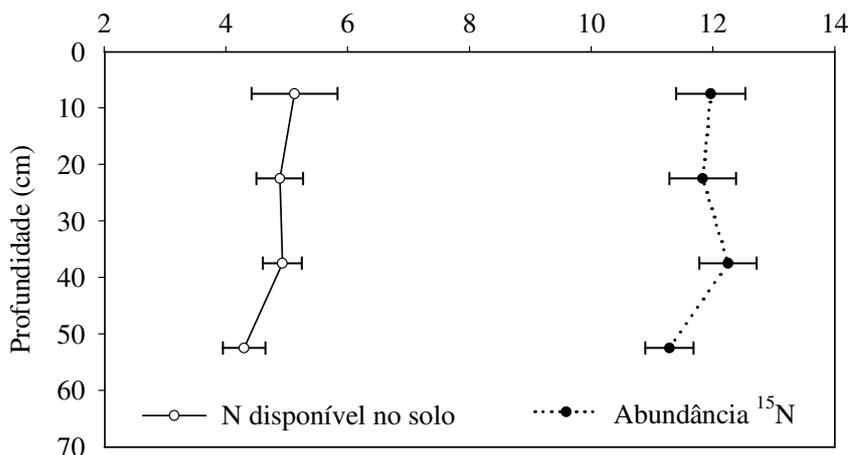
**Tabela 25.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em PLANOSSOLO HÁPLICO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi – Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	145,7	147,3	146,5
Inoculado	145,7	152,3	149,0
120 kg N	153,4	155,4	154,4
C. V. (%)		7,3	
Terceira soca (colheita de 2011)			
Controle	165,6	163,4 a	164,1 a
Inoculado	161,4	166,7 a	164,5 a
120 kg N	158,3	155,4 b	156,8 b
C. V. (%)		3,9	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Segunda soca (colheita de 2010)			
Controle	13,1 b	13,7	13,4
Inoculado	16,0 a	14,2	15,1
120 kg N	14,2 ab	14,4	14,3
C. V. (%)		14,3	
Terceira soca (colheita de 2011)			
Controle	17,5 a	19,4	18,5 a
Inoculado	16,5 ab	17,6	17,0 ab
120 kg N	13,8 b	17,1	15,4 b
C. V. (%)		14,6	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. O rendimento de ATR e TAH não foi avaliado na cana-planta e na primeira soca. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A avaliação do N disponível e a variabilidade do isótopo <sup>15</sup>N no perfil do solo da área experimental, utilizando plantas testemunhas cultivadas em vasos, em casa de vegetação, mostram redução do N disponível e do isótopo <sup>15</sup>N em profundidade no perfil do solo (Figura 12). Os valores médios de delta <sup>15</sup>N das três plantas testemunhas nas camadas de 0 a 15, 15 a

30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram +11,96, +11,83, +12,24 e +11,28, respectivamente. A estabilidade da disponibilidade do N e do isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade possivelmente seja resultante da translocação de N da camada superficial para as camadas mais profundas, principalmente pela textura arenosa do solo. Partindo do princípio de que o enriquecimento do solo com isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade pode influenciar os teores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira de cana de açúcar em função de seu maior ou menor desenvolvimento radicular, neste caso não é possível fazer inferências, uma vez que não houve aumentos dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  do solo no perfil avaliado.



**Figura 12.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruangi – Fazenda Maravilha. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorgum bicolor*). As barras representam o erro padrão da média.

Quanto aos valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira e a FBN da cana de açúcar, somente nas variedades SP81-3250, RB867515 e RB863129 na cana-planta e RB863129 na segunda soca foram afetadas pela inoculação (Tabela 26). Pelas premissas da metodologia de cálculo da fixação biológica de N, plantas que fixam mais  $\text{N}_2$  atmosférico apresentam diluição do isótopo  $^{15}\text{N}$ , reduzindo assim os valores de delta  $^{15}\text{N}$  no tecido vegetal. Assim, tomando como referência o controle não inoculado, este resultado mostra que o inoculante promoveu aumento de 25,7% na FBN da variedade SP81-3250 na cana-planta, entretanto, o aumento na FBN promovido pela inoculação não afetou de forma significativa a produtividade de colmos, no acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea das plantas. Na variedade RB863129, na cana-planta o valor de delta  $^{15}\text{N}$  da cana de açúcar inoculada foi inferior ao controle, mostrando que a inoculação promoveu aumento de 23% na FBN, resultando no aumento significativo na produtividade de colmos (Tabela 22). Na variedade RB867515 (cana-planta) o valor de delta  $^{15}\text{N}$  do tratamento inoculado foi superior ao controle, resultado para o qual não se tem uma explicação clara, uma vez que o solo não apresenta enriquecimento do isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade (Figura 12) e assim, mesmo que a inoculação tivesse promovido o aumento do sistema radicular não era de se esperar que o tecido vegetal das plantas apresentasse aumento nos valores de delta  $^{15}\text{N}$ . Além disso, a influência do inoculante nos teores de delta  $^{15}\text{N}$  no tecido vegetal não promoveu aumento na produtividade de colmos, no acúmulo de matéria seca e N total da variedade RB867515. Na segunda soca a variedade RB863129 apresentou aumento do valor de delta  $^{15}\text{N}$  no tratamento inoculado em relação ao controle, o que promoveu aumento significativo no acúmulo de N total, apesar de não ter havido influência na produtividade de colmos e no acúmulo de matéria seca (Tabela 22).

**Tabela 26.** Delta <sup>15</sup>N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por quatro colheitas consecutivas em um PLANOSSOLO HÁPLICO na usina Cruangi - Fazenda Maravilha, Goiana, PE

Tratamento	RB867515	RB863129	SP81-3250	RB72454	RB92579	Delta <sup>15</sup> N do solo
Delta <sup>15</sup> N nas folhas-bandeira da cana de açúcar (‰)						
Cana-planta (colheita 2008)						(‰)
Controle	6,1 b	9,2 a	9,1 a	6,0	6,2	11,7
Inoculado	8,7 a	6,5 b	6,1 b	5,8	5,9	
C. V. (%)	12,9					
Primeira soca (colheita 2009)						
Controle	4,9	5,0	4,8	5,0	4,8	
Inoculado	4,6	5,3	4,9	4,4	4,8	
C. V. (%)	12,3					
Segunda soca (colheita 2010)						
Controle	4,1	4,5 b	4,2	4,5	4,8	
Inoculado	4,6	5,7 a	3,9	4,8	4,6	
C. V. (%)	14,9					
Terceira soca (colheita 2011)						
Controle	4,4	4,4	4,6	4,2	4,8	
Inoculado	4,4	4,8	4,2	4,7	4,2	
C. V. (%)	13,7					
N derivado da FBN (%)						
Cana-planta (colheita 2008)						
Controle	47,8 a	21,4 b	22,2 b	48,7	47,0	
Inoculado	25,6 b	44,4 a	47,9 a	50,4	49,6	
C. V. (%)	19,1					
Primeira soca (colheita 2009)						
Controle	58,1	57,3	59,0	57,3	59,0	
Inoculado	60,7	54,7	58,1	62,4	59,0	
C. V. (%)	8,7					
Segunda soca (colheita 2010)						
Controle	64,9	61,5 a	64,1	61,5	59,0	
Inoculado	60,7	51,3 b	66,6	59,0	60,7	
C. V. (%)	9,6					
Terceira soca (colheita 2011)						
Controle	62,4	62,4	60,1	64,1	59,0	
Inoculado	62,4	59,0	64,1	60,0	64,1	
C. V. (%)	8,5					

Média de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD a 10% de significância.

Baseado no valor de delta <sup>15</sup>N do solo (11,7), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta <sup>15</sup>N das folhas-bandeira da cana de açúcar, os valores de FBN naturalmente associada à cultura, variaram de 21,4% na variedade RB863129 (controle) a 49,6% na variedade RB92579 inoculada, na cana-planta. Na primeira soca o menor valor foi de 54,7% na variedade RB863129 inoculada e o maior de 62,4% na variedade RB72454 inoculada. Na segunda soca o menor valor foi de 51,3% na variedade RB863129 e o maior de 66,6% na variedade SP81-3250 inoculada. Na terceira soca a contribuição variou de

59% na variedade RB863129 inoculada e RB92579 controle a 64,1% na variedade RB92579 inoculada. A redução dos valores de delta das folhas-bandeira nas soqueiras em relação à cana-planta sugere que o processo de FBN se torna mais importante na medida em que a fertilidade do solo se reduz com as sucessivas colheitas.

A elevada contribuição da FBN naturalmente associada à cultura justifica o baixo índice de respostas das variedades a inoculação, bem como à adubação nitrogenada, sugerindo que a interação planta-bactéria em condições naturais evoluiu beneficiando os dois organismos, ou seja, a cana de açúcar e as bactérias associativas.

### 3.3.5. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Nas duas colheitas não houve influência positiva da inoculação na produtividade de colmos, matéria seca e N total (Tabela 27). Na primeira soca o controle da variedade SP81-3250 foi superior ao tratamento inoculado na produtividade de colmos e o acúmulo de matéria seca.

**Tabela 27.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO, com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Variedades	Colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )		Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )		N total (kg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Cana-planta (colheita de 2010)						
RB863129	108,1 <sup>1</sup>	98,0	39,8	38,0	119,1	135,3
SP81-3250	87,9	91,9	37,6	34,7	105,7	97,8
RB92579	96,0	90,9	37,5	35,4	113,8	128,2
Média de var.	97,3 <sup>2</sup>	93,6	38,3	36,0	112,9	120,4
C. V. (%)	10,6		9,1		23,1	
Primeira soca (colheita de 211)						
RB863129	103,0	93,3	40,4	37,4	131,9	132,5
SP81-3250	111,6 a	94,1 b	47,3 a	38,0 b	141,2	124,6
RB92579	116,9	119,1	48,5	49,1	147,6	162,2
Média de var.	110,5	102,2	45,4	41,5	140,2	139,8
C. V. (%)	11,0		15,8		15,9	

<sup>1,2</sup> Média de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD a 10% de significância.

A ausência de resposta das variedades ao inoculante pode estar associada à fertilidade do solo, uma vez que este apresenta boa fertilidade, além da adubação de plantio realizada (Tabela 5). Em condições onde a cultura encontra adequada disponibilidade de N no solo possivelmente não ocorrerá resposta ao inoculante. Além disso, dois fatores importantes a serem considerados são o regime de chuvas e a temperatura média anual na região onde o experimento foi conduzido, sendo comum a ocorrência de meses sem registros de chuvas (Figura 5) e temperaturas elevadas (média anual de 28 °C), expondo as plantas à condições extremas de estresse hídrico, principalmente no período de maior desenvolvimento vegetativo na cana-planta e rebrota da soqueira (outubro/novembro/dezembro). Estas condições podem ter afetado de forma significativa o estado nutricional das plantas resultando na redução de seu desenvolvimento e conseqüentemente do potencial produtivo na presença do inoculante. Oliveira et al. (2002) e Canuto et al. (2003) verificaram que diferentes estirpes de bactérias diazotróficas reduziram o desenvolvimento de plantas de cana de açúcar em laboratório e casa

de vegetação e acreditam que o estado nutricional das plantas pode ter influenciado para tais resultados.

Na cana-planta o inoculante promoveu aumento significativo no rendimento de ATR na variedade SP81-3250 em relação ao controle não inoculado (Tabela 28). O rendimento de TAH não foi afetado pela inoculação na cana-planta.

Na primeira soca o tratamento inoculado não diferiu do controle para o rendimento de ATR. O rendimento de TAH da variedade SP81-3250 inoculada foi inferior ao controle. Na média das variedades não houve diferença entre o tratamento inoculado e o controle na cana-planta. Na segunda soca o tratamento inoculado apresentou rendimento de TAH inferior ao controle.

**Tabela 28.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por dois anos consecutivos em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Tratamento	ATR (kg Mg <sup>-1</sup> )		TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Cana planta (colheita de 2010)				
RB863129	141,3 <sup>1</sup>	141,1	15,3	13,9
SP81-3250	148,8 b	157,6 a	13,1	14,5
RB92579	149,7	146,3	14,4	13,4
Média de var.	146,6 <sup>2</sup>	148,3	14,3	13,9
CV (%)	3,4		13,0	
Primeira soca (colheita de 2011)				
RB863129	153,0	149,9	19,1	17,0
SP81-3250	150,4	149,0	20,1 a	17,0 b
RB92579	150,4	143,4	21,3	20,9
Média de var.	151,3	147,4	20,1 a	18,3 b
CV (%)	3,8		10,1	

<sup>1</sup> e <sup>2</sup> Média de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V. = coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

As duas variedades apresentaram variabilidade nas respostas aos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada (Tabela 29). Na cana-planta a variedade IAC94-4004 foi responsiva à adubação nitrogenada para a produtividade de colmos sendo superior ao controle e à inoculação. Na primeira soca a variedade IAC94-4004 não foi influenciada pelos tratamentos. A variedade RB867515 não foi afetada pelos tratamentos na cana-planta, no entanto na primeira soca a adubação nitrogenada promoveu produtividade de colmos superior à inoculação, não diferindo, porém do controle. Na cana-planta a produtividade de colmos média das variedades foi afetada pela adubação nitrogenada, sendo superior ao tratamento inoculado e o controle, não sendo verificada diferença entre os tratamentos e o controle na primeira soca.

Quanto ao acúmulo de matéria seca, na variedade IAC94-4004 a adubação nitrogenada foi superior ao controle e a inoculação na cana-planta. Na primeira soca a inoculação foi superior ao controle, porém não diferiu da adubação nitrogenada na variedade IAC94-4004. Na variedade RB867515 a inoculação promoveu acúmulo de matéria seca superior ao controle e a adubação nitrogenada na cana-planta. Na primeira soca os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram do controle no acúmulo de matéria seca na variedade RB867515. Na média das variedades a adubação nitrogenada foi superior ao controle, porém não diferiu da inoculação no acúmulo de matéria seca na cana-planta, na

primeira soca não houve diferença entre as médias das variedades.

O acúmulo de N total foi influenciado pelos tratamentos, sendo na cana-planta a adubação nitrogenada superior à inoculação na variedade IAC94-4004, no entanto os dois tratamentos não diferiram do controle. Na primeira soca a variedade IAC94-4004 não foi influenciada pelos tratamentos. Na variedade RB867515 nas duas colheitas o tratamento com adubação nitrogenada foi superior ao controle e a inoculação, sendo o mesmo resultado verificado para a média das variedades.

**Tabela 29.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	IAC94-4004	RB867515	
<b>Produtividade de colmos (Mg ha<sup>-1</sup>)</b>			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	81,8 b	92,9	87,4 b
Inoculado	81,7 b	98,0	89,8 b
120 kg N	99,0 a	102,0	100,5 a
C. V. (%)		9,6	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	100,7	116,3 ab	108,5
Inoculado	114,4	106,6 b	110,5
120 kg N	112,7	132,1 a	122,4
C. V. (%)		14,6	
<b>Matéria seca (Mg ha<sup>-1</sup>)</b>			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	32,4 b	38,1 b	35,3 b
Inoculado	33,0 b	43,7 a	38,3 ab
120 kg N	42,3 a	36,1 b	39,2 a
C. V. (%)		9,3	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	37,0 b	47,7	42,4
Inoculado	46,6 a	46,2	46,4
120 kg N	40,6 ab	51,2	45,9
C. V. (%)		15,5	
<b>N total (kg ha<sup>-1</sup>)</b>			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	102,9 ab	106,9 b	104,9 b
Inoculado	98,6 b	98,6 b	98,6 b
120 kg N	121,6 a	157,4 a	139,5 a
C. V. (%)		11,1	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	118,8	142,9 b	130,8 b
Inoculado	135,0	133,5 b	134,2 b
120 kg N	137,0	173,1 a	155,1 a
C. V. (%)		19,5	

Média do desdobramento tratamento x variedade é resultante de 4 repetições. Média de variedades é resultante de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Os tratamentos com inoculação e a adubação nitrogenada influenciaram significativamente os rendimentos de ATR e TAH nas duas variedades na cana-planta, ao

passo que na primeira soca não houve efeito de tratamento (Tabela 30). Na variedade IAC94-4004 a adubação nitrogenada foi superior ao controle e a adubação nitrogenada no rendimento de ATR e TAH (cana-planta). Na variedade RB867515 os dois tratamentos promoveram aumentos significativos nos rendimentos de ATR e TAH em relação ao controle (cana-planta).

Na média das variedades a adubação nitrogenada foi superior ao controle e à inoculação para o rendimento de ATR na cana-planta. Na primeira soca os tratamentos não diferiram do controle no rendimento de ATR na média das variedades. Quanto ao rendimento de TAH (média das variedades) a adubação nitrogenada promoveu aumento significativo em relação ao controle e a inoculação na cana-planta, ao passo que na primeira soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle, porém não diferiu do tratamento inoculado.

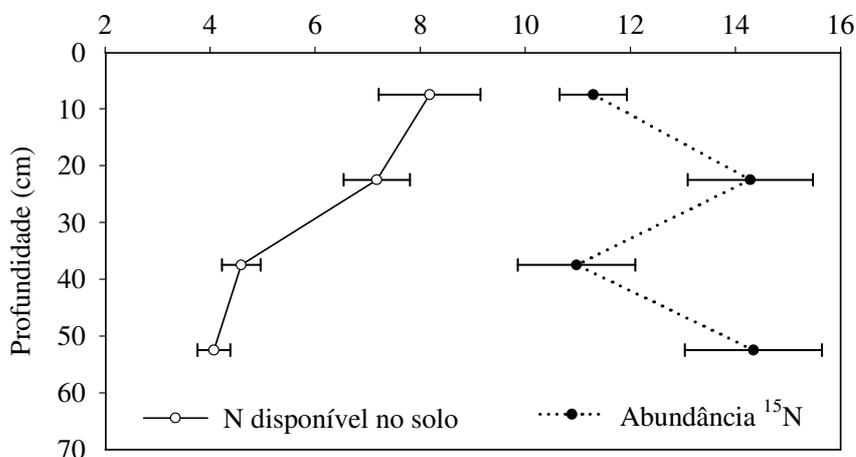
**Tabela 30.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	IAC94-4004	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	147,6 b	143,7 b	145,7 b
Inoculado	138,0 c	152,7 a	145,2 b
120 kg N	154,7 a	155,7 a	155,2 a
C. V. (%)		3,6	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	144,7	153,0	148,8
Inoculado	146,5	156,4	151,4
120 kg N	152,0	148,1	150,1
C. V. (%)		4,5	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	12,1 b	13,3 b	12,7 b
Inoculado	11,2 b	15,0 a	13,1 b
120 kg N	15,3 a	15,9 a	15,6 a
C. V. (%)		9,4	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	17,3	21,8	19,6 b
Inoculado	20,3	20,0	20,1 ab
120 kg N	20,6	23,8	22,2 a
C. V. (%)		13,0	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A disponibilidade de N no solo apresenta redução em profundidade, ao mesmo tempo o isótopo <sup>15</sup>N no perfil do solo da área experimental aumenta acentuadamente na camada de 15 a 30 cm, em relação à camada de 0 a 15 cm (Figura 13). Os valores médios de delta <sup>15</sup>N das três plantas testemunhas nas camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram +11,29, +14,28, +10,97 e +14,34, respectivamente. A redução da disponibilidade de N em profundidade é resultado do manejo do solo da área experimental, a qual por muitos anos vem sendo cultivada com a cultura de cana de açúcar com a queima da palhada. Além disso, era esperado que o solo da área experimental apresentasse redução da disponibilidade de N em profundidade, principalmente por tratar-se de uma região onde poucas práticas

conservacionistas são adotadas. O enriquecimento de delta  $^{15}\text{N}$  verificado neste solo contraria os resultados já discutidos anteriormente, além dos trabalhos de Urquiaga et al. (2011) e Schultz et al. (2012), os quais verificaram o enriquecimento de forma mais constante em profundidade.



**Figura 13.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruangi – Timbaúba. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorgum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

O tratamento com inoculante não alterou os valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira da cana de açúcar inoculada em relação ao controle não inoculado (Tabela 31). Estes resultados sugerem que a inoculação não afetou a FBN da cultura.

Com base no valor de delta  $^{15}\text{N}$  do solo (12,5) e os valores de delta  $^{15}\text{N}$  no tecido vegetal das variedades de cana de açúcar a FBN naturalmente associada à cana de açúcar oscilou de 55,2% na variedade RB863129 a 65,6% na variedade IAC94-4004 na cana-planta, ambas inoculadas. Na primeira soca estes valores variaram de 58,4% na variedade RB867515 controle a 72% na variedade RB863129, ambas no controle. A elevada contribuição da FBN naturalmente associada à cana de açúcar sugere que nas condições deste ensaio existe a associação bem estabelecida entre a cultura e bactérias fixadoras de  $\text{N}_2$  atmosférico. Assim, é possível que a população de bactérias diazotróficas introduzidas com o inoculante não tenha se estabelecido pela elevada competitividade da população de bactérias naturais adaptadas às condições edafoclimáticas da região. Segundo Baldani et al. (1986a) e outros autores citados na revisão de Partida-Martínez & Heil (2011), as bactérias diazotróficas introduzidas nos sistemas produtivos via inoculação precisam competir com a população de microrganismos natural desse sistema. Esta competição pode tornar a inoculação ineficiente, uma vez que a competitividade da população já adaptada às condições edafoclimáticas provavelmente seja maior do que a da população introduzida pela inoculação.

**Tabela 31.** Delta <sup>15</sup>N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivada em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO na usina Cruangi, Timbaúba, PE

Tratamento	RB867515	IAC94-4004	RB863129	SP81-3250	RB92579	Delta <sup>15</sup> N do solo (%)
	Delta <sup>15</sup> N nas folhas-bandeira (%)					
Cana-planta (colheita 2010)						
Controle	4,9	4,5	5,2	4,9	5,3	12,5
Inoculado	4,7	4,3	5,6	5,2	5,2	
C. V. (%)						13,1
Primeira soca (colheita 2011)						
Controle	5,2	4,5	3,5	4,6	3,9	
Inoculado	4,7	4,0	4,5	4,0	4,0	
C. V. (%)						24,6
N derivado da FBN (%)						
Cana-planta (colheita 2010)						
Controle	60,8	64,0	58,4	63,2	57,6	
Inoculado	62,4	65,6	55,2	58,4	58,4	
C. V. (%)						8,7
Primeira soca (colheita 2011)						
Controle	58,4	64,0	72,0	63,2	68,8	
Inoculado	62,4	65,6	64,0	68,0	68,0	
C. V. (%)						12,9

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. A ausência de letras significa que não houve diferença entre tratamentos. Teste t LSD com 10% de significância.

### 3.3.6. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Coruripe, Coruripe, AL

A produtividade de colmos, o acúmulo de matéria seca e N total dos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram estatisticamente do controle nas duas colheitas (Tabela 32). Entretanto, no ciclo de cana-planta a inoculação promoveu incrementos na produtividade de colmos de 11,1 e 18,3 Mg ha<sup>-1</sup> nas variedades RB92579 e RB98710, respectivamente. Os valores de incrementos na produtividade de colmos proporcionados pela inoculação evidenciam que o inoculante pode estar afetando positivamente o potencial produtivo da cana de açúcar, no entanto a grande variabilidade dos dados não permite aos modelos estatísticos detectarem essas diferenças.

Os valores de ATR não diferiram estatisticamente entre o tratamento com inoculação e o controle não inoculado, nas duas colheitas, ao passo que os rendimentos de TAH apresentaram variações em função do tratamento com o inoculante (Tabela 33). Na primeira soqueira o inoculante promoveu incremento significativo (2,6 Mg ha<sup>-1</sup>) em relação ao controle no rendimento de TAH da variedade RB92579. Neste ciclo ainda a média das três variedades inoculadas foi estatisticamente superior ao controle em 1,6 Mg ha<sup>-1</sup>.

Os resultados deste ensaio reforçam a hipótese de que as vias de síntese de açúcares não são influenciadas pela inoculação, uma vez que os valores de ATR do tratamento inoculado não diferem do controle. O incremento no rendimento de TAH promovido pela inoculação na variedade RB92579 pode ser um indicativo que os pequenos incrementos verificados no rendimento de colmos sejam resultantes do efeito da inoculação.

**Tabela 32.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca total e N total da parte aérea de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL

Variedades	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
	Colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )		Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )		N-total (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cana-planta (colheita de 2010)						
RB92579	159,4 <sup>1</sup>	170,5	66,0	70,2	186,6	205,1
RB98710	125,2	143,5	56,7	63,7	170,9	191,0
RB93509	141,7	145,9	64,7	61,1	193,1	183,2
Média de var.	142,1 <sup>2</sup>	153,3	62,5	65,0	183,5	193,1
C. V. (%)	17,4		16,9		18,9	
Primeira soca (colheita de 2011)						
RB92579	128,9	131,8	56,0	56,3	133,5	123,2
RB98710	101,8	107,9	43,4	45,1	109,3	107,4
RB93509	131,3	127,7	60,0	55,0	130,9	130,5
Média de var.	120,7	122,7	53,1	52,1	124,5	120,4
C. V. (%)	5,5		7,4		13,3	

<sup>1,2</sup> Médias de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

**Tabela 33.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de três variedades de cana de açúcar, cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL

Variedades	ATR (kg Mg <sup>-1</sup> )		TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Cana-planta (colheita de 2010)				
RB92579	168,0 <sup>1</sup>	163,8	26,8	28,0
RB98710	162,2	163,9	20,4	23,6
RB93509	147,5	152,7	20,8	22,3
Média de var.	159,2 <sup>2</sup>	160,1	22,7	24,6
C. V. (%)	4,7		18,9	
Primeira soca (colheita de 2011)				
RB92579	146,4	158,3	23,1 b	25,7 a
RB98710	158,6	157,1	20,0	20,9
RB93509	129,3	143,1	21,4	22,7
Média de var.	144,8	152,8	21,5 b	23,1 a
C. V. (%)	6,6		6,7	

<sup>1 e 2</sup> Médias de 4 e 12 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada influenciaram de maneira distinta as variedades RB72454 e RB867515 (Tabela 34). Na cana-planta a variedade RB72454 foi responsiva à adubação nitrogenada, com incremento na produtividade de colmos estatisticamente superior ao controle (37,4 Mg ha<sup>-1</sup>), entretanto não diferiu do tratamento inoculado, o qual apresentou aumento na produtividade de colmos de 16,6 Mg ha<sup>-1</sup> em relação ao controle. Na primeira soca a adubação nitrogenada apresentou produtividade de colmos superior ao tratamento inoculado na variedade RB72454, no entanto ambos não diferiram do controle. A variedade RB867515 foi responsiva a adubação nitrogenada e a inoculação na

cana-planta com incrementos significativos no rendimento de colmos de 38 e 42,4 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, em relação ao controle. Na primeira soca não houve influência de tratamento na produtividade de colmos da variedade RB867515. Na média das variedades a inoculação e a adubação nitrogenada promoveram aumentos significativos na produtividade de colmos em relação ao controle na cana-planta. Na primeira soca a adubação nitrogenada foi superior ao controle e a inoculação na produtividade de colmos.

**Tabela 34.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle, na usina Coruripe, Coruripe, AL

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Produtividade de colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	132,1 b	115,9 b	122,4 b
Inoculado	148,7 ab	153,9 a	148,4 a
120 kg N	169,5 a	158,3 a	165,1 a
C. V. (%)		12,8	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	109,9 ab	120,8	115,4 b
Inoculado	102,6 b	126,1	114,4 b
120 kg N	121,2 a	130,1	125,7 a
C. V. (%)		8,0	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	56,4 b	46,9 b	51,1 b
Inoculado	63,2 ab	68,4 a	64,3 a
120 kg N	70,2 a	65,3 a	68,2 a
C. V. (%)		15,7	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	42,9	52,9	47,9
Inoculado	43,1	56,8	49,9
120 kg N	47,3	55,5	51,6
C. V. (%)		9,0	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	168,5	133,5 b	148,5 b
Inoculado	177,3	198,2 a	186,6 a
120 kg N	199,2	182,8 a	191,0 a
C. V. (%)		15,9	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	98,2 b	127,5	112,8
Inoculado	93,1 b	138,8	115,9
120 kg N	118,3 a	129,1	123,7
C. V. (%)		12,4	

Média do desdobramento tratamento x variedade é resultante de 4 repetições. Média de variedades é resultante de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O acúmulo de matéria seca na cana-planta acompanhou a produtividade de colmos nas duas variedades. Na primeira soca os tratamentos não diferiram do controle para o acúmulo de matéria seca.

O acúmulo de N total não foi influenciado pelos tratamentos na variedade RB72454 na cana-planta, ao passo que na primeira soca o tratamento com adubação nitrogenada foi superior ao controle e a inoculação. Na variedade RB867515 o acúmulo de N total na cana-planta acompanhou a produtividade de colmos. Na primeira soca os tratamentos não afetaram o acúmulo de N total na variedade Rb867515. Na média geral das variedades os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada foram superiores ao controle na cana-planta e não diferiram do controle na primeira soca.

De maneira geral os acúmulos de matéria seca e N total acompanham a produtividade de colmos, o que se justifica pelo da fração colmos representar em torno de 70% do total da matéria seca da parte aérea da cultura.

O rendimento de ATR não diferiu entre os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada nas duas variedades, nas duas colheitas (Tabela 35). O rendimento de TAH basicamente acompanhou a produtividade de colmos, o que era de se esperar uma vez que os teores de ATR não foram afetados e a produtividade de colmos é fator determinante no cálculo do rendimento de açúcar.

**Tabela 35.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Coruripe, Coruripe, AL

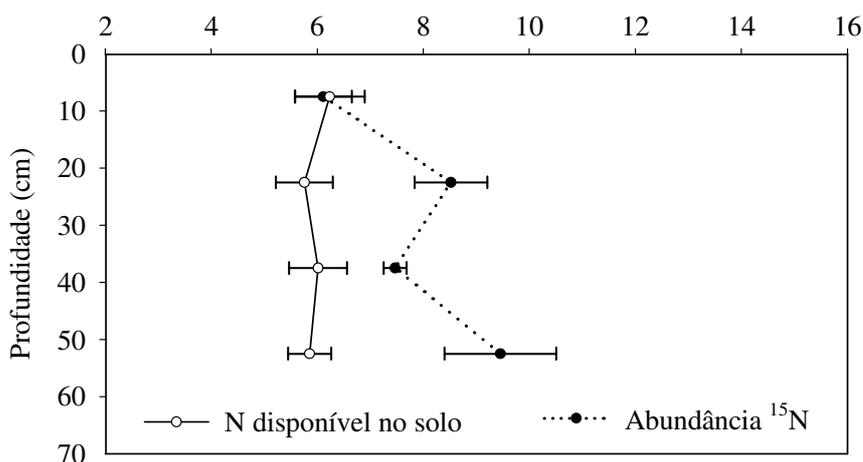
Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	161,7	159,8	160,7
Inoculado	166,9	157,2	162,0
120 kg N	166,6	150,1	158,3
C. V. (%)	5,7		
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	149,6	149,4	149,5
Inoculado	146,5	153,3	149,9
120 kg N	147,7	148,5	148,1
C. V. (%)	6,2		
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	21,8 b	18,4 b	19,6 b
Inoculado	24,8 b	24,2 a	24,1 a
120 kg N	28,1 a	23,8 a	26,3 a
C. V. (%)	14,9		
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	20,3 ab	22,3	21,3 ab
Inoculado	18,5 b	23,9	21,1 b
120 kg N	22,2 a	23,9	23,1 a
C. V. (%)	9,5		

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Média de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A Figura 14 mostra a distribuição do N disponível no solo e o enriquecimento de <sup>15</sup>N em profundidade. A manutenção da disponibilidade de N em profundidade no solo pode ser resultado de subsolagem e incorporação de resíduos de adubo verde (*Crotalaria juncea*), cultivado na área experimental antes da implantação do experimento.

Os valores médios de delta <sup>15</sup>N nas camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm

foram +6,11, +8,52, +7,47 e + 9,46, respectivamente. O enriquecimento do N disponível no solo com o isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade pode ser observado com frequência, sendo observado na maioria dos solos das áreas experimentais deste estudo, por autores de trabalhos desenvolvidos em outras regiões, bem como em solos diferentes (LEDGARD *et al.*, 1984; UNKOVICH *et al.*, 2008; URQUIAGA *et al.*, 2011). A distribuição do isótopo  $^{15}\text{N}$  no perfil do solo associado aos valores de delta  $^{15}\text{N}$  do tecido de cana de açúcar (Tabela 36) pode auxiliar na compreensão dos resultados no que se refere a influência da inoculação no potencial produtivo das variedades.



**Figura 14.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Coruripe, Coruripe, AL. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

Os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar não diferiram estatisticamente entre o tratamento inoculado e o controle não inoculado nas variedades estudadas, com exceção da variedade RB72454 na primeira soca (Tabela 36). A similaridade entre os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira, principalmente na variedade RB867515 que apresentou incremento significativo na produtividade de colmos e TAH na presença do inoculante pode ser indicativo de que o processo de FBN e o efeito de fitormônios atuam simultaneamente, ou que o benefício do inoculante se deu através da absorção de outros nutrientes, principalmente pela exploração de maior volume de solo, em caso de ter ocorrido o aumento no desenvolvimento do sistema radicular.

A redução do valor de delta  $^{15}\text{N}$  na variedade RB72454 inoculada em relação ao controle indica que a FBN foi mais eficiente no tratamento inoculado, promovendo a diluição do isótopo  $^{15}\text{N}$  no tecido vegetal, no entanto, isto não resultou em aumento de produtividade e no incremento de rendimento de açúcares (TAH), sendo verificado que neste ciclo o tratamento inoculado apresentou produtividade de colmos e TAH de 7,3 e 1,8  $\text{Mg ha}^{-1}$  inferiores ao controle não inoculado. Este resultado leva a inferir que o inoculante pode ter ocasionado efeito negativo no potencial produtivo da cultura, no entanto pouco se sabe sobre este assunto até o momento.

O valor de delta  $^{15}\text{N}$  do solo (7,8), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar mostram que o processo de FBN naturalmente associado à cultura atuou na nutrição nitrogenada das plantas, causando diluição dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  tanto no controle como na cana inoculada. Assim, a contribuição da FBN naturalmente associada à cultura variou de 67,9% na variedade RB867515 (controle na cana-planta) a 74,3% na variedade RB98710 (cana-planta). Na

primeira soca a FBN foi 55,1% na variedade RB92579 controle a 67,9% na variedade RB98710 (controle). A elevada contribuição da FBN natural indica que possivelmente a população de bactérias introduzida foi exposta a condições adversas, principalmente pela competição da população naturalmente presente na cultura e adaptadas às condições climáticas reinantes (BALDANI et al., 1986a; PARTIDA-MARTÍNEZ & HEIL, 2011), entretanto a variedade RB867515 apresentou aumento significativo no potencial produtivo na cana-planta de maneira similar a adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N, o que ser efeito de promotor de crescimento de plantas sintetizadas pelas bactérias do inoculante.

**Tabela 36.** Delta <sup>15</sup>N de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas por dois anos em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO na usina Coruripe, Coruripe, AL

Tratamento	RB867515	RB72454	RB92579	RB98710	RB93509	Delta <sup>15</sup> N do solo (%)
	Delta <sup>15</sup> N nas folhas-bandeira (%)					
Cana-planta (colheita 2010)						
Controle	2,5	2,1	2,2	2,0	2,4	7,8
Inoculado	2,3	2,1	2,3	2,0	2,2	
C. V. (%)	14,08					
Primeira soca (colheita 2011)						
Controle	3,4	3,3 a	3,5	2,5	3,4	
Inoculado	3,3	2,8 b	3,1	2,8	3,5	
C. V. (%)	10,6					
N derivado da FBN (%)						
Cana-planta (colheita 2010)						
Controle	67,9	73,1	71,8	74,3	69,2	
Inoculado	70,5	73,1	70,5	74,3	71,8	
C. V. (%)	5,6					
Primeira soca (colheita 2011)						
Controle	56,4	57,7	55,1	67,9	56,4	
Inoculado	57,7	64,1	60,2	64,1	55,1	
C. V. (%)	7,1					

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. A ausência de letras significa que não houve diferença entre tratamentos. Teste LSD com 10% de significância.

### 3.3.7. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Cruz Alta, Grupo Guarani, Olímpia, SP

De maneira geral as variedades foram pouco afetadas pelo tratamento com inoculante nas três colheitas (Tabela 37). Na cana-planta somente a variedade CTC2 foi influenciada pela inoculação, apresentando produtividade de colmos inferior ao controle, com redução de 22,4 Mg ha<sup>-1</sup>. Na variedade CTC4 a inoculação promoveu aumento na produtividade de colmos de 13,4 Mg ha<sup>-1</sup> em relação ao controle, no entanto este incremento não diferiu estatisticamente. Na média das variedades não houve diferença entre o tratamento inoculado e o controle na cana-planta.

Na primeira soca, também não foi observada diferença estatística entre o tratamento inoculado e o controle não inoculado; porém, o inoculante promoveu incrementos na produtividade de colmos, com valores de 9,6; 10,1; 16,4 e 1,2 Mg ha<sup>-1</sup>, nas variedades RB935744, CTC2, CTC4 e CTC15, respectivamente. Os quais tornaram a média das quatro variedades estatisticamente superior ao controle não inoculando, com ganho de 9,3 Mg ha<sup>-1</sup>.

Na segunda soca, a inoculação promoveu aumentos significativos na produtividade de colmos e no acúmulo de matéria seca na variedade RB935744. Na variedade CTC4 o

inoculante promoveu aumento na produtividade de colmos de 11,3 Mg ha<sup>-1</sup>, no entanto este aumento não foi significativo estatisticamente. A variedade CTC2 inoculada apresentou produtividade de colmos significativamente inferior ao controle (26,7 Mg ha<sup>-1</sup>).

Os acúmulos de matéria seca e N total de maneira geral acompanharam a produtividade de colmos nas três colheitas.

A variabilidade de respostas das variedades ao tratamento com inoculante, com respostas positivas e negativas, embora nem sempre estatisticamente significativo, torna difícil inferir sobre a influência dos fatores edafoclimáticos na interação planta-bactéria. Além disso, em solos com boa fertilidade natural, principalmente em N (Tabela 7 e Figura 15), o inoculante pode ter sua eficiência reduzida, uma vez que as plantas suprem suas necessidades nutricionais com o N disponível no solo.

A redução de produtividade de colmos, matéria seca e N total ocorrida de forma expressiva na variedade CTC2 inoculada em relação ao controle não inoculado, pode ser resultado de efeito negativo do aumento da população de bactérias nas plantas. Resultados similares aos observados na variedade CTC2 foram verificados na variedade RB72454 nos ensaios das usinas Santa cruz S.A, Sapucaia S.A, Cruz Alta – grupo Guarani e na usina Coruripe. Ao que tudo indica estas variedades (RB72454 e CTC2) parecem estar mais expostas às alterações de mutualismo/antagonismo que pode ocorrer na interação planta-bactéria (PARTIDA-MARTÍNEZ & HEIL, 2011), possivelmente influenciadas por fatores externos de clima e solo. Segundo Oliveira et al. (2009), a interação planta-bactéria já alcançou grandes avanços nos últimos anos, mas ainda há muito a ser entendido.

**Tabela 37.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de quatro variedades de cana de açúcar cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Variedades	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
	Colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )		Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )		N-total (kg ha <sup>-1</sup> )	
Cana-planta (colheita de 2009)						
RB935744	134,7 <sup>1</sup>	137,6	58,6	63,4	182,4	239,8
CTC2	136,0 a	113,6 b	45,5	38,7	136,9	121,1
CTC4	132,8	146,2	43,0	55,3	139,2	171,5
CTC15	101,4	105,3	41,6	32,9	167,5	122,6
Média de var.	126,2 <sup>2</sup>	125,6	47,2	47,6	156,5	163,7
C. V. (%)	12,8		30,9		32,3	
Primeira soca (colheita de 2010)						
RB935744	136,6	146,2	46,6	48,1	93,1	109,5
CTC2	139,2	149,3	50,6	56,0	127,2	122,0
CTC4	128,2	144,6	50,1	54,0	107,2	112,5
CTC15	132,4	133,6	49,8	51,6	113,1	117,8
Média de var.	134,1 b	143,4 a	49,3 b	52,4 a	110,2	115,5
C. V. (%)	9,7		9,2		13,1	
Segunda soca (colheita de 2011)						
RB935744	102,6 b	130,5 a	39,6 b	49,5 a	107,9	132,4
CTC2	128,2 a	101,5 b	56,3 a	48,3 b	160,9 a	117,8 b
CTC4	105,4	116,7	44,5 b	51,6 a	111,1	131,4
CTC15	105,5	101,7	51,0	46,7	141,3	120,5
Média de var.	110,4	112,6	47,8	49,0	130,3	125,5
C. V. (%)	11,2		12,2		19,8	

<sup>1,2</sup> Média de 4 e 16 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

As variedades RB935744 e CTC4 na cana-planta e RB935744 e CTC2 na segunda soca foram estatisticamente afetadas pelo tratamento com inoculação, sendo que as variedades RB935744 e CTC4 foram influenciadas positivamente e a CTC2 de forma negativa, com redução de rendimento de TAH no tratamento inoculado em relação ao controle não inoculado (Tabela 38). Na cana-planta houve aumento significativo no rendimento de ATR nas variedades RB935744, CTC4 e na média das variedades. Quanto ao rendimento de TAH na cana-planta, o inoculante promoveu aumento significativo de 3,9 Mg ha<sup>-1</sup> em relação ao controle não inoculado na variedade CTC4. Na média das variedades não houve diferença significativa entre o controle e a inoculação no rendimento de TAH na cana-planta.

Na primeira soca a inoculação não influenciou de forma significativa os rendimentos de ATR e TAH. Na segunda soca o tratamento com inoculante não influenciou de forma significativa o rendimento de ATR nas quatro variedades. Quanto ao rendimento de TAH na segunda soca, a inoculação promoveu incremento significativo na variedade RB935744 (4,3 Mg ha<sup>-1</sup>) em relação ao controle. Na variedade CTC2 a inoculação acarretou na redução significativa do rendimento TAH (4,6 Mg ha<sup>-1</sup>) em relação ao controle. A média das variedades não diferiu entre o controle e a inoculação para o rendimento de ATR e TAH na segunda soca.

**Tabela 38.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de quatro variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO, com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Variedades	ATR (kg Mg <sup>-1</sup> )		TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Cana-planta (colheita de 2009)				
RB935744	111,9 <sup>1</sup> b	125,2 a	15,0	17,2
CTC2	106,3	104,7	14,4	11,9
CTC4	109,5 b	125,7 a	14,5 b	18,4 a
CTC15	113,8	118,3	11,3	12,5
Média de var.	110,4 <sup>2</sup> b	118,5 a	13,8	15,0
C. V. (%)	8,4		13,5	
Primeira soca (colheita de 2010)				
RB935744	153,2	148,2	20,9	21,6
CTC2	160,9	160,2	22,4	23,9
CTC4	168,4	166,7	21,6	24,1
CTC15	162,1	153,8	21,5	20,6
Média de var.	161,2	157,2	21,6	22,5
C. V. (%)	4,3		11,3	
Segunda soca (colheita de 2011)				
RB935744	155,8	155,4	16,1 b	20,4 a
CTC2	165,6	164,4	21,4 a	16,8 b
CTC4	164,9	166,6	17,6	19,6
CTC15	164,4	163,5	17,6	16,8
Média de var.	162,7	162,5	18,2	18,4
C. V. (%)	2,8		11,4	

<sup>1,2</sup> Média de 4 e 16 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Os rendimentos ATR e TAH nas três colheitas foram afetados de formas distintas pelo inoculante ora positiva e ora negativa, na mesma variedade, o que dificulta fazer inferências

sobre efeito do inoculante nestas variáveis. A variedade CTC2 parece ser submetida ao efeito negativo com maior frequência e maior intensidade que as demais variedades na presença do inoculante. Um dos fatores que pode ter contribuído para este efeito negativo do inoculante na variedade CTC2 pode ter sido o reduzido volume de chuvas logo após o plantio da cana-planta e o corte da primeira soca associado à influência do genótipo. Estudos anteriores realizados em laboratórios mostram que o estado nutricional das plantas, que é dependente do genótipo das plantas e das condições ambientes, com destaque para a adequada disponibilidade de água no solo, pode resultar em efeitos negativos da interação planta-bactéria no desenvolvimento e rendimento da cultura (OLIVEIRA et al., 2002; CANUTO et al., 2003).

A produtividade de colmos apresentou variações distintas aos tratamentos com adubação nitrogenada e inoculação nas três colheitas nas duas variedades (Tabela 39). Na variedade RB72454 a adubação nitrogenada promoveu incremento significativo em relação ao controle e a inoculação na cana-planta. Na primeira soca a variedade RB72454 não foi influenciada pelos tratamentos. Na segunda soca a adubação nitrogenada foi superior à inoculação, porém não diferiu do controle. Na variedade RB867515 não houve diferença entre o controle e a inoculação na produtividade de colmos na cana-planta e na primeira soca, sendo verificado ainda que nos dois ciclos a adubação nitrogenada acarretou na redução da produtividade de colmos. Na segunda soca não houve diferença entre os tratamentos para a produtividade de colmos na variedade RB867515.

**Tabela 39.** Produtividade de colmos ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Cana-planta (colheita de 2009)			
Controle	115,2 b	131,4 ab	123,3 a
Inoculado	82,7 c	135,5 a	109,1 b
120 kg N	155,0 a	116,7 b	135,9 a
C. V. (%)		12,1	
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	104,7	133,1 a	119,7
Inoculado	107,3	122,1 ab	114,7
120 kg N	107,6	120,1 b	113,1
C. V. (%)		8,9	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	86,8 ab	113,4	100,1
Inoculado	73,8 b	121,3	97,6
120 kg N	94,8 a	105,0	99,9
C. V. (%)		13,8	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Médias de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Na média das variedades a inoculação foi inferior ao controle e à adubação nitrogenada na cana-planta, resultado da redução expressiva na produtividade de colmos da variedade RB72454. Nas duas soqueiras não houve diferença entre as médias das variedades.

A variabilidade das respostas das duas variedades aos tratamentos mostra que o fator de maior influência foi o genótipo das plantas, uma vez que sob as mesmas condições edafoclimáticas as variedades apresentaram respostas diferentes ao longo dos anos avaliados.

A redução no potencial produtivo da variedade RB72454 na cana-planta pode estar associada ao efeito negativo da inoculação no plantio, no entanto pouco se sabe sobre o impacto negativo da inoculação na cana de açúcar.

Na variedade RB72454, na cana-planta o acúmulo de matéria seca do tratamento inoculado foi inferior à adubação nitrogenada (Tabela 40). Nas duas soqueiras (primeira e segunda) os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram do controle para o acúmulo de matéria seca na variedade RB72454. O acúmulo de N total da variedade RB72454 acompanhou o acúmulo de matéria seca nas três colheitas. Na variedade RB867515 não houve efeito de tratamento no acúmulo de matéria seca e N total na cana-planta e primeira soca. Na segunda soca a inoculação promoveu aumento na matéria seca e no acúmulo de N total em relação ao controle. Na média das variedades os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada não diferiram do controle nas três colheitas.

**Tabela 40.** Matéria seca e N total da parte aérea de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2009)			
Controle	46,1 ab	55,4	50,8
Inoculado	31,9 b	56,6	44,3
120 kg N	59,4 a	42,1	50,7
C. V. (%)		26,1	
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	42,7	48,1	45,4
Inoculado	40,8	45,9	43,4
120 kg N	38,7	46,4	42,6
C. V. (%)		9,3	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	39,6	50,8 b	45,2
Inoculado	33,3	65,4 a	49,3
120 kg N	36,2	46,6 b	41,4
C. V. (%)		25,1	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2009)			
Controle	194,9 ab	207,2	201,0
Inoculado	125,0 b	190,2	157,6
120 kg N	248,1 a	150,6	199,4
C. V. (%)		29,8	
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	95,6	107,9	101,8
Inoculado	97,0	108,7	102,8
120 kg N	88,4	102,4	95,4
C. V. (%)		4,7	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	118,1	122,9 b	120,5
Inoculado	96,3	164,4 a	130,4
120 kg N	119,1	140,6 ab	129,8
C. V. (%)		18,9	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Médias de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

Na variedade RB72454 a adubação nitrogenada promoveu aumento no valor de ATR em relação ao controle e a inoculação na cana-planta (Tabela 41). O rendimento de TAH apresentou incremento significativo no tratamento que recebeu a adubação nitrogenada e redução na presença do inoculante em relação ao controle na cana-planta. Nas duas soqueiras os tratamentos não afetaram o rendimento de ATR e TAH na variedade RB72454.

**Tabela 41.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por três colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Cana-planta (colheita de 2009)			
Controle	111,4 b	115,6 b	113,5
Inoculado	103,6 b	125,6 a	114,6
120 kg N	121,6 a	117,7 ab	119,6
C. V. (%)		6,3	
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	166,4	157,2	161,8
Inoculado	161,6	159,7	160,7
120 kg N	165,9	160,5	163,2
C. V. (%)		2,4	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	164,5	166,4	165,4 a
Inoculado	164,4	166,4	165,4 a
120 kg N	160,0	162,5	161,3 b
C. V. (%)		2,2	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Cana-planta (colheita de 2010)			
Controle	12,9 b	15,1 ab	14,0 b
Inoculado	8,6 c	17,0 a	12,8 b
120 kg N	18,8 a	13,6 b	16,2 a
C. V. (%)		11,5	
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	17,7	20,9	19,3
Inoculado	17,3	19,5	18,4
120 kg N	17,6	19,2	18,4
C. V. (%)		9,1	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	15,6	19,1	17,3
Inoculado	13,1	18,4	15,7
120 kg N	15,3	17,2	16,2
C. V. (%)		15,5	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Médias de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

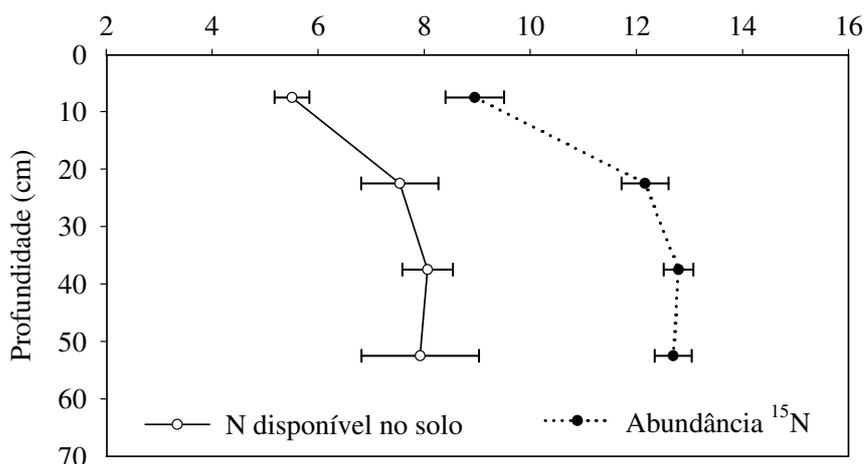
A variedade RB867515 apresentou incremento no rendimento de ATR no tratamento inoculado em relação ao controle, porém não diferiu da adubação nitrogenada na cana-planta. Quanto ao rendimento de TAH da variedade RB867515 na cana-planta, o tratamento inoculado foi superior à adubação nitrogenada com incremento de 3,4 Mg ha<sup>-1</sup>. Nas duas soqueiras os tratamentos não diferiram do controle para o rendimento de ATR e TAH na variedade RB867515. Na média das variedades não houve efeito de tratamento no

rendimento de ATR na cana-planta e na primeira soca, ao passo que na segunda soca a adubação nitrogenada reduziu o rendimento de ATR em relação ao controle e a inoculação. Quanto ao rendimento de TAH na média das variedades a adubação nitrogenada promoveu aumento significativo em relação ao controle e a inoculação na cana-planta e não houve diferença entre os tratamentos e o controle nas duas soqueiras.

Estes resultados mostram que a cana de açúcar é responsiva aos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada, entretanto isso não ocorre de forma constante ao longo dos anos, dificultando assim a identificação dos fatores que atuam diretamente no potencial produtivo da cultura.

O solo da área experimental apresenta aumento na quantidade de N disponível para as plantas e enriquecimento do isótopo  $^{15}\text{N}$  até a camada de 45 cm (Figura 15). O aumento da disponibilidade de N em profundidade possivelmente seja resultado do cultivo da cultura de amendoim (*Arachis hypoganea*) por vários anos consecutivos e do preparo do solo para a introdução da cana de açúcar.

Os valores médios de delta  $^{15}\text{N}$  nas camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram +8,95, +12,16, +12,80 e +12,69, respectivamente. O enriquecimento do N disponível no solo com o isótopo  $^{15}\text{N}$  em profundidade pode ser observado com frequência, sendo observado na maioria dos solos das áreas experimentais deste estudo e por autores de trabalhos desenvolvidos em outras regiões, como em solos diferentes (LEDGARD et al., 1984; UNKOVICH et al., 2008; URQUIAGA et al., 2011).



**Figura 15.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância natural de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Cruz Alta, grupo Guarani, SP. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

Os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar não diferiram estatisticamente entre o tratamento inoculado e o controle não inoculado nas seis variedades na cana-planta e na primeira soca (Tabela 42). Na segunda soca as variedades RB72454 e CTC4 apresentaram variações significativas em função do tratamento com inoculação, sendo o valor de delta  $^{15}\text{N}$  na variedade RB72454 inoculada inferior ao controle e na variedade CTC4 superior ao controle não inoculado.

Partindo do princípio de que a FBN promove a diluição do isótopo  $^{15}\text{N}$  e consequentemente a redução dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  no tecido vegetal (SHEARER & KOHL, 1986; URQUIAGA et al. 2011), pode-se inferir que o inoculante aumentou a eficiência da FBN na variedade RB72454 na segunda soca, no entanto isso não influenciou significativamente o potencial produtivo da variedade.

Na variedade CTC4, o aumento dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira das plantas inoculadas na segunda soca pode ser resultado do aumento do sistema radicular em profundidade, favorecendo assim maior absorção de N em camadas mais profundas do solo, onde ocorre enriquecimento acentuado dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  (Figura 15), além de beneficiar a nutrição das plantas com melhor aproveitamento de água e outros nutrientes do solo. Este resultado pode explicar o aumento na produtividade de colmos de 13,8; 16,4 e 11,3  $\text{Mg ha}^{-1}$  na cana-planta, primeira e segunda soca, respectivamente, promovido pela inoculação na variedade CTC4. Além dos incrementos na produtividade de colmos a inoculação promoveu ainda aumento significativo na matéria seca da segunda soca e aumentos significativos nos rendimentos de ATR e TAH na cana-planta na variedade CTC4. Embora os incrementos promovidos na produtividade de colmos não sejam significativamente superiores, estes resultados evidenciam que a variedade CTC4 é responsiva a inoculação e que possivelmente o efeito do inoculante seja decorrente da promoção de crescimento das plantas. Resultados similares aos verificados na variedade CTC4 foram observados em ensaio conduzido na região de Campos dos Goytacazes, RJ, com a variedade RB867515 (SCHULTZ et al., 2012).

A variedade RB935744 foi responsiva à inoculação apresentando incrementos na produtividade de colmos e matéria seca na segunda soca, aumento no rendimento de ATR na cana-planta e aumento no rendimento de TAH na segunda soca, no entanto não houve diferença significativa entre os valores de delta  $^{15}\text{N}$  nas folhas-bandeira da cana de açúcar inoculada e o controle. Neste caso é possível que o inoculante tenha melhorado aproveitamento dos nutrientes e água do solo, porém não necessariamente o N, uma vez que, se o inoculante tivesse promovido maior absorção de N, principalmente em profundidade, os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das plantas inoculadas deveriam ter sido superiores aos das plantas não inoculadas, conforme apresentado na Figura 15. A influência das bactérias diazotróficas, com destaque para o gênero *Gluconacetobacter*, nas propriedades químicas do solo são conhecidas, principalmente no que se refere à solubilização de P (MUTHUKUMARATASAMY, et al., 1999; SUMAN et al., 2001) e Zn (MADHAIYAN et al., 2004; MADHAIYAN et al., 2006; SARAVANAN et al., 2007), nutrientes determinantes para que a cultura expresse seu potencial produtivo (MELLIS et al., 2008; ROSSETO et al., 2008).

Tomando como referencia o valor de delta  $^{15}\text{N}$  do solo (11,8), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta  $^{15}\text{N}$  das folhas-bandeira da cana de açúcar, verifica-se que a FBN naturalmente associada à cana de açúcar foi atuante e contribuiu com a nutrição nitrogenada da cultura. Com base nestes dados os valores de FBN oscilaram de 37,3% na variedade RB72454 controle a 45,7% na variedade RB867515 inoculada, na cana-planta. Na primeira soca, a FBN oscilou de 48,3% na variedade RB72454 a 58,5% na variedade CTC4, ambas inoculadas. Na segunda soca a FBN oscilou de 57,6% na variedade RB72454 a 69,5% na variedade CTC4, ambas no controle.

Em geral a FBN aumenta com o tempo, evidenciando que a contribuição da FBN vai se tornando mais eficiente à medida que a fertilidade do solo vai se esgotando com as sucessivas colheitas. Este resultado soma-se aos de Urquiaga et al. (1992, 2011), de que a cana de açúcar supre grande parte de sua necessidade nutricional em N pelo processo de FBN. Ao mesmo tempo mostra que ao longo dos anos de cultivo torna-se necessário a reposição deste elemento ao solo, principalmente em função dos elevados volumes extraídos nos colmos destinados às usinas (FRANCO et al., 2011; SCHULTZ et al., 2012).

**Tabela 42.** Delta <sup>15</sup>N de folhas-bandeira e N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO por três anos consecutivos na usina Cruz Alta, grupo Guarani, Olímpia, SP

Tratamento	RB867515	RB72454	RB935744	CTC2	CTC4	CTC15	Delta <sup>15</sup> N do solo (%)
	Delta <sup>15</sup> N nas folhas-bandeira da cana de açúcar (%)						
Cana-planta (colheita 2009)							
Controle	6,7	7,4	7,1	7,2	6,4	7,1	11,8
Inoculado	6,4	7,3	6,9	6,8	6,9	7,1	
C. V. (%)	6,7						
Primeira soca (colheita 2010)							
Controle	5,1	6,1	5,4	5,8	5,2	5,2	
Inoculado	5,5	6,1	5,5	5,7	4,9	5,6	
C. V. (%)	12,5						
Segunda soca (colheita 2011)							
Controle	4,1	5,0 a	4,9	3,9	3,6 b	4,8	
Inoculado	3,9	4,1 b	4,5	4,4	4,5 a	4,3	
C. V. (%)	14,4						
N derivado da FBN (%)							
Cana-planta (colheita 2009)							
Controle	43,2	37,3	39,8	39,0	45,8	39,8	
Inoculado	45,7	38,1	41,5	42,4	41,5	39,8	
C. V. (%)	9,6						
Primeira soca (colheita 2010)							
Controle	56,8	48,3	54,2	50,8	55,9	55,9	
Inoculado	53,4	48,3	53,3	51,7	58,5	52,5	
C. V. (%)	10,9						
Segunda soca (colheita 2011)							
Controle	65,2	57,6 b	58,5	66,9	69,5 a	59,3	
Inoculado	66,9	65,2 a	61,8	62,7	61,9 b	63,5	
C. V. (%)	8,3						

Média de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

### 3.3.8. Avaliação da eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas na produtividade e nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar em experimento implantado na usina Univalem, Grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

As cinco variedades avaliadas neste ensaio não foram significativamente influenciadas pelo tratamento com inoculação com bactérias diazotróficas nas duas colheitas avaliadas, com exceção do acúmulo de N total na variedade CTC15, na primeira soca, que apresentou redução significativa na presença do inoculante (Tabela 43). Nas variedades RB92579 e SP81-3250 o inoculante promoveu incremento na produtividade de colmos de 14,4 e 12,7 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente na primeira soca, entretanto estes valores não diferiram do controle.

**Tabela 43.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de cinco variedades de cana de açúcar, primeira e segunda soqueira, cultivadas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

Variedades	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
	Colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )		Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )		N-total (kg ha <sup>-1</sup> )	
Primeira soca (colheita de 2010)						
CTC15	136,9 <sup>1</sup>	114,2	52,9	45,2	176,8 a	133,7 b
RB935744	134,5	132,5	43,2	43,4	125,9	129,8
RB855453	107,3	105,8	42,2	42,4	130,2	114,4
RB92579	118,2	132,6	39,9	47,5	119,1	129,0
SP81-3250	91,4	104,1	36,4	41,3	118,1	132,8
Média de var.	117,7 <sup>2</sup>	117,9	43,0	44,0	134,1	128,0
C. V. (%)	15,5		14,9		16,5	
Segunda soca (colheita de 2011)						
CTC15	54,5	55,8	23,4	23,1	84,6	93,2
RB935744	53,1	52,2	22,2	20,6	77,6	77,3
RB855453	46,9	48,7	24,1	22,3	79,8	75,2
RB92579	46,9	47,3	21,5	19,3	85,4	77,8
SP81-3250	37,5	43,7	16,7	18,4	63,2	71,7
Média de var.	47,8	49,5	21,6	20,8	78,1	79,0
C. V. (%)	18,0		20,1		25,4	

<sup>1,2</sup> Médias de 4 e 20 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas linhas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

A segunda soqueira apresentou redução acentuada de aproximadamente 50% na produtividade de colmos, matéria seca e N total em relação à primeira soqueira. Esta queda de produtividade é decorrente de dois períodos prolongados de estiagem, nos meses de maio a agosto de 2010 e 2011, respectivamente (Figura 8), períodos de rebrota e final de crescimento da cultura. Possivelmente, a ausência de efeito do tratamento com inoculação observada nas cinco variedades na segunda soqueira esteja associada ao estresse hídrico das plantas.

Diversos estudos têm demonstrado a influência de adequadas condições de umidade do solo na interação planta-bactéria (BODDEY et al. 2003). Além disso, qualquer interação biológica necessita de adequada disponibilidade de água para ocorrer. Alguns resultados dão indícios de que o inoculante aumenta a resistência ao estresse hídrico, no entanto para que isso seja verdadeiro é necessário que haja condições de estabelecimento da interação planta-bactéria, o que não aconteceu neste caso, uma vez que a ausência de chuva ocorreu exatamente no período em que se realizou a reinoculação da segunda soca.

Os rendimentos de ATR e TAH também não foram significativamente influenciados pelos tratamentos nas cinco variedades, nas duas colheitas (Tabela 44). Este resultado era esperado, uma vez que a produtividade de colmos evidencia que não houve efeito da inoculação.

**Tabela 44.** Rendimento de açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de cinco variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

Variedades	ATR (kg ha <sup>-1</sup> )		TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )	
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado
Primeira soca (colheita de 2010)				
CTC15	149,1 <sup>1</sup>	155,6	20,4	17,8
RB935744	133,5	131,6	18,0	17,5
RB855453	162,3	159,5	17,4	16,9
RB92579	149,1	155,0	17,6	20,5
SP81-3250	152,0	152,7	13,9	15,9
Média de var.	149,2 <sup>2</sup>	150,9	17,5	17,7
C. V. (%)	4,8		17,7	
Segunda soca (colheita de 2011)				
CTC15	160,2	167,9	9,1	9,8
RB935744	153,4	147,8	8,5	7,8
RB855453	169,9	172,7	8,3	8,8
RB92579	162,6	166,6	8,0	8,2
SP81-3250	158,4	167,6	6,2	7,7
Média de var.	160,9	164,5	8,0	8,5
C. V. (%)	4,8		20,9	

<sup>1, 2</sup> Médias de 4 e 20 repetições, respectivamente. Var.: variedade. C. V.: coeficiente de variação. Ausência de letras significa que não houve diferença significativa entre os tratamentos. Teste t LSD com 10% de significância

Na avaliação das variedades RB72454 e RB867515 com inoculação, adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N e o controle, as duas variedades foram pouco influenciadas pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada nas duas colheitas (Tabela 45). A variedade RB72454 foi responsiva a adubação nitrogenada na primeira soca para as três variáveis. Na segunda soca não houve influência de tratamento na variedade RB72454. A variedade RB867515 apresentou aumento no acúmulo de N total na segunda soca com a adubação nitrogenada em relação ao controle. Para a média das variedades a adubação nitrogenada foi superior ao controle para o acúmulo de matéria seca e N total na segunda soca, no entanto não diferiu do tratamento inoculado.

O baixo índice de respostas das duas variedades à adubação nitrogenada confirma a forte influência das condições edafoclimáticas no desenvolvimento e no potencial produtivo das variedades em questão. Nestas condições é pouco provável que a inoculação de bactérias diazotróficas aumente o potencial produtivo da cultura.

**Tabela 45.** Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Produtividade de colmos (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	96,1 b	97,6	96,9
Inoculado	98,7 b	102,6	100,7
120 kg N	125,5 a	89,9	107,7
C. V. (%)		14,3	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	40,2	50,4	45,3
Inoculado	48,7	55,8	52,2
120 kg N	46,4	59,4	52,9
C. V. (%)		17,6	
Matéria seca (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	36,3 b	39,5	37,9
Inoculado	38,2 ab	37,5	37,9
120 kg N	45,6 a	34,9	40,3
C. V. (%)		16,2	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	19,4	20,4	19,9 b
Inoculado	21,5	22,2	21,9 ab
120 kg N	21,8	25,2	23,5 a
C. V. (%)		18,4	
N total (kg ha <sup>-1</sup> )			
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	105,7 b	118,2	112,0
Inoculado	108,8 b	113,9	111,4
120 kg N	142,8 a	104,7	123,8
C. V. (%)		19,0	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	64,4	74,6 b	69,5 b
Inoculado	81,0	74,0 b	77,5 ab
120 kg N	74,8	97,7 a	86,2 a
C. V. (%)		20,2	

Média do desdobramento tratamento x variedade é resultante de 4 repetições. Médias de variedades resultante de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O rendimento de ATR não foi afetado de forma significativa pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada nas duas variedades, nas duas colheitas (Tabela 46). O rendimento de TAH basicamente acompanhou a produtividade de colmos, com aumento significativo de 4,2 Mg ha<sup>-1</sup> no rendimento de ATH no tratamento com adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N, em relação ao controle na variedade RB72454, no ciclo de cana-planta.

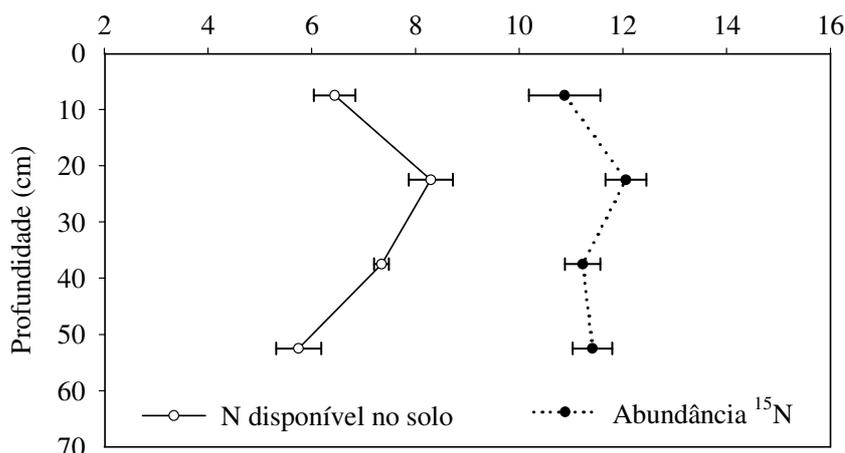
**Tabela 46.** Açúcares totais recuperáveis (ATR) e toneladas de açúcar por hectare (TAH) de duas variedades de cana de açúcar cultivadas por duas colheitas consecutivas em ARGISSOLO VERMELHO com adubação nitrogenada, inoculação com bactérias diazotróficas e o controle na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

Tratamentos	Desdobramento tratamentos x variedade		Média de variedades
	RB72454	RB867515	
Açúcares Totais Recuperáveis – ATR (kg Mg <sup>-1</sup> de colmos)			
Primeira soca (colheita de 2010)			
Controle	164,2	152,3	158,3
Inoculado	161,3	147,2	154,3
120 kg N	158,8	151,9	155,3
C. V. (%)		3,6	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	172,1	164,9	168,5
Inoculado	169,2	160,4	164,8
120 kg N	169,3	164,3	166,8
C. V. (%)		3,7	
Toneladas de Açúcar por Hectare – TAH (Mg ha <sup>-1</sup> )			
Primeira soca (colheita de 2011)			
Controle	15,7 b	14,8	15,2
Inoculado	15,9 b	15,1	15,5
120 kg N	19,9 a	13,6	16,8
C. V. (%)		13,2	
Segunda soca (colheita de 2011)			
Controle	7,2	8,7	7,9
Inoculado	8,6	9,3	8,9
120 kg N	8,2	10,2	9,2
C. V. (%)		19,2	

Média do desdobramento tratamento x variedade resultantes de 4 repetições. Médias de variedades resultantes de 8 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

O cultivo de plantas testemunhas em casa de vegetação mostra o aumento de N disponível e o enriquecimento do solo com o isótopo <sup>15</sup>N até a camada de 30 cm de profundidade (Figura 16). O aumento de N no perfil do solo em profundidade pode ser resultado da decomposição de matéria orgânica da vegetação natural, por tratar-se de uma área mantido sob vegetação natural por vários anos. Possivelmente, a liberação deste N presente na matéria orgânica do solo pode ter influenciado na eficiência da adubação nitrogenada, bem como na eficiência do inoculante.

Os valores médios de delta <sup>15</sup>N nas camadas de 0 a 15, 15 a 30, 30 a 45 e 45 a 60 cm foram +10,87, +12,05, +11,22 e +11,41, respectivamente.



**Figura 16.** Nitrogênio disponível no perfil de solo (mg vaso<sup>-1</sup>) e variação da abundância de delta <sup>15</sup>N (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP. Painço (*Panicum mileaceum*); Milheto (*Pennisetum glaucum*); Sorgo (*Sorghum bicolor*). As barras representam o erro padrão da média.

Os valores de delta <sup>15</sup>N das folhas-bandeira da cana de açúcar não diferiram entre o tratamento inoculado e o controle não inoculado nas sete variedades, nas duas colheitas, com exceção da variedade RB855453 na segunda soqueira (Tabela 47). A similaridade entre os valores de delta <sup>15</sup>N nas folhas-bandeira indicam que a inoculação não influenciou a FBN e possivelmente não tenha alterado a marcha de absorção de N das plantas, uma vez que se tivesse ocorrido maior aproveitamento do N do solo em profundidade isto deveria ter elevado os valores de delta <sup>15</sup>N no tecido vegetal das plantas. A redução significativa do valor de delta <sup>15</sup>N na variedade RB855453 segunda soca indica que houve diluição do isótopo <sup>15</sup>N no tecido vegetal, resultando no aumento da FBN, no entanto, esta variedade não foi responsiva ao inoculante na produtividade de colmos, no acúmulo de matéria seca, N total e no rendimento de açúcar (TAH).

Tomando como referência o valor de delta <sup>15</sup>N do solo (11,4), resultante da média ponderada das plantas testemunhas e os valores de delta <sup>15</sup>N das folhas-bandeira da cana de açúcar, pode-se afirmar que a FBN naturalmente associada à cana de açúcar foi atuante e contribuiu com a nutrição nitrogenada da cultura. Com base nestes dados, os valores da FBN na primeira soca variaram de 37,7% na variedade RB867515 inoculada a 57% na variedade RB855453 inoculada. Na segunda soca a FBN oscilou de 45,6% na variedade RB855453 controle a 63,1% na variedade RB92579 inoculada.

A elevada contribuição da FBN naturalmente associada à cultura de cana de açúcar explica os altos valores de N total acumulados mesmo no tratamento controle.

**Tabela 47.** Delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e porcentagem de N derivado da FBN de cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e o controle, cultivada em ARGISSOLO VERMELHO na usina Univalem, grupo COSAN/RAÍZEN, Valparaíso, SP

Tratamento	RB72454	RB867515	CTC15	RB935744	RB855453	RB92579	SP81-3250	Delta $^{15}\text{N}$ do solo (%)
	Delta $^{15}\text{N}$ nas folhas-bandeira da cana de açúcar (%)							
	Primeira soca (colheita 2010)							
Controle	5,2	6,5	5,0	5,3	5,0	6,0	5,5	11,4
Inoculado	6,3	7,1	5,1	5,1	4,9	5,6	5,9	
C. V. (%)	8,2							
	Segunda soca (colheita 2011)							
Controle	4,9	4,4	4,6	4,9	6,2 a	4,6	5,0	
Inoculado	4,3	4,3	3,9	4,9	5,4 b	4,2	4,8	
C. V. (%)	10,7							
	N derivado da FBN (%)							
	Primeira soca (colheita 2010)							
Controle	54,4	43,0	56,1	53,5	56,1	48,2	51,7	
Inoculado	44,7	37,7	55,3	55,3	57,0	50,9	48,2	
C. V. (%)	8,0							
	Segunda soca (colheita 2011)							
Controle	57,0	61,4	59,6	57,0	45,6 b	59,6	56,1	
Inoculado	62,3	62,3	65,8	57,0	52,6 a	63,1	57,9	
C. V. (%)	7,7							

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. Teste t LSD com 10% de significância.

### 3.3.9. Resumo Geral de Produtividade de Colmos do Conjunto de Experimentos Avaliados

A Tabela 48 resume dados de produtividade de colmos e diferenças entre os tratamentos com inoculante bacteriano e a adubação com 120 kg ha<sup>-1</sup> de N em relação ao controle, nas variedades RB867515, RB72454 e IAC94-4004. Ressalva-se que a variedade IAC94-4004 foi cultivada somente no ensaio da usina Cruangi – Timbaúba (PE). As variedades apresentaram variações nas respostas aos tratamentos com inoculante e adubação nitrogenada, com incrementos e redução na produtividade de colmos. A discussão desse item será embasada nas médias dos ciclos, desconsiderando qualquer tratamento estatístico.

A variedade RB867515 apresentou resposta positiva ao inoculante em relação ao controle, na média dos ciclos avaliados, em sete dos oito experimentos, com incrementos variando de 0,2% na usina Cruz Alta – (SP) (ARGISSOLO VERMELHO) a 31,3% na usina Santa Cruz S.A – (RJ) (CAMBISSOLO FLÚVICO). Na usina Cruangi – Timbaúba – (PE) (ARGISSOLO VERMELHO AMARELO), a variedade RB867515 apresentou produtividade de colmos 2,2% inferior ao controle, o que não pode ser atribuído a efeito negativo do inoculante no desenvolvimento da cultura, uma vez que erros desta magnitude podem ocorrer ao acaso. A adubação nitrogenada afetou a variedade RB867515 de maneira similar à inoculação com respostas positivas na média dos ciclos, em sete dos oito ensaios, com incrementos variando de 0,9% na usina Univalem – (SP) (ARGISSOLO VERMELHO) a 35,3% na usina Santa Cruz S.A. Na usina Cruz Alta, a adubação nitrogenada resultou na redução de produtividade de 9,6% em relação ao controle. Destaca-se que nas três colheitas deste experimento a adubação nitrogenada apresentou produtividade de colmos inferior ao controle, o que leva a inferir que esta redução não ocorreu ao acaso. A influência negativa da adubação nitrogenada pode ser resultante do excesso de N no solo com a aplicação de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N, uma vez que o solo possui boa fertilidade natural em N (0,7 g dm<sup>-3</sup>) e a fonte utilizada foi nitrato de potássio, a qual apresenta elevada eficiência no aproveitamento do N aplicado no solo pela baixa perda pelo processo de volatilização (CABEZAS, 1998). Assim, pode ter ocorrido o desequilíbrio nutricional das plantas, afetando negativamente o potencial produtivo da variedade nas três colheitas avaliadas.

A variedade RB72454 apresentou resposta positiva à inoculação, em quatro dos sete ensaios, variando de 3,9% na usina Coruripe – (AL) (ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO) a 21,7% no experimento conduzido no campo experimental da Embrapa Agrobiologia – (RJ) (PLANOSSOLO HÁPLICO). Nas usinas Santa Cruz S.A, Sapucaia S.A – (RJ) (ARGISSOLO AMARELO) e Cruz Alta a produtividade de colmos no tratamento inoculado foi inferior ao controle, com redução de 13,2; 8,4 e 14,0%, respectivamente. Fazer qualquer afirmação sobre a influência negativa do inoculante no desenvolvimento da cana de açúcar pode resultar em equívocos, por tratar-se de um assunto complexo e que ainda não possui respostas para tais resultados. No entanto, existem relatos de que a aplicação de bactérias diazotróficas em plantas da cana de açúcar micropropagadas resultou na redução do potencial germinativo, o que segundo os autores pode ser resultante de efeito patogênico da elevação da população das bactérias via inoculação (OLIVEIRA et al., 2002; CANUTO et al. 2003). Em revisão apresentada por Partida-Martínez & Heil (2011), os autores alertam para o fato de que o aumento da população de bactérias diazotróficas pela inoculação pode ocasionar atuação patogênica, uma vez que na maioria dos casos a população nativa não é conhecida e pode ser negativamente influenciada pela introdução de bactérias via inoculação, tanto pelo aumento da população a níveis prejudiciais às plantas hospedeiras, quanto pela inibição da população nativa do sistema. A adubação nitrogenada promoveu aumento de produtividade de colmos, na variedade RB72454 em cinco dos sete ensaios (média dos ciclos). A redução de produtividade em função da adubação nitrogenada ocorreu nos dois ensaios conduzidos na

região de Campos dos Goytacazes, nas usinas Santa Cruz S.A (CAMBISSOLO FLÚVICO) e Sapucaia S.A (ARGISSOLO AMARELO), sendo os valores de 3,9 e 12,6%, respectivamente.

A variedade IAC94-4004, na usina Cruangi – Timbaúba (PE) em ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO, apresentou resposta positiva ao inoculante e à adubação nitrogenada na produtividade de colmos, com incrementos de 7,4 e 16,0%, respectivamente.

A resposta da cana de açúcar à adubação nitrogenada e à inoculação é variável ao longo dos anos, possivelmente por influência dos diversos fatores edafoclimáticos que atuam tanto na eficiência da adubação nitrogenada quanto da inoculação. Ao que tudo indica a elevada eficiência da cultura para a FBN naturalmente associada pode ser o fator de significativa contribuição para a inconsistência de respostas das duas variedades aos tratamentos com aplicação de N fertilizante e o inoculante bacteriano.

Em síntese as variedades RB867515 e RB72454 apresentaram incrementos no tratamento com inoculante bacteriano em 87,5 e 57,1% dos casos, respectivamente. Quanto à resposta das variedades RB867515 e RB72454 à adubação nitrogenada, foram observados incrementos na produtividade de colmos em 87,5 e 71,4% dos ensaios, respectivamente. Estes resultados mostram que a frequência de resposta da variedade RB867515 é igual entre a adubação nitrogenada e a inoculação. Para a variedade RB72454 a adubação nitrogenada apresentou maior frequência de resposta, com diferença de 20%. Portanto, se pode afirmar que para a variedade RB867515 o inoculante bacteriano é uma tecnologia recomendável, uma vez que não causa impactos ambientais negativos na cadeia produtiva da cana de açúcar e por ser economicamente viável. A mesma análise pode ser aplicada à variedade RB72454, entretanto sabe-se que a frequência de repostas é inferior à variedade RB867515.

Nas variedades que receberam apenas o tratamento com o inoculante e o controle nos diferentes experimentos foram verificadas variações nas respostas, com observações de incrementos e redução na produtividade de colmos (Tabela 49). Considerando a média dos ciclos avaliados em cada área experimental, no total de dezoito eventos (variedade x locais), foram observadas doze respostas positivas, com incrementos variando de 0,2% nas variedades RB855453 e RB93509, nas usinas Univalem – (SP) (ARGISSOLO VERMELHO) e Coruripe – (AL) (ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO), respectivamente a 14,6% na variedade SP81-3250, na Univalem. Em seis casos a média de produtividade de colmos no tratamento inoculado foi inferior ao controle, com valores variando de - 1,4% na variedade RB92579 na usina Cruangi – Timbaúba – (PE) (ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO) a - 11,2% na variedade CTC15 da usina Univalem.

Fazendo o somatório dos valores positivos e negativos das médias em cada experimento, conclui-se que na usina Univalem o inoculante levou a incremento de 11% na produtividade de colmos nas cinco variedades. Na usina Cruz Alta houve incremento de 12,6% nas quatro variedades. Na usina Cruangi – Fazenda Maravilha – (PE) (PLANOSSOLO HÁPLICO) o incremento foi de 12,5%. Na usina Cruangi – Timbaúba o tratamento inoculado apresentou produtividade de colmos de 17,6% inferior ao controle (-17,6%), com redução nas três variedades. Na usina Coruripe o inoculante promoveu incremento na produtividade de colmos em relação ao controle nas três variedades, com aumento de 15,8% no total das três variedades.

Assim, foram verificados ganhos de produtividade em quatro dos cinco locais, ou seja, 80% de eventos com respostas positivas. Apesar da grande variabilidade nas respostas das variedades ao inoculante ao longo dos anos e entre as variedades, conclui-se que o inoculante promoveu aumentos de produtividade, embora não detectados pelos modelos estatísticos.

Os resultados desta análise sugerem que o inoculante não deve ser recomendado para as variedades CTC15 e RB935744 na usina Univalem – (SP); CTC2 na usina Cruz Alta – (SP) e RB863129, RB92579 e SP81-3250 na usina Cruangi – Timbaúba – (PE).

**Tabela 48:** Resumo da produtividade de colmos de cana de açúcar nas variedades RB867515 e RB72454, submetidas aos tratamentos com adubação nitrogenada, inoculação e o controle sem adubação nitrogenada e sem inoculação.

Colheita/ciclo	RB867515					RB72454						
	Controle		Inoculado		Diferença em relação		Controle		Inoculado		Diferença em relação	
	120 kg N		120 kg N		120 kg N		120 kg N		120 kg N		120 kg N	
	Mg ha <sup>-1</sup>		Mg ha <sup>-1</sup>		%		Mg ha <sup>-1</sup>		Mg ha <sup>-1</sup>		%	
Campo Experimental – Embrapa Agrobiologia												
Cana-planta	97,1	108,3	98,3	+ 11,5	+ 1,2	83,3	101,8	103,0	+ 22,2	+ 23,6		
Primeira soca	104,8	111,3	110,3	+ 6,2	+ 5,2	86,3	100,9	99,4	+ 16,9	+ 15,2		
Segunda soca	52,5	62,2	85,3	+ 18,5	+ 62,5	34,8	45,9	72,0	+ 31,9	+ 106,9		
Média dos ciclos	84,8	93,9	97,7	+ 10,7	+ 15,2	68,1	82,9	91,5	+ 21,7	+ 34,4		
Usina Santa Cruz S.A												
Cana-planta	137,9	152,6	157,2	+ 10,6	+ 14,0	172,4	153,8	177,7	- 10,8	+ 3,1		
Primeira soca	82,2	115,6	110,0	+ 40,6	+ 33,8	127,4	105,8	107,8	- 16,9	- 15,4		
Segunda soca	52,1	81,5	87,5	+ 56,4	+ 67,9	76,3	66,3	67,5	- 13,1	- 11,5		
Terceira soca	52,8	76,9	85,1	+ 45,6	+ 61,2	69,0	60,5	75,1	- 12,3	+ 8,8		
Média dos ciclos	81,2	106,6	109,9	+ 31,3	+ 35,3	111,3	96,6	107,0	- 13,2	- 3,9		
Usina Sapucaia S.A												
Cana-planta	103,8	126,0	130,3	+ 21,4	+ 25,5	141,2	137,7	145,1	- 2,5	+ 2,8		
Primeira soca	107,9	109,0	114,9	+ 1,0	+ 6,5	127,0	127,2	108,1	+ 0,2	- 14,9		
Segunda soca	77,8	84,9	92,2	+ 9,1	+ 18,5	103,7	90,9	77,8	- 12,3	- 25,0		
Terceira soca	50,7	42,0	67,6	- 17,2	+ 33,3	63,1	42,6	49,2	- 32,5	- 22,0		
Média dos ciclos	85,1	90,5	101,3	+ 6,3	+ 19,0	108,8	99,6	95,1	- 8,4	- 12,6		
Usina Cruz Alta – Grupo Guarani												
Cana-planta	131,4	135,5	116,7	+ 3,1	- 11,2	115,2	82,7	155,0	- 28,2	+ 34,5		
Primeira soca	133,1	122,1	120,1	- 8,3	- 9,8	104,7	107,3	107,6	+ 2,5	+ 2,8		
Segunda soca	113,4	121,3	105,0	+ 7,0	- 7,4	86,8	73,8	94,8	- 15,0	+ 9,2		
Média dos ciclos	126,0	126,3	113,9	+ 0,2	- 9,6	102,2	87,9	119,1	- 14,0	+ 16,5		
Usina Univalem – Grupo COSAN/RAÍZEN												
Primeira soca	97,6	102,6	89,9	+ 5,1	- 7,9	96,1	98,7	125,5	+ 2,7	+ 30,6		
Segunda soca	50,4	55,8	59,4	+ 10,7	+ 17,9	40,2	48,7	46,4	+ 21,1	+ 15,4		
Média dos ciclos	74,0	79,2	74,7	+ 7,0	+ 0,9	68,2	73,7	86,0	+ 8,1	+ 26,1		

Continuação

## Continuação

Usina Cruangi – Fazenda Maravilha										
Cana-planta	123,2	116,8	141,4	- 5,2	+ 14,8	99,8	100,9	125,0	+ 1,1	+ 25,3
Primeira soca	87,5	83,5	91,5	- 4,6	+ 4,6	67,6	76,7	86,9	+ 13,5	+ 28,6
Segunda soca	93,3	93,5	92,8	+ 0,2	- 0,5	89,1	109,0	92,3	+ 22,3	+ 3,6
Terceira soca	81,1	96,1	105,4	+ 18,5	+ 30,0	77,4	74,8	93,4	- 3,4	+ 20,7
Média dos ciclos	96,3	97,5	107,8	+ 1,2	+ 11,9	83,5	90,4	99,4	+ 8,3	+ 19,0
Usina Cruangi – Timbaúba										
IAC94-4004										
Cana-planta	92,9	98,0	102,0	+ 5,5	+ 9,8	81,8	81,7	99,0	- 0,1	+ 21,0
Primeira soca	116,3	106,6	132,1	- 8,3	+ 13,6	100,7	114,4	112,7	+ 13,6	+ 11,9
Média	104,6	102,3	117,1	- 2,2	+ 11,9	91,3	98,1	105,9	+ 7,4	+ 16,0
Usina Coruripe										
Cana-planta	115,9	153,9	158,3	+ 32,8	+ 36,6	132,1	148,7	169,5	+ 12,6	+ 28,3
Primeira soca	120,8	126,1	130,1	+ 4,4	+ 7,7	109,9	102,6	121,2	- 6,6	+ 10,3
Média dos ciclos	118,4	140,0	144,2	+ 18,6	+ 21,8	121,0	125,7	145,4	+ 3,9	+ 20,2

Média de 4 repetições. Valores apresentados sem tratamento estatístico.

**Tabela 49:** Resumo da produtividade de colmos nas variedades submetidas à inoculação com bactérias diazotróficas e o controle sem inoculação.

Colheita/ciclo	Cont.	Inoc.	Difer.												
	Mg ha <sup>-1</sup>		%												
Usina Univalem – grupo COSAN/RAÍZEN															
	CTC15			RB935744			RB855453			RB92579			SP81-3250		
Primeira soca	136,9	114,2	- 16,6	134,5	132,5	- 1,5	107,3	105,8	- 1,4	118,2	132,6	+ 12,2	91,4	104,1	+ 13,9
Segunda soca	54,5	55,8	+ 2,4	53,1	52,2	- 1,7	46,9	48,7	+ 3,8	46,9	47,3	+ 0,9	37,5	43,7	+ 16,5
Média dos ciclos	95,7	85,0	- 11,2	93,8	92,4	- 1,5	77,1	77,3	+ 0,2	82,6	90,0	+ 8,9	64,5	73,9	+ 14,6
Usina Cruz Alta – grupo Guarani															
	RB935744			CTC2			CTC4			CTC15					
Cana-planta	134,7	137,6	+ 2,9	136,0	113,6	- 22,4	132,8	146,2	+ 13,4	101,4	105,3	+ 3,9	-	-	-
Primeira soca	136,6	146,2	+ 9,6	139,2	149,3	+ 10,1	128,2	144,6	+ 16,4	132,4	133,6	+ 1,2	-	-	-
Segunda soca	102,6	130,5	+ 27,9	128,2	101,5	- 26,7	105,4	116,7	+ 11,3	105,5	101,7	- 3,8	-	-	-
Média dos ciclos	124,6	138,1	+ 10,8	134,5	121,5	- 9,7	122,1	135,8	+ 11,2	113,1	113,5	+ 0,3	-	-	-
Usina Cruangi – Fazenda Maravilha															
	RB863129			SP81-3250			RB92579								
Cana-planta	116,6	130,7	+ 12,1	117,7	123,2	+ 4,7	142,3	150,4	+ 5,7	-	-	-	-	-	-
Primeira soca	84,1	85,8	+ 2,0	72,7	67,1	- 7,7	86,9	103,4	+ 19,0	-	-	-	-	-	-
Segunda soca	104,0	108,1	+ 3,9	84,0	88,2	+ 5,0	89,3	83,5	- 6,5	-	-	-	-	-	-
Terceira soca	92,5	95,3	+ 3,0	76,3	78,6	+ 3,0	99,8	102,0	+ 2,2	-	-	-	-	-	-
Média dos ciclos	99,3	105,0	+ 5,7	87,7	89,3	+ 1,8	104,6	109,8	+ 5,0	-	-	-	-	-	-
Usina Cruangi – Timbaúba															
	RB863129			SP81-3250			RB92579								
Cana-planta	108,1	98,0	- 9,3	87,9	91,9	+ 4,6	96,0	90,9	- 5,3	-	-	-	-	-	-
Primeira soca	103,0	93,3	- 9,4	111,6	94,1	- 15,7	116,9	119,1	+ 1,9	-	-	-	-	-	-
Média dos ciclos	105,6	95,7	- 9,4	99,8	93,0	- 6,8	106,5	105,0	- 1,4	-	-	-	-	-	-
Usina Coruripe															
	RB92579			RB98710			RB93509								
Cana-planta	159,4	170,5	+ 7,0	125,2	143,5	+ 14,6	141,7	145,9	+ 3,0	-	-	-	-	-	-
Primeira soca	128,9	131,8	+ 2,2	101,8	107,9	+ 6,0	131,3	127,7	- 2,7	-	-	-	-	-	-
Média dos ciclos	144,2	151,2	+ 4,9	113,5	125,7	+ 10,7	136,5	136,8	+ 0,2	-	-	-	-	-	-

Média de 4 repetições. Cont.: controle; Inoc.: inoculado. Dif.: diferença em relação ao controle (%). – variedades não cultivadas nos respectivos experimentos.

### **3.4. CONCLUSÕES**

A variedade RB867515 apresenta eficiência de resposta ao inoculante com bactérias diazotróficas de forma similar à adubação nitrogenada.

O inoculante promoveu incrementos na produtividade de colmos superior a 10% em 80% dos experimentos avaliados.

As variedades RB72454 e CTC2 apresentaram com frequência redução na produtividade de colmos quando inoculadas com bactérias diazotróficas.

A cana de açúcar apresenta grande variabilidade de resposta à adubação nitrogenada e á inoculação, em função da variedade e condições edafoclimáticas.

O inoculante não promoveu aumento na eficiência do processo de FBN nas variedades de cana de açúcar avaliadas.

Ao redor de 50% do N acumulado na parte aérea da cana de açúcar é proveniente da fixação biológica de N naturalmente associada à cultura.

## **4. CAPITULO II**

### **POTENCIAL PRODUTIVO DE DIFERENTES VARIEDADES DE CANA DE AÇÚCAR EM FUNÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E ESTOQUE DE CARBONO DO SOLO**

## RESUMO

A manutenção do potencial produtivo de algumas variedades de cana de açúcar em solos com baixa fertilidade natural, especialmente no que se refere aos baixos conteúdos de N, despertou o interesse de especialistas em estudos com cana de açúcar no sentido de investigar a razão do alto vigor produtivo. Pautados pela observação desse padrão da cultura, o grupo de pesquisa em cana de açúcar da Embrapa Agrobiologia implantou um experimento de longo prazo, iniciado em 1989 com o objetivo de acompanhar o potencial produtivo de diferentes variedades de cana de açúcar por vários anos sem a aplicação de N fertilizante e remoção total da palhada após cada colheita. Ao longo de sua condução já foram avaliadas duas fases de cultivo (1989-1998 e 1999-2004), num total de 13 colheitas. Visando complementar os resultados já obtidos nas duas fases anteriores, o objetivo deste estudo foi avaliar a terceira fase iniciada em 2006 e conduzida até 2011. Assim foram avaliados o potencial produtivo, o acúmulo de matéria seca e N total da parte aérea de dez variedades de cana de açúcar e a quantificação da fixação biológica de N utilizando a técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  e o balanço de N no sistema solo-planta, visando identificar variedades com elevado potencial para fixação biológica de N. Além do balanço de N no sistema solo-planta, foram quantificados os estoques de C e N no solo até 60 cm de profundidade em três variedades selecionadas com base em resultados dos dois ciclos anteriores. O arranjo experimental foi constituído de dez tratamentos (dez variedades), com quatro repetições, totalizando quarenta parcelas. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso. As variedades foram RB72454, CB47-89, CB45-3, SP70-1143, SP79-2312, SP71-1406, SP71-6163, SP70-1284 e as cultivares krakatau (*Saccharum spontaneum*) e Chunee (*Saccharum barberi*). Os estoques de C e N foram avaliados nas variedades CB47-89, SP70-1143 e SP71-6163. De maneira geral todas as variedades comerciais mantiveram seu potencial produtivo ao longo dos anos. O N derivado da fixação biológica variou de 27% a 63%. Foram verificadas reduções nos estoques de C e N para as três variedades, no entanto as variedades CB47-89 e SP70-1143 apresentaram balanço de N no sistema solo-planta positivo, ao passo que para a variedade SP71-6163 este balanço foi negativo. O elevado potencial produtivo e o acúmulo de N total associado às variedades cultivadas sem aplicação de N-fertilizante em ensaios de longo prazo reforçam a hipótese da significativa contribuição da FBN nesta cultura. Os resultados deste estudo dão evidências de que é possível utilizar parte da palha da cana de açúcar para a produção de energia de segunda geração sem afetar a conservação do solo, desde que sejam utilizadas variedades com alta eficiência para a FBN. Além da escolha de variedades eficientes para a FBN, é preciso que se melhore a eficiência da adubação nitrogenada, uma vez que a manutenção do estoque de carbono no solo é dependente dos teores de N.

**Palavras-Chave:** Relação C/N. *Poacea*. Balanço de N no sistema solo-planta.

## ABSTRACT

The capacity of sugarcane varieties to maintain production potential and vigorous growth in low-fertility soils, especially at low N levels, has aroused the interest of scientists worldwide. As a result, the Embrapa Agrobiologia research group initiated a long-term experiment in 1989 in order to monitor the productive potential of different sugarcane varieties without N-fertilization and with complete removal of post-harvest residue. Two stages of the crop (from 1989 to 1998 and 1999 to 2004), comprising 13 harvests, were assessed in earlier studies. The present study evaluated the third stage of the crop, from 2006 to 2011. To that end, production potential, dry matter accumulation and total N in the shoots was determined in 10 sugarcane varieties. In addition, total N was quantified using the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to identify genotypes with high potential for biological nitrogen fixation. N balance in the soil-plant system was also analyzed. Based on the studies carried out in the two previous stages of the crop, three sugarcane varieties were selected for analysis of C and N stocks at a soil depth of 60 cm. The experiment consisted of 10 treatments (corresponding to the 10 sugarcane varieties) with four repetitions, totaling 40 plots arranged in a randomized block design. The varieties tested were RB72454, CB47-89, CB45-3, SP70-1143, SP79-2312, SP71-1406, SP71-6163, SP70-1284, Krakatau (*Saccharum spontaneum*) and Chuneé (*Saccharum barberi*). Carbon and N stocks were evaluated in CB47-89, SP70-1143 and SP71-6163 crops. In general, all the commercial varieties maintained their production potential over the years. Nitrogen produced by biological fixation ranged from 27% to 63%. Carbon and N stocks declined in the three varieties studied. CB47-89 and SP70-1143 exhibited positive N balance in the soil-plant system, in contrast to the negative balance observed in SP71-6163. The high production potential and N accumulation of varieties grown without the use of N-fertilization in a long-term study corroborates the hypothesis that BNF contributes significantly to sugarcane crops. The results of the study support the partial use of sugarcane straw for second-generation energy production, with no impact on soil conservation, provided that sugarcane varieties with highly effective BNF are used. Moreover, the efficiency of N fertilization must be improved because maintaining soil C stocks depends on N content.

**Key-words:** C/N ratio. *Poacea*. N balance in soil-plant system.

## 4.1. INTRODUÇÃO

Diferentes técnicas podem ser usadas para avaliar a fixação biológica de  $N_2$  atmosférico (FBN), os estoques de C e N do solo e a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola. O balanço de N no sistema solo-planta e a abundância natural do isótopo  $^{15}N$  no tecido vegetal são técnicas difundidas no meio científico para a avaliação da FBN na cana de açúcar, sendo a associação das duas técnicas recomendada para a geração de resultados de maior confiabilidade, uma vez que uma confirma os resultados da outra.

O balanço de N no sistema solo-planta tem como premissa quantificar o estoque de N no solo, dentro da profundidade de maior abrangência do sistema radicular da cultura e ao mesmo tempo contabilizar o N extraído pela cultura com as sucessivas colheitas ao longo dos anos, gerando assim resultados de maior confiabilidade uma vez que reduz os erros analíticos. Para aumentar a precisão dessa técnica deveriam ser contabilizadas as entradas de N pela água da chuva, irrigação e outras fontes, o que na prática não é simples, sendo na maioria dos estudos realizado o balanço apenas com os estoques de N total do solo e a extração pela parte aérea da cultura, sendo em alguns estudos feita a estimativa de entrada de N pela chuva.

A abundância natural do isótopo  $^{15}N$  na cana de açúcar e em plantas não fixadoras de  $N_2$  atmosférico ou de fixação insignificante (plantas controle), permite quantificar %N derivado da FBN na cana. Essa técnica possui como limitação o pressuposto da absorção do N disponível no solo pela cana de açúcar e as plantas controle dentro da mesma uniformidade da marcação com o isótopo  $^{15}N$  do N disponível do solo, no tempo e em profundidade. Para atender este pressuposto devem ser desenvolvidos estudos complementares em amostras de solo das áreas experimentais cultivadas com cana de açúcar, adotando plantas não fixadoras.

Os estoques de C e N no solo são indicadores de qualidade do solo e sustentabilidade dos sistemas de produção agrícolas. A relação C/N no tecido vegetal da cana de açúcar é aproximadamente de 75:1, ao passo que no solo, em condição de estabilização esta relação é de aproximadamente 10 a 12:1 e ocorre de forma estreita, ou seja, a variação de um implica na variação do outro. A elevação dos estoques de C e N no solo favorece a sustentabilidade do sistema de produção agrícola, uma vez que o aumento no estoque de carbono orgânico do solo (COS) melhora as condições físicas, químicas e biológicas do solo. Com base neste contexto, o processo de FBN associado à cana de açúcar pode influenciar de maneira positiva não somente a nutrição nitrogenada da cultura, e sim, o estado nutricional das plantas como um todo. Possivelmente, a entrada de N em solos cultivados com cana de açúcar seja o fator preponderante para explicar o elevado potencial produtivo e a sustentabilidade da cultura, mesmo em condições adversas de solos, principalmente pobres em N.

Nos últimos anos alguns especialistas em estudos com cultura de cana de açúcar visualizaram a possibilidade de aproveitamento de parte da biomassa da parte aérea da cultura para a geração de energia elétrica através da queima direta ou pela degradação por microrganismos celulolíticos. O desafio é estabelecer quanto da biomassa pode ser usada para gerar energia sem levar a degradação do solo e, conseqüentemente, reduzir o potencial produtivo dos sistemas agrícolas. Neste contexto a avaliação do estoque de C e N no solo cultivado por vários anos sem a adição de N-fertilizante e remoção total da palhada pode auxiliar na tomada de decisão para futuros estudos para o aproveitamento de parte da biomassa para a produção de energia de segunda geração.

Os objetivos deste estudo foram avaliar o potencial produtivo da cana de açúcar decorrente da FBN naturalmente associada à cultura e sua capacidade de conservar o solo mediante a avaliação dos estoques de C e N, em condição de ausência de aplicação de N-fertilizante e remoção total dos resíduos culturais ao longo de vinte e um anos consecutivos.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Localização e condução do experimento

O experimento foi implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia (22°44'38'' S e 43°42'28'' W e 26 m de altitude), em maio de 1989. O primeiro ciclo foi fechado em 1998 e segundo em 2004. O terceiro ciclo foi iniciado com a renovação do experimento (plântio da cana) em abril de 2006 e finalizado em outubro de 2011, totalizando 21 anos de avaliação. Nos dois primeiros ciclos foram avaliados o potencial produtivo das variedades, a fixação biológica de N e o balanço de N total no sistema solo-planta, apresentados no trabalho de Urquiaga et al. (2011). No terceiro ciclo foram realizadas as mesmas avaliações feitas nos dois ciclos anteriores nas 10 variedades em questão e o estoque de N e C no solo da área experimental, nas variedades SP70-1143, SP71-6163 e CB47-89, utilizando como controle a pastagem que circunda a área experimental desde sua implantação em 1989. Ressalta-se que todos os anos, após as colheitas todos os resíduos culturais são retirados da área experimental, fazendo com que o N e C estocado no solo sejam provenientes do C nativo do solo e do sistema radicular da cana de açúcar.

O clima da região é do tipo Aw, segundo classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e com temperatura média anual de 22,7°C.

O solo da área experimental foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO (SANTOS et al., 2006), com 730 g kg<sup>-1</sup> de areia, 40 g kg<sup>-1</sup> de silte e 230 g kg<sup>-1</sup> de argila. As características químicas do solo de análise realizada na implantação do experimento em 1989, na renovação do terceiro ciclo (2006), após a colheita de 2011 e da pastagem, adotada com referência estão apresentadas na Tabela 50.

**Tabela 50.** Características químicas da área experimental em diferentes avaliações ao longo do período de experimentação (1989-2011)

Prof. cm	pH (água)	N g kg <sup>-1</sup>	Al	Ca cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Mg	K mg dm <sup>-3</sup>	P
Implantação do ensaio (1989 <sup>a</sup> )							
0 - 15	5,4	0,6	0,0	1,4	2,2	22	5
Renovação do terceiro ciclo (2006 <sup>b</sup> )							
0-20	5,3	0,7	0,0	1,2	0,6	18	7
20-40	5,5	0,6	0,0	1,5	0,4	14	2
Após colheita do terceiro ciclo (2011 <sup>b</sup> )							
0-20	5,0	0,5	0,3	1,0	0,2	48	18
20-40	4,6	0,4	0,5	0,6	0,1	12	2
Características químicas do solo da pastagem (2011 <sup>b</sup> )							
0-20	5,3	0,8	0,2	0,8	0,3	23	3
20-40	5,1	0,3	0,3	0,7	0,2	6	1

<sup>a</sup> Adaptado de Urquiaga et al. (2011). <sup>b</sup> Nogueira e Souza, (2005).

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por 5 linhas de 5 m, espaçadas a 1,1 m, totalizando 27,5 m<sup>2</sup> por parcela e 1100 m<sup>2</sup> de área total do ensaio. Foram cultivadas dez variedades, sendo oito comerciais (RB72454, CB47-89, CB45-3, SP70-1143, SP79-2312, SP71-1406, SP71-6163, SP70-1284) e as cultivares krakatau (*Saccharum spontaneum*) e Chuneé (*Saccharum barberi*).

Na renovação do terceiro ciclo (terceiro plantio) foi realizada aplicação de calcário

com dose equivalente a 2 Mg ha<sup>-1</sup>; 150 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio; 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, na forma de superfosfato simples; 40 kg ha<sup>-1</sup> de FTE e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> de molibdato de sódio. As adubações de cobertura após os cortes no terceiro ciclo foram de 160 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio; 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, na forma de superfosfato simples e 30 kg ha<sup>-1</sup> de FTE. Ao longo dos 21 anos de avaliação todos os nutrientes foram fornecidos às plantas, visando atender suas necessidades nutricionais, com exceção do N.

#### **4.2.2. Avaliações agronômicas e o balanço de N no sistema solo-planta em dez variedades de cana de açúcar**

Para as avaliações agronômicas foram determinados os pesos frescos dos colmos, palha e folhas-bandeira nas linhas úteis de cada parcela, descartando duas linhas de bordadura de cada parcela. Após a pesagem das frações colmos, palha e folhas-bandeira foram retiradas subamostras, as quais foram secadas em estufa de circulação de ar forçado a 65 °C até peso constante. Com base nos pesos frescos determinados no campo e na porcentagem de matéria seca, foram estimadas a produtividade de colmos frescos e a massa de matéria seca total da parte aérea das plantas. Após a secagem as subamostras foram inicialmente passadas em moinho tipo Wiley (2 mm) para depois serem finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004). Em seguida foram realizadas as determinações de N segundo o método semimicro-Kjeldahl (NOGUEIRA E SOUZA, 2005). A análise de abundância natural de <sup>15</sup>N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) foi feita somente nas subamostras das folhas-bandeira, que segundo Boddey et al. (2001) representa a marcação isotópica de toda a planta. Após a análise do teor de N total nas folhas-bandeira, foram determinados os pesos para análise de delta <sup>15</sup>N, dividindo-se o valor 4 pelo teor de N total em percentual, atendendo o espectro de ação do espectrômetro de massas (Finnigan MAT, Bremen, Germany) do Laboratório de Isótopos Estáveis John M Day da Embrapa Agrobiologia (RAMOS et al., 2001).

Para obter o balanço de N total do solo foram coletadas amostras de solo após a colheita de 2011, em quatro pontos dentro da área experimental (um ponto em cada bloco), nas profundidades de 0-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50 e 50-60 cm de profundidade. Destas amostras foram retiradas subamostras, peneiras em malha de dois mm e finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004) para a avaliação dos teores de N total em cada camada. Para o cálculo de estoque de N foi realizada análise da densidade do solo em cada camada, utilizando anel de Koppeck (87,33 cm<sup>-3</sup>).

Nas mesmas profundidades onde foram avaliados os teores de N total e a densidade foram retiradas amostras para verificar o grau de uniformidade do isótopo <sup>15</sup>N do N disponível no perfil do solo. Estas amostras de solo foram secadas ao ar livre e peneiradas em malha de 2 mm. Após o preparo das amostras de solo foi desenvolvido um estudo complementar em casa de vegetação, onde estas amostras de solo foram cultivadas por três espécies de plantas controle, não fixadoras ou de fixação insignificante. As plantas adotadas para o estudo foram sorgo – *Sorghum bicolor*, painço – *Panicum mileaceum* e o capim pé de galinha – *Eleusine indica*. O delineamento experimental do ensaio em casa de vegetação foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 6, sendo três espécies de plantas e 6 profundidades avaliadas, com quatro repetições. O ensaio foi desenvolvido em vasos contendo 400 g de terra fina seca ao ar. Antes da semeadura foi realizada adubação com 100 mg kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de super fosfato simples, 100 mg kg<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma sulfato de potássio, 20 mg kg<sup>-1</sup> de sulfato de magnésio e 50 mg kg<sup>-1</sup> de FTE BR12. Após a adubação foi realizado a semeadura, utilizando-se entre 6 a 10 sementes por vaso. Cada vaso foi cultivado por apenas uma espécie. As plantas foram cultivadas por aproximadamente 30 dias, quando apresentaram amarelecimento das folhas, indicando o esgotamento de N disponível do solo. Em seguida as plantas foram coletadas inteiras (raízes e parte aérea), secadas, pesadas, moídas, pulverizadas e analisadas com determinação dos teores de N total e delta <sup>15</sup>N da

mesma forma como descrito anteriormente para as subamostras de cana de açúcar.

Com base no estudo complementar em casa de vegetação foram avaliados a disponibilidade do N no solo (mg por vaso), uma vez que as plantas cresceram nos vasos até o esgotamento total do N presente no solo; a variabilidade do isótopo  $^{15}\text{N}$  ao longo do perfil do solo até a camada de 60 cm de profundidade, através dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  determinados nas plantas cultivadas nos vasos; e por último foi calculado o delta  $^{15}\text{N}$  do solo, através da ponderação entre N extraído pelas plantas (mg por vaso) em cada profundidade e seu respectivo valor de delta  $^{15}\text{N}$ , sendo o N disponível no perfil do solo o fator de ponderação. O valor de delta  $^{15}\text{N}$  médio das três plantas testemunhas foi adotado como referência para a quantificação da contribuição da FBN na nutrição nitrogenada da cana de açúcar, utilizando o método da abundância natural de delta  $^{15}\text{N}$ .

O estudo complementar em casa de vegetação foi realizado uma única vez, ou seja, não foi repetido ao longo dos anos de avaliação da cana de açúcar no campo. Segundo Unkovich et al. (2008), o isótopo  $^{15}\text{N}$  é muito estável no solo, não sendo assim necessário a repetição desta avaliação todos os anos.

#### **4.2.3. Avaliação do estoque de nitrogênio e carbono orgânico do solo**

Após a colheita de 2011 foram selecionadas as variedades SP70-1143, SP71-6163 e CB47-89, as quais foram cultivadas nos três ciclos (21 anos) sempre nas mesmas parcelas, para avaliação do estoque de N e C no solo até 60 cm de profundidade. A escolha destas três variedades se deu em função de seu potencial diferenciado para a FBN, sendo as duas primeiras de elevado potencial, e a terceira de potencial intermediário (URQUIAGA et al. 2011). O objetivo é verificar se a FBN influencia o estoque de N e C do solo.

Para proceder esta avaliação, foi adotada a seguinte marcha analítica: foram abertas quatro trincheiras (1,5 x 0,75 x 0,8 m, comprimento, largura e profundidade, respectivamente) no entorno da área experimental sob pastagem com braquiária (*Urochloa* sp) e quatro trincheiras dentro da área experimental (cultivo de cana de açúcar), nas quais foram avaliadas as camadas de solo de 0-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50 e 50-60 cm de profundidade. Nas trincheiras externas sob pastagem, foram coletadas amostras para avaliação de densidade, N total e C total do solo, sendo as avaliações realizadas em duas paredes de cada trincheira. Destas duas avaliações foram utilizadas as médias para minimizar os erros de coleta. Nas trincheiras internas foi avaliada somente a densidade do solo da área experimental nas mesmas profundidades adotadas para as trincheiras de pastagem, utilizando duas paredes assim como adotado para as trincheiras da pastagem. Os estoques de N e C das trincheiras da pastagem foram adotados como referência para avaliação dos estoques destes elementos no solo das parcelas cultivadas com as variedades CB47-89, SP70-1143 e SP71-6163. Nas parcelas das três variedades foram amostrados dois pontos, sendo um na linha de plantio e outro na entrelinha, nas mesmas profundidades adotadas nas trincheiras sob pastagem. Os estoques de C e N do solo foram calculados utilizando a média dos dois pontos coletados dentro de cada parcela (linha e entrelinha), visando assim melhor representatividade dos estoques de C e N do solo.

Após a coleta as amostras foram secadas ao ar livre, peneiradas em peneira de malha de dois mm e finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004). Com base no conhecimento aproximado dos teores de N e C do solo as amostras de solo do perfil foram fracionadas para determinar o peso para análise em analisador automático de C e N marca Costech EA 4010 (Finnigan MAT, Bremen, Alemanha) no Laboratório de Isótopos Estáveis John M Day da Embrapa Agrobiologia. Assim, para as camadas de solo de 0 a 20, 20 a 50 e 50 a 60 cm foram pesados aproximadamente 40, 60 e 80 mg de solo, respectivamente. A densidade do solo foi determinada secando o solo a 105°C até atingir peso constante, sendo em seguida calculada com a divisão da massa de solo seco a 105°C pelo volume do anel de

Kopeck ( $87,33 \text{ cm}^{-3}$ ). Os cálculos dos estoques de C e N do solo foram realizados separadamente em cada camada do solo, sendo feita correção de massa do solo, descontado os estoques da última camada (50 a 60cm), de acordo com Sisti et al. (2004).

Os dados foram submetidos à análise estatística para verificar a normalidade e homogeneidade das variâncias pelos testes de lilliefors e Cochran e Bartlett, respectivamente, pelo software SAEG 5.0. Atendidas estas premissas, os mesmos foram submetidos à análise de variância e teste de médias utilizando o LSD (Least Significant difference) com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), utilizando o software SISVAR.

### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Produtividade de colmos, acúmulo de matéria seca e nitrogênio total da parte aérea das plantas

As variedades comerciais RB72454, CB45-3 e SP79-2312 apresentaram potencial produtivo superior às demais variedades no terceiro ciclo avaliado (Tabela 51). Os cultivares Chunee e Krakatau foram inferiores quando comparados as variedades comerciais na produtividade de colmos nas cinco colheitas, sendo a produtividade de colmos da cultivar Chunee estatisticamente inferior às demais. O acúmulo de matéria seca total, de maneira geral acompanhou a produtividade de colmos, o que se justifica pela maior contribuição de matéria seca de colmos na matéria seca total.

Na produtividade de colmos média de cinco anos, as variedades RB72454, CB45-3, SP70-1143 e SP79-2312 foram superiores à média nacional estimada em 72,4 Mg ha<sup>-1</sup> par a safra 2011/2012 (IBGE-SIDRA, 2012), que é resultante de cultivos que recebem adubação nitrogenada em média de 40 kg ha<sup>-1</sup> na cana-planta e de 80 kg ha<sup>-1</sup> nas soqueiras (NUNES JUNIOR et al., 2005). Além desta adubação que é aplicada nos cultivos brasileiros, deve-se ainda ressaltar a permanência dos resíduos culturais no solo após as colheitas, o que não foi mantido nas condições deste experimento. As demais variedades comerciais apresentaram produtividades médias de cinco anos muito próximas da média nacional.

Os resultados observados no terceiro ciclo mostram que as variedades mantêm seu potencial produtivo, com valores médios de cinco anos, similares aos apresentados por Urquiaga et al. (2011) na avaliação dos dois primeiros ciclos. A manutenção do potencial produtivo das variedades ao longo dos anos sem o uso de fertilização nitrogenada, na condição onde todos os anos após o corte é realizada limpeza da área retirando-se todos os resíduos culturais da área experimental, é uma forte evidência de que a cana de açúcar recebe contribuição significativa N do processo de FBN, corroborando com os trabalhos apresentados na revisão de Baldani et al. (2009). Possivelmente, culturas que não se beneficiam da associação planta-bactéria de forma eficiente apresentariam declínio acentuado de produtividade sem a aplicação de N oriundo de fertilizantes ou de alguma fonte de matéria orgânica.

Tanto as variedades comerciais quanto as cultivares Chunee e Krakatau apresentaram valores elevados de acúmulo de N total, variando de 153,7 kg ha<sup>-1</sup> na variedade SP79-2312 na cana-planta a 52,1 kg ha<sup>-1</sup> na cultivar Chunee, na quarta soca (Tabela 52). As variedades SP71-6163, CB45-3, SP70-1143, SP79-2312 e a cultivar Krakatau apresentaram os maiores acúmulos na soma dos cinco anos. A cultivar Krakatau foi a mais eficiente no acúmulo de N total apesar de sua produtividade de colmos ser a segunda menor na média dos cinco anos. A elevada eficiência no acúmulo de N total das variedades CB45-3, SP70-1143 e da cultivar Krakatau foi reportada por Urquiaga et al. (1992, 2011).

De maneira similar ao observado para a produtividade de colmos, as variedades mantiveram elevado potencial de acúmulo de N mesmo sob condições de ausência de aplicação de N fertilizante, consolidando ainda mais as evidências sobre a FBN naturalmente associada à cultura de cana de açúcar (URQUIAGA et al., 2011).

**Tabela 51.** Produtividade de colmos frescos e acúmulo de matéria seca de dez variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

Variedades	Cana planta (2007)	1ª soca (2008)	2ª soca (2009)	3ª soca (2010)	4ª soca (2011)	Média 5 anos
Colmos frescos (Mg ha <sup>-1</sup> )						
SP71-6163	100,6 bc	66,3 cd	50,3 d	50,9 bc	52,6 bcd	64,1 d
CB47-89	99,3 bc	59,7 cd	61,9 bcd	54,5 bc	45,5 d	64,2 d
RB72454	129,5 a	76,0 abc	69,0 bc	59,9 ab	60,1 ab	78,9 ab
SP70-1284	115,1 ab	62,7 cd	60,4 bcd	59,4 ab	49,7 bcd	69,5 cd
Chunee	65,2 d	34,1 e	27,6 e	26,9 d	22,9 e	35,4 f
CB45-3	102,7 bc	90,7 a	84,8 a	67,1 a	66,9 a	82,4 a
SP70-1143	101,2 bc	88,3 ab	75,1 ab	52,7 bc	51,7 bcd	73,8 bc
SP71-1406	96,5 c	68,8 bcd	55,0 cd	47,9 c	48,1 cd	63,4 d
SP79-2312	122,3 a	95,8 a	90,5 a	56,5 bc	57,3 abc	84,5 a
Krakatau	43,2 e	49,4 de	67,6 bc	33,7 d	43,2 d	46,4 e
C. V. (%)	12,9	19,7	16,4	13,5	15,1	16,6
Matéria seca da parte aérea (Mg ha <sup>-1</sup> )						
SP71-6163	55,5 abc	40,6 bc	30,7 de	36,8 cd	31,2 bc	38,9 c
CB47-89	55,2 abc	35,4 cd	37,3 cd	40,4 bcd	28,9 c	39,4 c
RB72454	64,2 ab	42,1 bc	37,4 cd	41,4 bc	35,1 abc	44,0 b
SP70-1284	54,4 bc	34,8 cd	34,9 d	40,8 bc	30,8 bc	39,2 c
Chunee	36,9 d	26,2 d	24,4 e	27,5 e	15,3 d	26,1 d
CB45-3	51,9 c	49,8 ab	46,7 ab	52,2 a	38,0 a	47,7 ab
SP70-1143	59,8 abc	53,2 a	44,4 bc	40,8 bc	33,7 abc	46,4 b
SP71-1406	52,1 c	39,2 c	32,9 de	34,1 de	30,0 c	37,7 c
SP79-2312	65,6 a	54,4 a	51,9 ab	44,1 b	36,7 ab	50,5 a
Krakatau	33,1 d	41,5 bc	53,7 a	39,2 bcd	32,3 abc	39,9 c
C. V. (%)	13,7	16,6	15,7	11,6	14,8	15,4
Precipitação (mm)	1210	1127	1447	1287	968	

Médias oriundas de 4 repetições. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. C. V.: coeficiente de variação. Teste t LSD com 5% de significância.

**Tabela 52.** Acúmulo de N total da parte aérea de dez variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ

Variedades	Cana-planta (2007)	1ª soca (2008)	2ª soca (2009)	3ª soca (2010)	4ª soca (2011)	Total 5 anos
N-total da parte aérea (kg ha <sup>-1</sup> )						
SP71-6163	144,8 ab	128,1 a	93,9 bc	103,5 bcd	93,0 ab	563,4 abc
CB47-89	130,9 abc	94,1 b	96,6 bc	108,7 bcd	73,4 bc	503,8 cd
RB72454	146,5 ab	113,2 ab	94,8 bc	101,2 bcd	77,9 b	533,7 bc
SP70-1284	127,1 abc	93,5 b	90,7 c	118,9 abc	80,4 b	510,7 cd
Chunee	108,1 bc	92,3 b	85,4 c	89,1 cd	52,1 c	427,0 d
CB45-3	130,4 abc	136,2 a	126,6 b	140,8 a	87,9 ab	621,8 ab
SP70-1143	134,4 abc	135,7 a	111,6 bc	105,7 bcd	94,3 ab	581,6 abc
SP71-1406	140,8 ab	121,7 ab	102,7 bc	87,8 d	75,7 b	528,6 bcd
SP79-2312	153,7 a	109,5 ab	99,7 bc	108,5 bcd	91,0 ab	562,4 abc
Krakatau	101,9 c	130,7 a	169,0 a	128,3 ab	109,5 a	639,3 a
C. V. (%)	20,1	19,8	22,1	19,0	17,9	13,3

Médias oriundas de 4 repetições. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem entre si. C. V.: coeficiente de variação. Teste t LSD com 5% de significância.

### 4.3.2. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na nutrição nitrogenada da cana de açúcar

O acúmulo de N total no sorgo foi estatisticamente superior ao painço e o capim pé de galinha, com exceção da camada de 10 a 20 cm, ao passo que para os valores de delta  $^{15}\text{N}$  não foram verificadas diferenças entre as três plantas (Tabela 53). De maneira geral os maiores valores de N total e delta  $^{15}\text{N}$  acumulados nas plantas testemunhas ocorreram nas camadas de 10 a 40 cm. O aumento da disponibilidade de N no solo na camada de 10 a 40 cm, evidenciado pelo maior acúmulo nas plantas testemunhas, indica que a cana de açúcar está promovendo o aumento do estoque de N no solo, haja vista que, esta é a zona de maior concentração do sistema radicular da cultura. Estes resultados são corroborados por Yadav et al. (2009) que avaliando o efeito de *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Trichoderma viride* em solos cultivados com cana de açúcar na Índia verificaram que a presença destas bactérias no sistema radicular da cana de açúcar promoveu o aumento no teor de carbono orgânico e N do solo e favoreceu a retenção de nutrientes essenciais na rizosfera.

A redução da disponibilidade de N total na camada de 0 a 10 cm pode ser resultado da lixiviação do elemento para as camadas mais profundas por tratar-se de um solo de textura arenosa na camada superficial.

A redução dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  na camada superficial possivelmente seja devido à presença de plantas leguminosas (presentes na área antes da implantação do experimento), as quais promovem a diluição do isótopo  $^{15}\text{N}$  pela elevada eficiência do processo de FBN (UNKOVICH et al., 2008). A similaridade entre os valores de delta  $^{15}\text{N}$  entre as três espécies adotadas como testemunhas mostra que o enriquecimento do solo com o isótopo  $^{15}\text{N}$  é constante e estável, não sendo afetado pela maior ou menor eficiência de absorção de N total como ocorreu no sorgo.

A superioridade do sorgo no acúmulo de N total em relação às outras duas plantas pode estar associada ao fato desta ser uma planta comercial, geneticamente melhorada, proporcionando às plantas cultivadas nos vasos o melhor aproveitamento dos nutrientes e da água e por apresentar um sistema radicular muito desenvolvido, quando comparado ao painço e ao capim pé de galinha.

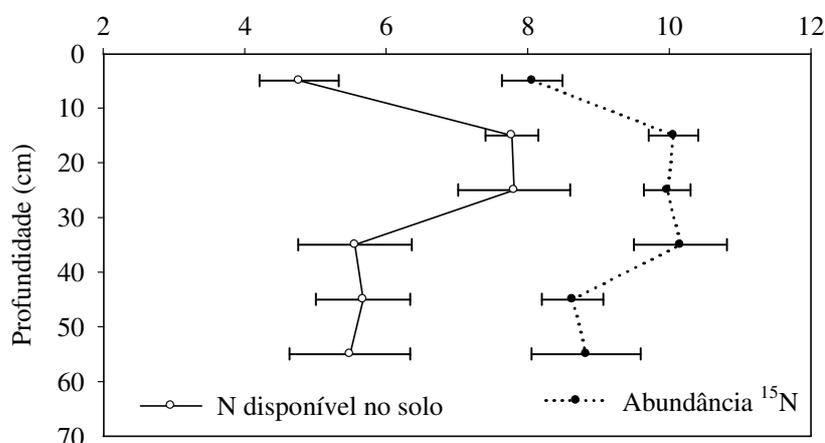
**Tabela 53.** Nitrogênio total ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) acumulado pelas plantas testemunhas cultivadas em amostras de solo da área experimental e seus respectivos valores de delta  $^{15}\text{N}$  ( $\%$ )

Profundidade	Painço		Pé de galinha		Sorgo	
	N total	$\delta^{15}\text{N}$	N total	$\delta^{15}\text{N}$	N total	$\delta^{15}\text{N}$
0 – 10	4,0 B c	7,9 ab	3,4 B c	6,9 b	6,7 A b	9,2 a
10 – 20	7,6 Aa	9,6 ab	7,3 Aa	10,5 a	8,3 Aab	9,6 a
20 – 30	6,7 AB ab	10,1 a	6,4 B ab	9,2 ab	8,7 A ab	10,5 a
30 – 40	3,7 B c	10,0 a	4,5 B bc	8,9 ab	10,3 A a	10,4 a
40 – 50	4,8 B bc	7,7 ab	4,0 B c	9,6 ab	8,0 A b	8,4 ab
50 – 60	3,9 B c	8,6 ab	4,0 B c	8,5 ab	8,4 A ab	9,2 a
60 - 75	3,6 B c	7,1 b	3,4 B c	7,4 b	7,5 A b	6,4 b
Média	4,9 B	8,7	4,7 B	8,7	8,3 A	9,1
Coeficiente de variação dos valores de N total (%)				20,5		
Coeficiente de variação dos valores de delta $^{15}\text{N}$ (%)				18,6		

<sup>1,2</sup> Médias de 3 e 21 repetições respectivamente. Valores seguidos das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si. Teste t LSD com 5% de significância.

A Figura 17 mostra o N disponível e da variabilidade do isótopo  $^{15}\text{N}$  no perfil do solo da área experimental, resultante da média das três plantas testemunhas. Estes resultados

reforçam a afirmação do aumento de N disponível, principalmente na camada de 10 a 30 cm e o enriquecimento do solo com o isótopo  $^{15}\text{N}$  até a camada de 40 cm. Os resultados obtidos contrariam em partes aqueles encontrados por Urquiaga et al. (2011) na mesma área experimental, onde o autor verificou que o N total apresentou declínio constante da camada de 0 a 10 cm até 50 a 60 cm de profundidade. Ressalta-se o fato de as avaliações do trabalho de Urquiaga et al. (2011) terem sido realizadas no ano de 2004 ao final do segundo ciclo, podendo ter ocorrido a estabilização e o enriquecimento de N total no solo após o período de sete anos, uma vez que as avaliações deste estudo (terceiro ciclo – 2006 a 2011) foram realizadas em setembro de 2011. Quanto a variabilidade isotópica de  $^{15}\text{N}$  no solo, o resultado deste estudo apresenta padrão similar ao de Urquiaga et al. (2011), concordando com Unkovich et al. (2008), de que o isótopo  $^{15}\text{N}$  apresenta alta estabilidade espacial e temporal no solo.



**Figura 17.** Nitrogênio disponível no perfil de solo ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e variação da abundância de delta  $^{15}\text{N}$  (‰), extraído pelas plantas testemunhas cultivadas em vasos no solo da área experimental. Painço (*Panicum mileaceum*); capim pé de galinha (*Eleusine indica*); Sorgo (*Sorghum bicolor*).

As barras representam o erro padrão da média.

Os valores de delta  $^{15}\text{N}$ , resultantes da ponderação entre o N total acumulado por vaso cultivado com as três espécies e seu respectivo delta  $^{15}\text{N}$ , onde o valor de N total ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) foi o fator de ponderação são apresentados na Tabela 54. A similaridade dos valores de delta  $^{15}\text{N}$  entre as três espécies, após a ponderação com os valores de N total acumulados nas plantas testemunhas reforça a hipótese de estabilidade do isótopo no solo ao longo do tempo.

**Tabela 54.** Delta  $^{15}\text{N}$  (‰) das plantas testemunhas resultante da ponderação entre o N total acumulado por vaso ( $\text{mg vaso}^{-1}$ ) e seu respectivo valor de delta  $^{15}\text{N}$

	Painço	Pé de galinha	Sorgo	Média
Delta $^{15}\text{N}$	9,0	9,0	9,3	9,1
C. V. (%)		3,8		

Média de 3 repetições. A ausência de letras significa que não houve diferença entre valores de delta  $^{15}\text{N}$  das plantas. Teste t LSD com 5% de significância.

Os valores de delta  $^{15}\text{N}$  e o N derivado da FBN variaram ao longo das cinco colheitas (Tabela 55). Na cana-planta os valores de delta  $^{15}\text{N}$  apresentaram pouca variação, com menor valor ocorrendo na variedade SP79-2312. Nas soqueiras os valores de delta  $^{15}\text{N}$  apresentaram variações mais acentuadas nas diferentes colheitas, com exceção da quarta soca onde não foram verificadas diferenças significativas entre as variedades. A variedade RB72454, de

maneira geral apresentou valores de delta  $^{15}\text{N}$  superiores às demais variedades e de forma mais constante, com destaque para a segunda e terceira soqueiras.

A contribuição da FBN naturalmente associada à cana de açúcar oscilou entre 27,3% na variedade RB72454 (segunda soca) e 63,0% na variedade SP79-2312 (cana-planta). Assim como para os valores de delta, na cana-planta não foram observadas variações expressivas, sendo a variedade SP79-2312 superior às demais para a FBN. Nas soqueiras houve maior variabilidade entre os valores da contribuição da FBN na nutrição nitrogenada das variedades. Independentemente da variabilidade da FBN entre as diferentes variedades comerciais e os cultivares Chune e Krakatau, todas as variedades apresentaram contribuição elevada da FBN ao longo dos anos. Estes resultados reforçam a hipótese da FBN associada à cana de açúcar apontada por Urquiaga et al. (1992; 2011); Boddey et al. (2001); Polidoro (2001); justificando inclusive o elevado potencial produtividade e o balanço positivo de N no solo. No entanto, nem sempre o aumento de eficiência da FBN resulta em aumentos de produtividade de colmos e matéria seca, possivelmente devido a influência de outros fatores de produção.

**Tabela 55.** Abundância natural de delta  $^{15}\text{N}$  de folhas-bandeira e percentual de N derivado da FBN de dez variedades de cana de açúcar.

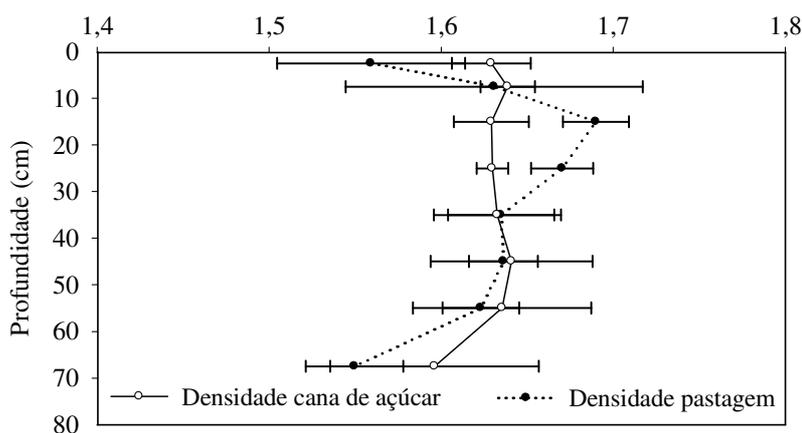
Variedades	Cana-planta (2007)	1ª soca (2008)	2ª soca (2009)	3ª soca (2010)	4ª soca (2011)
Delta $^{15}\text{N}$ (‰)					
SP71-6163	5,0a	5,3 ab	5,3 bc	4,7 ab	4,6
CB47-89	5,5 a	4,8 b	4,7 bcd	4,0 abc	4,5
RB72454	5,2 a	5,2 ab	6,6 a	4,7 a	4,5
SP70-1284	4,9 a	4,3 b	4,4 bcd	4,3 abc	4,5
Chune	4,8 a	4,5 b	4,5 bcd	4,5 ab	3,9
CB45-3	4,7 a	4,8 b	4,5 bcd	4,3 abc	5,4
SP70-1143	5,1 a	5,3 ab	4,1 cd	3,9 bcd	4,1
SP71-1406	4,8 a	5,2 ab	4,3 bcd	4,4 abc	4,6
SP79-2312	3,4 b	6,3 a	5,4 ab	3,5 d	3,9
Krakatau	4,8 a	5,4 ab	3,8 d	3,6 cd	4,2
C. V. (%)	13,7	15,8	18,1	12,9	15,4
N derivado da FBN (%)					
SP71-6163	45,3 b	42,1 ab	42,4 bc	48,8 cd	49,9
CB47-89	39,6 b	47,1 a	48,2 abc	56,2 abcd	51,0
RB72454	43,5 b	43,0 ab	27,3 d	47,9 d	50,1
SP70-1284	45,9 b	53,2 a	51,7 abc	52,3 bcd	50,8
Chune	47,3 b	50,5 a	50,9 abc	51,1 cd	56,9
CB45-3	48,5 b	47,7 a	50,5 abc	52,6 bcd	41,0
SP70-1143	43,9 b	41,8 ab	54,8 ab	57,1 abc	55,1
SP71-1406	47,8 b	43,1 ab	52,6 abc	53,0 bcd	49,1
SP79-2312	63,0 a	30,7 b	40,9 cd	61,8 a	56,9
Krakatau	47,0 b	40,5 ab	58,3 a	60,4 ab	53,7
C. V. (%)	15,3	20,2	19,7	10,9	14,5

Médias oriundas de 4 repetições. Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem entre si. C. V.: coeficiente de variação. Teste t LSD com 5% de significância.

#### 4.3.3. Estoque de nitrogênio e carbono no solo cultivado por três variedades de cana de açúcar

A densidade do solo na área experimental e na pastagem adotada como referência não diferiu até a profundidade de 60 cm (Figura 18). Os valores variaram de 1,55 a 1,69  $\text{Mg m}^{-3}$  na pastagem e 1,57 a 1,64  $\text{Mg m}^{-3}$  na área experimental. O cultivo da cana de açúcar não influenciou a densidade do solo em relação ao solo sob pastagem, sugerindo que o sistema atingiu estabilidade. De modo geral os valores de densidade foram elevados, no entanto se justificam por ser um solo de textura arenosa, com média de 700  $\text{g kg}^{-1}$  de areia total e o

menor valor de  $670 \text{ g kg}^{-1}$  de areia na camada de 50 – 60 cm de profundidade. Segundo Reichert et al. (2003) solos de textura franco-arenosa podem alcançar densidades entre  $1,70$  a  $1,80 \text{ Mg m}^{-3}$ , sem afetar o crescimento do sistema radicular das plantas. Avaliando sistemas de produção orgânicos numa área próxima a área deste estudo, na mesma ordem de solo, com textura de  $750 \text{ g kg}^{-1}$  de areia Loss et al. (2009) verificaram valores de densidade de  $1,56 \text{ Mg m}^{-3}$ . A estabilidade da densidade do solo ao longo do perfil na pastagem e dentro da área experimental é uma característica favorável para o cálculo dos estoques de C e N do solo, uma vez que a variação acentuada dos valores de densidade influencia nos estoques de C e N, mesmo se os teores destes elementos foram estáveis no perfil.



**Figura 18.** Densidade do solo da área experimental e de pastagem adotada como testemunha para quantificar os estoques de C e N do solo.

As barras representam o erro padrão da média.

O balanço de N das três variedades de cana de açúcar ao longo de vinte um anos mostra que houve entrada de  $1.112 \text{ kg ha}^{-1}$  de N no sistema solo-planta na variedade CB47-89;  $1.833 \text{ kg ha}^{-1}$  na variedade SP70-1143 e  $1.028 \text{ kg ha}^{-1}$  na variedade SP71-6163, (Tabela 56). Segundo Urquiaga et al. (2011), a entrada de N ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) pela chuva é de aproximadamente  $5,42 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ , o que significa que ao longo de vinte e um anos as chuvas contribuíram com  $113,82 \text{ kg ha}^{-1}$  de N. Mesmo sendo descontada a contribuição do N da chuva o balanço se mantém positivo nas três variedades. A variedade SP70-1143 foi superior às CB47-89 e SP71-6163 no estoque de N final (2011), no acúmulo de N nas plantas no período de 1989 a 2011, no acúmulo de N no sistema solo-planta e no balanço de N. A superioridade da variedade SP70-1143 no balanço de N justifica o alto potencial produtivo e o acúmulo de N da mesma, observado no trabalho de Urquiaga et al. (2011) e confirma a hipótese de que o genótipo da variedade possui influência preponderante na FBN naturalmente associada à cultura. Apesar da diferença entre as variedades, estes resultados mostram que a cultura de cana de açúcar supre grande parte de sua necessidade em N via FBN e justifica a ausência de resposta a fertilizantes nitrogenados em estudos realizadas nas diferentes regiões produtoras do Brasil (AZEREDO et al., 1986; RESENDE et al., 2006). Esta elevada capacidade da cultura em repor naturalmente o N que é extraído nos colmos destinados à indústria justifica o elevado potencial produtivo de grande parte das variedades comerciais em solo extremamente pobres, principalmente em N.

Avaliando a eficiência de recuperação de N fertilizante no Estado de São Paulo, região de Piracicaba, Basanta et al. (2003) usando a variedade SP80-3280 em três ciclos (cana-planta e duas soqueiras) verificaram que na média dos três anos foram exportados  $103,6 \text{ kg ha}^{-1}$  de N nos colmos e  $83,5 \text{ kg ha}^{-1}$  de N foram perdidos na queima da palha antes do corte. No estudo

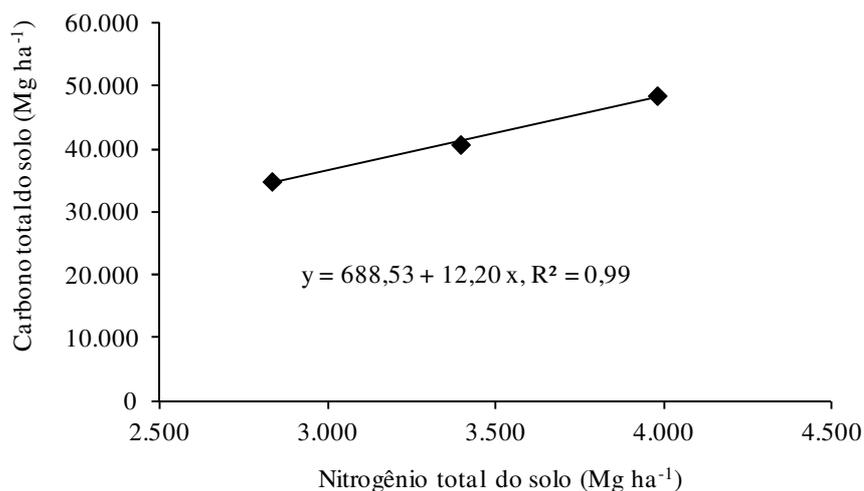
somente o plantio recebeu adubação nitrogenada com dose equivalente a 63 kg ha<sup>-1</sup> de N e a exportação média para os três ciclos foi de 187,1 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de N. Segundo os autores a contribuição do solo foi baixa e o N que ingressou no sistema pela chuva foi insignificante. Ao que tudo indica o balanço positivo entre o N extraído pela cultura e o que ingressou pela fertilização, pela disponibilidade do solo e pela chuva, seja proveniente da FBN.

**Tabela 56.** Balanço de N no sistema solo-planta em três variedades de cana de açúcar com vinte e um anos de cultivo sem aplicação de N fertilizante e remoção total dos resíduos culturais após as colheitas - Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, RJ. (60 cm de profundidade).

Variedades	N inicial no solo 1989	N final no solo 2011	N acumulado pela cana de açúcar 1989 a 2011	N total no sistema solo-planta 2011	Balanço de N
	kg ha <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
CB47-89	4.103	3.393 b	1.822 c	5.215 b	1.112 b
SP70-1143	4.383	3.978 a	2.239 a	6.216 a	1.833 a
SP71-6163	3.855	2.832 c	2.050 b	4.883 b	1.028 b
C. V. (%)	14,8	6,10	12,12	4,02	17,16

Médias de 4 repetições. Teste t LSD com 5% de significância.

Os estoques de C e N apresentam padrão linear e relação de 12,2 (coeficiente angular da equação = 12,20) (Figura 19). Com base na estabilidade desta relação foi estimado o estoque de C do solo inicial (1989) (Tabela 57), uma vez que o C não foi determinado no início do estudo (1989). Assim, com os valores de estoques de C e N do solo inicial e final, foi calculado o balanço desses elementos no solo com a cana de açúcar. Adicionalmente foram avaliados os estoques de C e N em pastagem com braquiária (*Urochloa* SP) que circunda a área experimental, adotada como referência para verificar o padrão dos estoques destes elementos no solo cultivado com cana de açúcar em relação à pastagem (Tabela 57).



**Figura 19.** Relação C/N do solo cultivado com três variedades de cana de açúcar por vinte e um anos sem aplicação de N fertilizante e sem a manutenção da palhada após as colheitas.

O balanço de C e N do solo após vinte e um anos de cultivo com a cana de açúcar sem aplicação de fertilizantes nitrogenados e a retirada dos resíduos culturais após as colheitas, bem como do solo que permaneceu com pastagem mostram que ocorreram perdas de C e N

no solo (Tabela 57). Os estoques de C e N final (2011) resultam do C nativo do solo e do sistema radicular da cana de açúcar, uma vez que após as colheitas todos os resíduos da parte aérea das plantas foram retirados da área experimental, explicando a redução dos estoques de C e N no solo. A Figura 19 mostra relação C/N de aproximadamente 12:1 com grande dependência ( $R^2 = 0,99$ ), ou seja, a redução de N resulta na redução de C. Apesar da perda de N do solo, o balanço de N no sistema solo-planta apresentado nas Tabelas 56 mostra resultado positivo para as variedades CB47-89 e a SP70-1143 e negativo para a variedade SP71-6163, descontado a contribuição do N que entrou no sistema pela chuva ( $113,82 \text{ kg ha}^{-1}$ ). Assim, a diferença entre a entrada de N nas variedades CB47-89 e SP70-1143 no sistema solo-planta (balanço da Tabela 56) e a perda do solo (balanço da Tabela 57) foi de  $+288$  e  $+1314 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente. Na variedade SP71-6163 o balanço foi de  $-109 \text{ kg ha}^{-1}$ , evidenciando que este genótipo foi menos eficiente na reposição de N do solo em relação às variedades CB47-89 e SP70-1143. Estes resultados levam a concluir que se não fosse a FBN associada à cultura da cana de açúcar os estoques de C e N teriam sido muito mais reduzidos e possivelmente o solo não estaria mantendo os níveis de produtividade alcançados ao longo dos vinte e um anos de avaliação, conforme apresentados por Urquiaga et al. (2011) e na Tabela 51 deste estudo.

**Tabela 57.** Estoques e balanço de C e N do solo cultivado com três variedades de cana de açúcar e pastagem com braquiária (*Urochloa* sp) por vinte um anos (1989 – 2011) sem aplicação de fertilizantes nitrogenados e remoção total da palhada da cana de açúcar (60 cm de profundidade)

Variedades	Inicial (1989)		Final (2011)		Balanço (1989-2011)	
	N total do solo	C total do solo	N total do solo	C total do solo	N total do solo	C total do solo
	$\text{kg ha}^{-1}$					
CB47-89	4.103	50.056	3.393 ab	40.759 ab	- 710	- 9.297
SP70-1143	4.383	53.473	3.978 a	48.516 a	- 405	- 4.957
SP71-6163	3.855	47.031	2.832 b	34.895 b	- 1.023	- 12.136
Pastagem	4.114	50.191	3.737 ab	45.649 a	- 377	- 4.542
C. V. (%)	-	-	18,34	14,79	-	-

Médias de 4 repetições. C. V.: coeficiente de variação. Valores seguidos de letras diferentes nas colunas não diferem entre si. Teste t LSD com 5% de significância.

Segundo Schultz et al. (2010) a palhada da cana de açúcar (folhas secas + folhas-bandeira) no final do ciclo acumula em torno 38% do N total acumulado na parte aérea. Com base nesse valor a palhada das três variedades CB47-89, SP70-1143 e SP71-6163 acumularam ao longo do período: 692, 851 e 779  $\text{kg ha}^{-1}$  de N, o que pela relação C/N de 12:1 corresponde a 8.304, 10.212 e 9.348  $\text{kg ha}^{-1}$  de C. Estes resultados mostram que somente a variedade SP70-1143 poderia ter balanço positivo de N e C, se a palhada fosse mantida no solo e se todo o N e o C na palhada fossem estocados no solo. No entanto, em estudo de longo prazo na usina Cruangi, na região Nordeste do Brasil, Resende et al. (2006) constataram que após dezesseis anos de condução do experimento sem a queima da palhada foram acumulados apenas 90  $\text{kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  de C no solo até 60 cm. Isto indica que grande parte do C contido na palhada acumulada na superfície do solo após a colheita sem queima, é rapidamente perdido para a atmosfera como  $\text{CO}_2$ , favorecida pelas condições climáticas nas regiões de cana de açúcar no país. Ao que tudo indica a retirada de parte da biomassa acumulada pela cana de açúcar para a produção de energia de segunda geração não afetaria os estoques de C e N do solo, principalmente se usadas variedades com alto potencial para a FBN e se a eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados for melhorada. Uma vez que a relação C/N no solo é estável, o aumento do estoque de N refletirá no aumento do estoque de C, tornando a cana de açúcar brasileira ainda mais eficiente em seu balanço energético.

#### **4.4. CONCLUSÕES**

A cana de açúcar mantém o potencial produtivo ao longo do tempo em solo de baixa fertilidade natural.

As variedades comerciais RB72454, CB45-3, SP70-1143 e SP79-2312 são superiores à SP71-6163, CB47-89, SP70-1284, SP71-1406 e SP79-2312 na produtividade de colmos em solo de baixa fertilidade natural.

As variedades SP71-6163, CB45-3, SP70-1143, SP79-2312 e o cultivar Krakatau mantêm elevado acúmulo de N total na parte aérea das plantas.

O cultivo das variedades CB47-89, SP70-1143, SP71-6163 e a pastagem com braquiária sem adubação nitrogenada e remoção dos resíduos culturais após a colheita, reduz os estoques de C e N no solo.

As variedades CB47-89 e SP70-1143 mantêm o balanço de N no sistema solo-planta positivo após vinte e um anos de cultivo sem adubação nitrogenada e remoção dos resíduos culturais após a colheita.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

A resposta das variedades de cana de açúcar à adubação nitrogenada e a inoculação ocorre de forma variada, podendo ser positiva, sem resposta e as vezes observa-se resposta negativa. Na média dos ciclos avaliados neste estudo, o uso do inoculante promoveu em relação ao controle, incrementos superiores a 10% na produtividade de colmos. O inoculante não favoreceu o processo de fixação biológica de  $N_2$  associada à cana de açúcar, e ao que tudo indica os benefícios derivados da inoculação nesta cultura, estiveram associados a efeitos hormonais sintetizados pelas bactérias diazotróficas que pode favorecer inclusive aumento na eficiência da absorção de água e nutrientes.

A fixação biológica de  $N_2$  naturalmente associada à cana de açúcar manteve o potencial produtivo da cultura em solos pobres em N, sem aplicação de N fertilizante e com remoção dos resíduos culturais após as colheitas. A FBN manteve o balanço de N no sistema solo-planta positivo mesmo em condições de redução dos estoques de C e N do solo. A remoção de parte da palhada da cana de açúcar para a produção de energia de segunda geração, não expõem o solo à degradação, desde que sejam adotadas variedades eficientes para a FBN e a eficiência da adubação nitrogenada seja melhorada.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da eficiência produtiva da cana de açúcar brasileira com foco voltado para a nutrição nitrogenada seja ela proveniente de fertilizantes industrializados, orgânicos ou da FBN dependerá da superação de outros fatores de produção. A influência dos fatores edafoclimáticos nos genótipos é muito variável, tornando assim difícil fazer afirmações sobre quais são mais ou menos importantes. Outro aspecto importante a ser considerado é o manejo da cultura, principalmente no que se refere à adubação nitrogenada, uma vez que a cana de açúcar é extremamente eficiente em aproveitar o N disponível do solo e a maioria das variedades possui elevada eficiência para a FBN naturalmente associada, possibilitando adequadas produtividades mesmo em condições de solo extremamente pobres em N. Entretanto, as elevadas produtividades e respostas positivas a adubação nitrogenada e a inoculação obtidas em algumas condições dão indícios de que a cultura possui potencial produtivo muito superior ao que se observa na maioria dos casos e estes resultados precisam ser adotados como norteadores para direcionar as novas pesquisas que buscam o aumento da produtividade da cana de açúcar.

Os objetivos deste estudo foram alcançados, sendo comprovado que algumas variedades apresentam respostas frequentes ao inoculante bacteriano, bem como a adubação nitrogenada, embora isso não seja estatisticamente comprovado em todos os casos devido a grande variabilidade dos dados no campo, por tratar-se de uma cultura onde a experimentação é realizada com mão de obra não qualificada para tal finalidade e a utilização de maquinários que imprimem muitos erros nas operações de implantação, condução e colheita. Apesar da grande variabilidade dos resultados entre as variedades e ao longo dos anos, o inoculante melhorou a eficiência produtiva da cana de açúcar, o que se comprova com o incremento superior a 10% na produtividade de colmos em relação ao controle, em 80% dos casos, na média dos ciclos, no conjunto de experimentos avaliados. Além disso, a variedade RB867515, atualmente a mais cultivada no Brasil apresenta frequência de resposta à inoculação similar à adubação nitrogenada.

Os resultados alcançados, a experiência adquirida em relação aos problemas que interferem direta e indiretamente devem ser adotados como diretrizes para a implantação de novos ensaios, nos quais devem ser realizadas avaliações detalhadas das condições físicas e químicas de solo, clima, ambiente de produção, origem da variedade, manejo da adubação nitrogenada associada ao inoculante, eficiência de recuperação pelas plantas do N aplicado no solo, o estado nutricional das plantas ao longo do período de desenvolvimento da cultura, estabelecimento das bactérias que foram inoculadas, entre outros fatores. Além da avaliação destes fatores é preciso buscar novas metodologias para a avaliação da FBN na presença do inoculante, uma vez que se o inoculante alterar a morfologia do sistema radicular das plantas as premissas do método da abundância natural podem não ser atendidas. A avaliação deste complexo de fatores, associada ao uso de adequados recursos estatísticos, pode levar a identificação dos fatores mais importantes e possibilitar a recomendação do inoculante para condições específicas e melhorar a eficiência dos fertilizantes nitrogenados e consequentemente a produtividade da cana de açúcar.

Quanto ao potencial natural da cana de açúcar em suprir parte de sua necessidade de N os resultados mostram que existem diferenças entre variedades, entretanto, a FBN associada à cana de açúcar é um fenômeno intrínseco da cultura e deve ser explorado no sentido de melhorar o balanço energético da cultura, através da produção de energia de segunda geração, e ainda assim preservar a qualidade física e química do solo, principalmente aumentando os estoques de C e N dos solos cultivados com esta cultura.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, G. A. C.; MARINHO, M. L. Adubação na região Norte-Nordeste. In: ORLANDO FILHO, J. (Coord.). Nutrição e adubação da cana de açúcar no Brasil. Piracicaba: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1983. p.267-286.
- AMBROSANO, E. J. TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; GUIRADO, N.; ROSSI, F.; MENDES, P. C. D.; MURAOKA, T. Utilization of nitrogen from green manure and mineral fertilizer by sugarcane. *Scientia Agricola*. Piracicaba, vol.62, n.6, p.534-542, 2005.
- ANDA, Agencia Nacional para Difusão de Adubos. Anuário Estatístico do Setor de Fertilizantes – 2008. São Paulo: ANDA, 2009. 160p.
- ARAÚJO, A. M. S.; SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H. Mineralização do C e do N em amostras armazenadas de solo e cultivadas com cana de açúcar, ao longo de dez anos, com e sem fertilização nitrogenada. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. v.25, p.43-53, 2001.
- ARNOLD, S. L.; SCHEPERS, J. S. A simple roller-mill grinding procedure for plant and 495 soil samples. *Communication Soil Science Plant Anal*, v.35, p.537-545, 2004.
- AZEREDO, D. F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA, J. R. Nitrogênio em cana-planta, doses e fracionamento. *STAB*, v.4, p.26-32, 1986.
- AZEREDO, D. F.; MANHÃES, M. S.; ROBAINA, A. A. Adubação nitrogenada em cana-soca. *Saccharum-STAB*, São Paulo, v.3, n.9, p.35-38, 1980.
- BALDANI, J. I.; and BALDANI, V. L. History on the biological nitrogen fixation research graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.77, p.549-579, 2005.
- BALDANI, V. L. D.; ALVAREZ, M. A. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Establishment of inoculate *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and roots of field grown wheat and sorghum. *Plant and Soil*, v.90, p.35-46, 1986a.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov.; sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Washington, v.36, p.86-93, 1986b.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v.29, p.911-922, 1997.
- BALDANI, J. I.; POT, B. KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A; GILLIS, M.; DÖBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; Inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. Nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.46, n.3, p.802-810, 1996.
- BALDANI, J. I.; TEIXEIRA, K. R. S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F. L.; HEMERLY, A. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; NOGUEIRA E. M.; ARAÚJO, J. L. S.; BALDOTTO, L. E. B.; SOARES, L. H. B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V. L. D.; CARVALHO, T. L. G.; ALVES, B. J. R.; JAMES, E. K.; JANTALIA, C. P.; FERREIRA, P. C. G.; VIDAL, M. S.;

- BODDEY, R. M. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família da Poaceae (antiga gramineae). In: RIBEIRO M. R. ARAÚJO, NASCIMENTO, C. W.; RIBEIRO FILHO, M. R.; CANTALICE, J. R. B. (Ed.). Tópicos em Ciência do Solo. 1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009. p.203-271.
- BARRY, G. A., RAYMENT, G. E., JEFFREY, A. J., PRICE, A. M., Changes in cane soil properties from applications of sugar mill by-products. In: Proceedings of the 2001 Conference of the Australian Society of Sugar Cane Technologists held at Mackay, Queensland, Australia. Brisbane, Australia, p.185–191, 2001.
- BASHAN, Y.; de-BASHAN, L. E. Plant growth-promoting. In: Encyclopedia of soil in the environment, HILLEL, D., Elsevier, Oxford, U. K., v.1, p.103-115, 2005, 200p.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L. E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology, v.50, p.521-577, 2004.
- EPE. Empresa de Pesquisa Energética (Brasil). Balanço Energético Nacional 2011: Ano base 2010 / Empresa de Pesquisa Energética - Rio de Janeiro: EPE, 2011. 266p.
- BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals. In: Current Developments in Biological Nitrogen Fixation. (Subba Rao, N.S., ed.) New Delhi, Oxford & IBH Publishing Co., p.277-313, 1984.
- BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; RESENDE A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of the <sup>15</sup>N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N<sub>2</sub> fixation to grasses and cereals. Australian Journal of Plant Physiology, v.28, n.9, p.889-895, 2001.
- BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. M. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. Plant and Soil, v.252, p.139-149, 2003.
- CABEZAS, A. R. L. Comportamento dos adubos nitrogenados em clima e solo de Cerrado. Revista Plantio Direto, Passo Fundo, 1998. p.52-60. (Especial Cerrado).
- CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; RUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E. & SANTOS, G. A. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana de açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. Revista Brasileira de Ciências do Solo, Viçosa: v.27 n.5, p.935-944, 2003.
- CANELLAS, L. P.; BALDOTTO, M. A.; BUSATO, J. G.; MARCIANO, C. R.; MENEZES, S. C.; SILVA, N. M.; RUMJANEK, V. M.; VELLOSO, A. C. X.; SIMÕES, M. L. & MARTIN-NETO, L. Estoque e qualidade da matéria orgânica de um solo cultivado com cana de açúcar por longo tempo. Revista Brasileira de Ciências do Solo, v.31, p.331-340, 2007.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. VAN. Adubação nitrogenada no estado de São Paulo. In: Adubação nitrogenada no Brasil. Ilhéus: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1985. p.47-79.
- CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana de açúcar. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2006, Piracicaba. Anais. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2007. p.355-392.

- CANUTO, E. L.; SALLES, J. F.; OLIVEIRA, A. L. M.; PERIN, L.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Respostas de plantas micropropagadas de cana de açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. *Agronomia*, v.37, n.2, p.67-72, 2003.
- CARNAUBA, B. A. A. O nitrogênio e a cana de açúcar. *STAB- Açúcar, Álcool e subprodutos*, v.8, n.3-4, p.24-39, 1990.
- CASAGRANDE, A. A. Tópicos de morfologia e fisiologia da cana de açúcar. Jaboticabal, FUNEP, 1991. 157p.
- CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. *Plant and Soil*, v.108, p.23-31, 1988.
- COJHO, E. H.; REIS, V. M.; SCHENBERG, A. C. G.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Acetobacter diazotrophicus* with an amylolytic yeast in nitrogen-free batch culture. *FEM Microbiology Letters*, v.106, p.341-346, 1993.
- COLETI, J. T.; CASAGRANDE, J. C.; STUPPIELO, J. J. L. RIBEIRO, L. D.; OLIVEIRA, G. R. Remoção de macronutrientes pela cana-planta e cana-soca, em Argissolos, variedades RB835486 e SP81-3250. In: Congresso Nacional da STAB, 8, Recife, 2002. Anais... Recife: SATB, 2002. p.316-332.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana de açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2011 - Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab 2011. <http://www.conab.gov.br/>, acessado em 29/03/2012.
- CONSECANA. Conselho dos Produtores de Cana de açúcar, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo. Manual de Instruções. Edição: CONSECANA-SP, Piracicaba – SP, 2006. 112p.
- CREUS, C. M.; SUELDO, R. J.; BARASSI, C. A. Water relations yield in azospirillum inoculated wheat exposed to drought in the field. *Review Canadian Journal of Botanic*, v.2, p.273-281, 2004.
- CRUTZEN, P. J.; MOSIER, A. R.; SMITH, K. A. and WINIWARTER, W. N<sub>2</sub>O release from agro-biofuel production negates global warming reduction by replacing fossil fuels. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussion*, v.7, p.11191–11205, 2007.
- CUNHA, J. F.; CASARIN, V.; PROCHNOW, L. I. Balanço de nutrientes na agricultura brasileira. International Plant Nutrition Institute, 2010. 28p. (Jornal Informações Agrônomicas n° 130 – junho de 2010).
- DALLA SANTA, O. R., HERNÁNDEZ, R. F.; ALVAREZ, G. L. M.; RONZELLI JUNIOR, P.; SOCCOL, C. R. Azospirillum sp. Inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.47, p.843-850, 2004.
- DANALATOS, N. G; ARCHONTOULIS F. G; MITSIOS, I. Potential growth and biomass productivity of *Miscanthus giganteus* as affected by plant density and N-fertilization in central Greece. *Biomass and Bioenergy*, Rotterdam, v.31, p.145-152, 2007.
- DAVIDSON, E. A.; BUSTAMANTE, M. M. C.; PINTO, A. D. S. Emissions of nitrous oxide and nitric acid from soils of native and exotic ecosystems of the Amazon and Cerrado regions of Brasil. *Scientific World*, v.1, p.322-319, 2001.
- DENMEAD, O. T.; MACDONALD, B. C. T.; BRYANT, G.; NAYLOR, T.; WILSON, S.; GRIFFITH, D. W. T.; WANG, W. J.; SALTER, B.; WHITE, I.; MOODY, P.W. Emissions of methane and nitrous oxide from Australian sugarcane soils. *Agricultural and Forest Meteorology*, v.150, p.748-756, 2010.

- DÖBEREINER, J. *Azotobacter* em solos ácidos. Biological Institute Ecology Experimentnal Agriculture, v.11, p.1-36, 1953.
- DÖBEREINER, J. Influência da cana de açúcar na população de *Beijerinckia* do solo. Revista Brasileira de Biologia, v.19, p.251-258, 1959.
- DÖBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugar cane. Plant and Soil, v.15, p.211-216, 1961.
- DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. Nov., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.1, p.357-365, 1966.
- DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. Symbiosis, v.13, p.1-13, 1992.
- DÖBEREINER J.; RUSCHEL A.P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. Revista de Biologia. São Paulo-SP, v.1, p.261-272, 1958.
- DUARTE JUNIOR, J. B.; COELHO, F. C. A cana de açúcar em sistema de plantio direto comparado ao sistema convencional com e sem adubação. Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental, vol.12, n.6, p.576-583, 2008.
- ELSAYED, M. T.; BABIKER, M. H.; ABDELMALIK, M. E.; MUKHTAR, O. N.; MONTANG, D. Impact of filter mud applications on the germination of sugarcane and small-seeded plants and on soil and sugarcane nitrogen contents. Bioresource Technology, v.99, p.4164-4168, 2008.
- EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise do solo. Embrapa Solos, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional e Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, RJ, 1997. 212p.
- ESPIRONELO, A.; OLIVEIRA, H.; NAGAI, V. Efeitos da adubação nitrogenada em cana de açúcar (cana-planta) em anos consecutivos de plantio. II. Resultados de 1976/78 e conclusões finais 1974/78. Bragantia, Campinas, v.39, p.27-38, 1980.
- FERNANDES, A. C. Cálculos na Agroindústria da Cana de açúcar. Piracicaba - SP, STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos, 2000. 193p.
- FIESP. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. <http://www.fiesp.com.br/>, acessado 12/09/2011.
- FIGUEIREDO, P. Breve histórico da cana de açúcar e do papel do instituto agrônomo no seu estabelecimento no Brasil. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana de açúcar. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. p.31-44.
- FRANCO, A.; JUNIOR, C. H. A.; PERECIN, D.; OLIVEIRA, F. C.; GRANJA, A. C. R.; BRAGA V. S. Sewage sludge as nitrogen and phosphorus source for cane-plant and first ratoon crops. R. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.34, p.553-561, 2010.
- FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONIC, E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. Field Crops Research, v.121, p.29-41, 2011.
- FUENTES-RAMIREZ, L. E.; CABALLERO-MELLADO, J.; SEPÚLVEDA, J.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. 1999 Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization. FEMS Microbiology Ecology, v.29, p.117-128, 1999.
- FUENTES-RAMÍREZ, L. E.; JIMÉNEZ-SALGADO, T.; ABARCA-OCAMPO, I. R.; CABALERO-MELLADO, J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indole-acetic producing

bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. *Plant and Soil*, v.154, p.145-150, 1993.

GLÓRIA, N. A.; ORLANDO FILHO, J. Aplicação de vinhaça como fertilizante. São Paulo: Coopercucar, 1983. 38p.

HASSUANI, S. J.; VERDE LEAL, M. R. L.; MACEDO, I. C. Biomass Power generation: sugarcane bagasse and trash. Project BRA/96G31 – CTC. Piracicaba: Unipress Disc records do Brasil, Série Caminhos para Sustentabilidade, 2005. 20p.

IBGE-SIDRA - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, SISTEMA IBGE DE RECUPERAÇÃO AUTOMÁTICA. <http://www.sidra.ibge.gov.br/>, acessado em 29/03/2012.

IEA, International Energy Agency. Biofuels for transport: Technology roadmap. Paris, France, 2011. 52p.

IPCC-NGGIP. Guidelines for national greenhouse gas inventories: 2006. <http://www.ipccnggi.iges.or.jp/public/2006gl>. Acessado 15/01/2009.

JANTALIA, C. P.; SANTOS, H. P. dos; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R. Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brasil. *Nutrient Cycling in Agro-ecosystems*, v.82, p.161-173, 2008.

KAPULNIK, Y.; GAFNY, R.; OKON, Y. Effect of azospirillum spp. inoculation on root development and NO<sub>3</sub> uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. mirian) in hydroponic systems. *Canadian Journal of Botany*, v.63, p.627-631, 1983.

KORNDÖRFER, G. H.; COLOMBO, C. A.; CHIMELLO, M. A.; LEONI, P. L. C. Desempenho de variedades de cana de açúcar cultivadas com e sem nitrogênio. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 8. Recife, 2002. Anais... Recife: STAB, 2002. p.234-238.

KORNDÖRFER, G. H.; VALLE, M. R.; MARTINS, M.; TRIVELIN, P. C. O. Aproveitamento do nitrogênio da ureia pela cana planta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.21, p.23-26, 1997.

LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J. A. Melhoramento genético, caracterização e manejo varietal. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana de açúcar, Campinas. Instituto Agronômico, 2008. p.99-156.

LIMA, E.; BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugarcane using a <sup>15</sup>N aided nitrogen balance. *Soil Biology and Biochemistry*, v.19, p.167-170, 1987.

LEDGARD, S. F.; FRENEY, J. R.; SIMPSON, J. R. Variations in natural enrichment of <sup>15</sup>N in the profiles of some Australian Pasture Soils. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Victoria, v.22, p.155-64, 1984.

LOSS, A.; PEREIRA, M. G.; SCHULTZ, N.; ANJOS, L. H. C.; SILVA, E. M. R. Atributos químicos e físicos de um Argissolo Vermelho-Amarelo em sistema integrado de produção agroecológico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, n.1, p.68-75, 2009.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; SARAVANAN, V. S.; HARI, K.; SA, T. M. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* v.84, p.143–154, 2006.

MADHAIYAN, M.; SARAVANAN, V. S.; JOVI, D. B. S. S.; LEE, H. S.; THENMOZHI, R., HARI, K.; SA, T. M. Occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in tropical and subtropical plants of Western Ghats, India. *Microbiological Research*. v.159, p.233-243, 2004.

MAGALHÃES, F. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant Azospirillum species. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, v.55, p.417-430, 1983.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa e Potassa a do Fosfato, 1997. 319 p.

MARINHO, M. L.; BARBOSA, G. V. S. Adubação nitrogenada da cana-planta na região Nordeste do Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE SATB, 6. Maceió, 1996. Anais... Maceió: STAB, 1996. p.455-460.

MARTIN, P.; GLATZLE, A.; KOLB, W.; OMAI, H.; SCHMIDT, W. N<sub>2</sub> fixing bacteria in the rhizosphere: quantification and hormonal effects on root development. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v.152, p.237-245, 1989.

MELLIS, E. V.; QUAGGIO, J. A.; CANTARELA, H. Micronutrientes. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana de açúcar, Campinas. Instituto Agrônomo, 2008. p.331-335.

MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F. M.; LOVATO, T.; FERNANDES, F. F. & DEBARBA, L. Manejo de solo e culturas e sua relação com os estoques de carbono e nitrogênio do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.3. p.209-248, 2003.

MOURA, M. V. P. S.; FARIAS, C. H. A.; AZEVEDO, C. A. V.; NETO, J. D.; AZEVEDO, H. M.; PORDEUS, R. V. Doses de adubação nitrogenada e potássica em cobertura na cultura da cana de açúcar, primeira soca, com e sem irrigação. *Ciências Agrotecnicas, Lavras*, v.29, n.4, p.753-760, 2005.

MUÑOZ-ROJAS, J. & CABALLERO-MELLADO, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. *Microbial Ecology*, v.46, p.454-464, 2003.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of N fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Hesbaspirillum* spp. from Indian sugar cane varieties. *Biology and Fertility of Soil*, v.29, p.157-164, 1999.

NASCIMENTO, C. W. A.; BARROS, D. A. S.; MELO, E. E. C. & OLIVEIRA, A. B. Alterações químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.28, p.385-392, 2004.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A.; CONEJERO, M. A. TROMBIN, V. G. The example of Brazil, *Food and fuel*. 2011. 105p.

NOGUEIRA, A. R. A & SOUZA, G. B. Manual de laboratório: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos-SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313p.

NOGUEIRA, E. DE M.; OLIVARES, F. L.; JAPIASSU, J. C.; VILAR, C.; VINAGRE, F.; BALDANI, J. I.; HEMERLY, A. Characterization of glutamine synthetase genes in

sugarcane genotypes with different rates of biological nitrogen fixation. *Plant Science*, v.169, p.819-832, 2005.

NUNES JR., D.; PINTO, R. S. A.; TRENTO, F. E.; ELIAS, A. I. Indicadores agrícolas do setor canavieiro, safra 2003/2004. Ribeirão Preto: Idea, 2005. 111p.

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; REIS, V. M.; BALDANI J. I. Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Brasilian Journal Microbiology*, v.34, p.59-61, 2003.

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; BALDANI J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.284, n.1-2, p.23-32, 2006.

OLIVEIRA, A. L. M.; STOFFEL, M.; SCHMID, M.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; HARTMANN, A. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. *European Journal of Soil Biology*, v.45, p.106-113, 2009.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.242, p.205-215, 2002.

ORLANDO-FILHO, J.; HAAG, H. P.; ZAMBELLO JR., E. Crescimento e absorção de macronutrientes pela cana de açúcar, variedade CB 41-76 em função de idade em solos do Estado de São Paulo. *Planalsucar*, Piracicaba, SP, 1980. 128p. (Boletim Técnico n° 2).

ORLANDO FILHO, J.; RODELLA, A. A. Adubação nitrogenada em cana-planta: perfilhamento e produtividade agrícola. *STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos*, v.13, n.3, p.16-18, 1995.

OTTO, R.; FRANCO, H. C. J.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana de açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.44, n.4, p.398-405, 2009.

PARTIDA-MARTÍNEZ, L. P. AND HEIL, M. The microbe-free plant: fact or artifact?. *Plant Science*, 2011. DOI: 10.3389/fpls.2011.00100.

PAULA, M. A. de; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* and *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomea batata*), sugar cane (*Saccharum* spp.) and sweet sorghum (*Sorghum bicolor*). *Biology and Fertility of Soils*, v.11, p.111-115, 1991.

PEREIRA, W. Produtividade e qualidade tecnológica da cana de açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011. 70p.

PIMENTEL GOMES, F. A estatística moderna na pesquisa agropecuária. 3. ed. / Piracicaba: POTAFOS, 1987. 162p.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de Estatística Experimental. 14 ed. Piracicaba: Degaspari, 2000. 477p.

POLIDORO, J. C. O molibdênio na Nutrição Nitrogenada e na Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico Associada à cultura de cana de açúcar. 2001. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001a. 184f.

POLIDORO, I. C.; RESENDE, A. S. QUESADA, D. M.; XAVIER, R. P.; COELHO, C. H. M.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Levantamento da contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura da cana de açúcar no Brasil. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2001b. 8p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 144).

QUESADA D. M. Parâmetros quantitativos e qualitativos da biomassa de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com potencial para uso energético, na forma de carvão vegetal. 2005. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005. 65p.

RAIJ, B. VAN; ANDRADE, J. C. de; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285p.

RAIJ, B. VAN.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. & FURLANI, A. M. C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo, 2.ed. Campinas, Instituto Agrônomo & Fundação IAC, 1996. 285p. (Boletim técnico 100).

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using <sup>15</sup>N-isotope techniques. Journal Biotechnology, v.91, p.105-115, 2001.

RAVINDRANATH, N. H; BALACHANDRA, P; DASAPPA, S; RAO, K. U. Bioenergy technologies for carbon abatement. Biomass and Bioenergy, Rotterdam, v.30, p.826-837, 2006.

REICHERT, J. M.; REINERT, D. J. & BRAIDA, J. A. Qualidade dos solos e sustentabilidade de sistemas agrícolas. Ciência Ambiental, v.27, p.29-48, 2003.

REIS JÚNIOR, F. B. Influência do genótipo da planta, micropropagação e fertilização nitrogenada sobre a população de bactérias diazotróficas em cana de açúcar (*Saccharum* spp.). 1998. Dissertação (Mestrado em Agronomia Ciência do Solo), Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998. 161p.

REIS JÚNIOR, F. B.; REIS V. M.; URQUIAGA S.; DÖBEREINER, J. Influence of of nitrogen fertilization on the population of diazotrophic bacteria *Herbaspirillum* spp. and *Acetobacter diazotrophicus* in sugar cane (*Saccharum* spp.). Plant and Soil, v.210, p.153-159, 2000.

REIS, V. M.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; TENORIO-SALGADO, S.; VOLGEL, J.; STROFFELS, M.; GUYON, S.; MAVINGUI, P.; BALDANI, V. L. D.; SCHMID, M.; BALDANI, J. I.; BALANDREAU, J.; HARTMANN A.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 54, p.2155-2162, 2004.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; URQUIAGA, S. Recomendação de uma mistura de estirpes de cinco bactérias fixadoras de nitrogênio para inoculação de cana de açúcar. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 2009. 4p. (Circular Técnica 30).

REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; DOBEREINER, J. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its endophytic habitat. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v.10, p.101-104, 1994.

REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; OLIVEIRA, A. L. M.; REIS JUNIOR, F. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Technical approaches to inoculate micropropagated sugar cane plants with *Acetobacter diazotrophicus*. Plant and Soil, v.206, p.205-211, 1999.

- RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; OLIVEIRA, O. C. DE; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco. *Plant and Soil*, v.281, p.337-349, 2006.
- RIDESA. Rede Interunversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. Catálogo nacional de variedades “RB” de cana de açúcar. Curitiba, 2010. 136p.
- ROBERTSON, T. and SHAPOURI, H. Biomass: An Overview in the United States of America, *Proceedings First Biomass Conference of the America: Energy, Environment, Agriculture, and Industry*, Burlington, Vermont, U.S.A. p.1-17, 1993.
- RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA, J. R. V. A.; VICTOR, O. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* TIPO B. *Suma Phytopathologica*, v.12, 1986. 16p.
- ROESCH, L. F.; CAMARGO, F. O.; SELBACH, P. A, SÁ, E. S. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. *Ciência Rural*, v.35, p.1201-1204, 2005.
- ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F.; VITTI, A. C.; PRADO JUNIOR, J. P. Q. Fósforo. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana de açúcar, Campinas. Instituto Agrônômico, 2008. p.271-278.
- SALA, V. M. R.; BRAN, 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, n.6, p.833-842, 2007.
- SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; DONZELI, V. P.; FREITAS, J. G.; GALLO, P. B.; SILVEIRA, A. P. D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.29, p.345-352, 2005.
- SAMPAIO, E. V. S. B.; SALCEDO, I. H.; ALVES, G. D. Mineralização do carbono e do nitrogênio em solo cultivado com cana de açúcar. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.99, p.33-38, 1985.
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.
- SARAVANAN, V. S.; MADHAIYAN, M.; THANGARAJU, M. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Chemosphere*, v.66, p.1794–1798, 2007.
- SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil*, v.245, p.215-222, 2002.
- SCARPINELLA, G. A. Reflorestamento no Brasil e o Protocolo de Quioto. 2002. Dissertação (Mestrado) Programa Interunidades de Pós-Graduação em Energia, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2002. 162f.
- SCHULTZ N. Efeito residual da adubação em cana planta e adubação nitrogenada em cana de primeira soca com aplicação de vinhaça. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009. 67f.

- SCHULTZ, N.; PEREIRA, M. G.; ZONTA, E.; LIMA, E. Efeito residual da adubação na cana-planta e da adubação nitrogenada e potássica na cana-soca colhidas com e sem a queima da palhada. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.34, p.811-820, 2010.
- SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agrônômica de duas variedades de cana de açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, n.2, p.261-268, 2012.
- SEVILLA, M.; BURRIS, R.H.; GUNAPALA, N.; KENNEDY, C. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and  $^{15}\text{N}_2$  incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and  $\text{Nif}^-$  mutant strains. *Molecular Plant-microbe Interactions*, v.14, n.3, p.358-366, 2001.
- SHEARER, G. & KOHL, D.H.  $\text{N}_2$  fixation in field settings: estimations based on natural  $^{15}\text{N}$  abundance. *Australian Journal of Plant Physiology*, v.13, p.699-756, 1986.
- SHUKLA, S. K., YADAV, R. L., SUMAN, A., SINGH, P. N. Improving rhizospheric environment and sugarcane ratoon yield through bio-agent amended farm yard manure in Udic ustochrept soil. *Soil Tillage Residual*, v.99, p.158-168, 2008.
- SILVA, M. F.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; REIS, V. M. Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana de açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, p.1437-1443, 2009.
- SINGH, K. P., SUMAN, A., SINGH, P. N., LAL, M. Yield and soil nutrient balance of sugarcane plant ratoon system with conventional and organic nutrient management in subtropical India. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v.79, p.209-219, 2007.
- SISTI, C. P. J.; SANTOS, H. P. dos; KOHHANN, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. *Soil and Tillage Research*, v.76, p.39-58, 2004.
- SOARES, L. H. DE B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana de açúcar produzido no Brasil. *Seropédica, Embrapa Agrobiologia*, 2009. 14p. (Circular Técnica 27).
- SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J. & SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signaling: A love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, v.30, p.205-240, 2004.
- SUMAN, A., SHASANY, A. K., SINGH, M., SHAHI, H. N., GAUR, A., KHANUJA, S. P. S. Molecular assessment of diversity among endophytic diazotrophs isolated from subtropical Indian sugarcane. *World Journal Microbiology Biotechnology*, v.17, p.39-45, 2001.
- TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUÊS, J. C. S. Aproveitamento por soqueira de cana de açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia- $^{15}\text{N}$  e uréia- $^{15}\text{N}$  aplicado ao solo em complemento à vinhaça. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.30, n.12, p.1375-1385, 1995.
- UMRIT, G. BHOLAH, M. A.; NG KEE KWONG, K. F. Nitrogen benefits of legume green manuring in sugarcane farming systems in Mauritius. *Sugar Tech*, v.11, p.12-16, 2009.
- UNICA. União da Indústria de Cana de açúcar. <http://www.unica.com.br/>, acessado em 29/03/2012).

- UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B. AND CHALK, P. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. ACIAR Monograph n<sup>o</sup>. 136, 2008. 258p.
- URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. Soil Science Society of America Journal, v.56, p.105-114, 1992.
- URQUIAGA, S.; LIMA, R. DE M., XAVIER, R. P.; RESENDE, A. S. DE; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Avaliação da eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio em diferentes variedades de cana de açúcar. Agronomia, v.37, p.55-58, 2003.
- URQUIAGA S.; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. A importância do molibdênio na fixação biológica de nitrogênio e na nutrição nitrogenada da cultura de cana de açúcar. XIII Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo, Águas de Lindóia, SP. CD-ROM, 1996.
- URQUIAGA, S.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Biological Nitrogen fixation as support for the sustainable production of sugar cane in Brazil: Perspectives. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.71, n.3, parte II, p.505-513, 1999.
- URQUIAGA, S. XAVIER, R.; MORAIS, R. F.; BATISTA, R.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; RESENDE, A.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and <sup>15</sup>N natural abundance data of the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to Brazilian sugarcane varieties. Plant and Soil, 2011. (DOI: 10.1007/s11104-011-10163).
- VITTI, A. C., CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; ROSSETO, R. Nitrogênio. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana de açúcar. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. 882p.
- VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: uma visão holística. In: YAMADA, T.; STIPP, S. R.; VITI, G. C. Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira. International Plant Nutrition Institute. Piracicaba, 2007. p.109-157.
- WEIER, K. L. Nitrogenase activity associated with three tropical grasses growing in undisturbed soil cores. Soil Biology and Biochemistry, v.12, p.131-136, 1980.
- YADAV, R. L.; SUMAN, A.; PRASAD, S. R.; PRAKASH, O. Effect of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Trichoderma viride* on soil health, yield and N-economy of sugarcane cultivation under subtropical climatic conditions of India. European Journal of Agronomy, v. 30, p.296-30, 2009.
- ZAMBELLO, J. R. E.; AZEREDO, D. F. Adubação na Região Centro-sul. In: Orlando Filho, J., coord. Nutrição e adubação da cana de açúcar no Brasil. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1983. p.351-368.