

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR
À INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS
NO RIO GRANDE DO SUL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Lineu Trindade Leal

**Santa Maria, RS. Brasil
2011**

RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR À
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO RIO
GRANDE DO SUL

por

Lineu Trindade Leal

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

Orientador: Prof. Sandro José Giacomini

Santa Maria, RS, Brasil.

2011.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR À
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO RIO GRANDE
DO SUL**

elaborada por
Lineu Trindade Leal

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

COMISSÃO EXAMINADORA:

**Sandro José Giacomini, Dr
(Presidente/Orientador)**

Verônica Massena Reis, Dra (EMBRAPA/Agrobiologia)

Celso Aita, Dr (UFSM)

Santa Maria, 28 de julho de 2011.

Dedico este trabalho aos meus queridos pais Tales Cunha Leal e Gladis Marli Trindade Leal.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre iluminou meus caminhos;

Ao meu pai, minha mãe e meus irmãos pelo amor, carinho e o apoio incondicional.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de realizar este curso.

Ao professor Sandro J. Giacomini pela amizade, apoio, confiança e orientação na execução deste trabalho. Aos professores Celso Aita e Zaida I. Antonioli pelos ensinamentos e orientações.

Aos pesquisadores da Embrapa Agrobiologia, Verônica M. Reis, Segundo C. Urquiaga e Cláudia Jantalia, pelas experiências oportunizadas nesta instituição renomada, pelas orientações na condução do projeto e cessão do inoculante.

Ao pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Sérgio Delmar dos Anjos e Silva, pela cessão das mudas e orientações no plantio e condução dos experimentos.

Ao Instituto Federal Farroupilha pela parceria na realização deste trabalho e pela estrutura disponibilizada para a condução do mesmo. Em especial aos professores Celso e Paulo e ao Seu Vilmar e demais funcionários do Núcleo de Pesquisa Avançada Chapadão pela paciência.

À minha amiga, companheira e amada, Andriéli H. Bandeira, pelo apoio, incentivo, paciência e compreensão durante esta fase. Pessoa sem a qual este trabalho não teria sido realizado. Obrigado por estar sempre comigo, tornando o trabalho divertido. Por ter com quem contar, SEMPRE. Por ser minha COMPANHEIRA.

Aos bolsistas que formaram este grupo de pesquisa maravilhoso: Ailson José Padoin Júnior, Alex Skolaude, Andre Camargo Volpato, Fagner Souto Dias, Getulio Elias Pilecco, Guilherme Dietrich, Isaias Binotto, Jean Cecchin Biondo, Jessica Boelter, Mauricio Fornalski Soares, Lenise Raquel Mentges, Leonardo Mendes Bastos, Luana Liberalesso de Freitas, Raquel Schmatz, Ricardo Elso Leao e Willian Hytalo Ludke, que trabalharam incansavelmente sem nunca perder a alegria o alto astral na realização de todas as tarefas.

A colega Katiule Pereira Moraes pela amizade e parceria no desafio de condução deste projeto.

Aos colegas de laboratório e Pós-Graduandos, Alexandre Doneda, Andressa Ballem, Douglas Adams Weiler, Eduardo Lorensi da Silva, Ezequiel Miola, Fabiano Damasceno, Janquieli Schirmann, Marciel Redin, Marta Eliane Doumer e Vagner João Moro, Stefen Barbosa Pujol.

As demais pessoas que, mesmo não citadas, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muitíssimo obrigado!!

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR À INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO RIO GRANDE DO SUL

AUTOR: LINEU TRINDADE LEAL

ORIENTADOR: SANDRO JOSÉ GIACOMINI

Data e local da defesa: Santa Maria, 28 de julho de 2011.

Na região sul do Brasil é desconhecido o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). A avaliação desta prática e a seleção de genótipos com elevado potencial de fixação biológica de N (FBN) é indispensável para obtenção de altos rendimentos de cana no Rio Grande do Sul (RS). O presente trabalho objetivou estudar o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada sobre o crescimento e a produtividade de genótipos de cana-de-açúcar no RS. Foram realizados dois experimentos de campo. No experimento I, realizado no município de São Francisco de Assis/RS, o genótipo RB835089 foi cultivado em Neossolo Quartzarênico distrófico com e sem inoculação sob dois níveis de adubação nitrogenada (0 e 120 kg ha⁻¹ de N). No experimento II, realizado no município de Jaguari/RS o solo foi um Argissolo Vermelho distrófico arênico, onde foram avaliados 10 genótipos (RB835054, RB855156, RB925211, RB925345, RB986419, RB867515, RB975038, RB945177, RB947625 e RB987935) sob três formas de manejo: com adubação nitrogenada (120 kg de N ha⁻¹), sem N e com inoculação de bactérias diazotróficas e testemunha (sem N e sem inoculação). Nos dois experimentos a inoculação das bactérias diazotróficas nos colmos dos genótipos foi realizada com inoculante da Embrapa-Agrobiologia, composto por cinco estirpes diazotróficas. Foram avaliadas variáveis biométricas de crescimento, massa seca e nitrogênio total acumulado e a produtividade de colmos. No experimento I, a inoculação promoveu aumento no crescimento e no acúmulo de N. O genótipo RB835089 inoculado apresentou produtividade de colmos semelhante ao tratamento que recebeu adubação nitrogenada e superou a testemunha em 50%. No experimento II, a produtividade de cana planta variou de 57 a 118 Mg ha⁻¹. Entre os genótipos avaliados quatro não responderam a adubação e nem a inoculação. O perfilhamento foi a variável mais responsiva a inoculação de bactérias diazotróficas com influência direta na produtividade de colmos. A resposta à inoculação variou entre os genótipos avaliados, sendo observada resposta ao inoculante nos genótipos RB855156, RB945177 e RB947625. Esses genótipos apresentaram produtividade de colmos que superaram aquelas dos tratamentos testemunhas em 13 (18%), 21 (36%) e 13 (22%) Mg ha⁻¹, respectivamente. Os resultados do presente trabalho indicam que a inoculação de bactérias diazotróficas aumenta a produtividade de colmos de cana planta em genótipos responsivos a essa prática, gerando economia de fertilizante nitrogenado através da FBN.

Palavras-chave: Biometria. Bactérias endofíticas. Fixação biológica de N.

ABSTRACT

Master Dissertation

Soil Science Post-Graduation Program

Federal University of Santa Maria.

RESPONSE OF SUGARCANE TO INOCULATION WITH DIAZOTROPHIC BACTERIA IN RIO GRANDE DO SUL

AUTHOR: LINEU TRINDADE LEAL

ADVISER: SANDRO JOSÉ GIACOMINI

Date and Place of Defense; Santa Maria, July 28, 2011.

In southern Brazil is unknown the effect of diazotrophs inoculation in sugarcane (*Saccharum officinarum*). The evaluation of this practice and the selection of genotypes with high potential for biological N fixation (BNF) are essential for obtaining high yields of sugarcane in Rio Grande do Sul (RS). This study investigated the effect of diazotrophic bacteria inoculation and nitrogen fertilization on growth and productivity of sugarcane genotypes in RS. Two experiments were carried out in field conditions. In the experiment I, conducted in São Francisco de Assis/RS, the RB835089 genotype was grown on a Quartzipsament soil with and no-inoculation under two nitrogen levels (0 and 120 kg N ha⁻¹). In the second experiment, conducted in Jaguari/RS on a Hapludalf, 10 genotypes were evaluated (RB835054, RB855156, RB925211, RB925345, RB986419, RB867515, RB975038, RB945177, RB947625 and RB987935) in three managements: nitrogen fertilization (120 kg N ha⁻¹), without N and diazotrophic bacteria inoculation and control (without N and no-inoculation). In both experiments the diazotrophic bacteria inoculation in stems of genotypes was conducted with Embrapa-Agrobiology inoculant, composed of five diazotrophic strains. The evaluated parameters were: biometric variables, dry matter and total nitrogen accumulation and stems productivity. In the first experiment, inoculation increased growth and N accumulation. The stems productivity of the RB835089 inoculated was similar to the treatment that received nitrogen and was 50% higher than the control. In experiment II, sugarcane productivity ranged from 57 to 118 Mg ha⁻¹. Four genotypes did not respond to fertilization and inoculation. Tillering was the variable most responsive to diazotrophic bacteria inoculation with a direct influence on the stems productivity. The response to inoculation varied among genotypes and was observed in genotypes RB855156, RB945177 and RB947625. These genotypes showed stems productivity that exceeded those of the control treatment, respectively, in 13 (18%), 21 (36%) and 13 (22%) Mg ha⁻¹. The results of this study indicate that diazotrophic bacteria inoculation increases the stems productivity of the cane plant in responsive genotypes to practice, saving of nitrogen fertilizer through BNF.

Keywords: Biological N fixation. Biometrics. Entophytic bacteria.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO I | 22 |
| Tabela 1. Espécies de bactérias endofíticas e partes da planta de cana-de-açúcar onde as estirpes foram isoladas..... | 25 |
| Tabela 2. Grau de significância ($Pr < F$) da análise de variância para as variáveis altura, diâmetro de colmos, área foliar da planta, folhas verdes e número de colmos por metro linear para os fatores, adubação nitrogenada (N), inoculação de bactérias diazotróficas (In) e datas de avaliações (Av) | 26 |
| Tabela 3. Valores médios de altura de plantas, diâmetro de colmo e número de colmos por metro linear, proveniente da interação dupla significativa entre tipo de inoculação e adubação nitrogenada, 11 avaliações durante o ciclo da cultura..... | 27 |
| Tabela 4. Produtividade de colmos e nitrogênio total acumulado na parte aérea de cana-de-açúcar, proveniente da interação dupla significativa entre inoculação e adubação nitrogenada. | 29 |
| | |
| CAPÍTULO II..... | 42 |
| Tabela 1. Espécies de bactérias endofíticas e partes da planta de cana-de-açúcar onde as estirpes foram isoladas..... | 47 |
| Tabela 2. Altura média de plantas durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha ⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado)..... | 53 |
| Tabela 3. Diâmetro da base de colmos durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha ⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado)..... | 54 |
| Tabela 4. Perfilhamento médio de colmos de cana-de-açúcar durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha ⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado)..... | 56 |
| Tabela 5. Produtividade de colmos de cana-de-açúcar (Mg ha ⁻¹) dos genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha ⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado)..... | 58 |

Tabela 6. Nitrogênio total acumulado (kg ha^{-1}) dos genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha^{-1} de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado)..... 59

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|-----------|
| CAPÍTULO I | 22 |
| Figura 1. Altura de plantas (cm) durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP), (a) em dois níveis de adubação, 0 kg ha ⁻¹ de N e 120 kg ha ⁻¹ , (b) em duas condições, sem inoculação e com inoculação..... | 31 |
| Figura 2. Área foliar média durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP); (1 - Testemunha; 2 - Inoculado; 3 - 120 kg ha ⁻¹ de N, sem inoculação; 4 - 120 kg ha ⁻¹ de N, com inoculação)..... | 32 |
| Figura 3. Valores diários de precipitação (mm), temperatura mínima e temperatura máxima na estação meteorológica automática de Santiago-RS. Fonte: INMET..... | 32 |
| Figura 4. Diâmetro de colmos durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP) | 34 |
| Figura 5. Número médio de folhas verdes por planta em função do fator dias após plantio (DAP). | 35 |
| Figura 6. Número de colmos por metro linear em função do fator dias após plantio (DAP)... | 36 |
| | |
| CAPÍTULO II..... | 42 |
| Figura 1. Altura de plantas de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP)..... | 49 |
| Figura 2. Diâmetro de colmos de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP). | 50 |
| Figura 3. Perfilamento de colmos de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP)..... | 51 |
| Figura 4. Valores diários de precipitação (mm), temperatura mínima e temperatura máxima na estação meteorológica automática de Santiago-RS. Fonte: INMET..... | 55 |
| Figura 5. Médias de perfilamento de colmos de cana-de-açúcar (colmos m ⁻¹), (a) de genótipos de ciclo precoce e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, em submetidos a três tratamentos, adubação com 120 kg ha ⁻¹ de N, testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP)..... | 57 |

Figura 6. Massa seca total de cana-de-açúcar (Mg ha^{-1}): a) genótipos de ciclo precoce e médio-tardio; b) médias dos três tratamentos (adubação com 120 kg ha^{-1} de N; testemunha; com inoculação de bactérias diazotróficas)..... 62

SUMÁRIO

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 | A contribuição da FBN para a cana-de-açúcar | 15 |
| 2.2 | Bactérias promotoras de crescimento de plantas | 16 |
| 2.3 | Ciclagem e aproveitamento do nitrogênio | 18 |
| 2.4 | Ambientes de produção para cana-de-açúcar | 18 |
| 3. | CAPÍTULO I - CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM NEOSSOLO QUATZARENICO | 21 |
| 3.1 | Resumo..... | 21 |
| 3.2 | Abstract | 22 |
| 3.3 | Introdução | 22 |
| 3.4 | Material e Métodos | 24 |
| 3.5 | Resultados e Discussão | 26 |
| 3.6 | Conclusão..... | 36 |
| 3.7 | Referências Bibliográficas..... | 36 |
| 4. | CAPÍTULO II - PRODUTIVIDADE DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDOS À INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS | 42 |
| 4.1 | Resumo..... | 42 |
| 4.2 | Abstract | 43 |
| 4.3 | Introdução | 43 |
| 4.4 | Material e Métodos | 45 |
| 4.5 | Resultados e Discussão | 48 |
| 4.6 | Conclusão..... | 63 |
| 4.7 | Referências | 63 |
| 5. | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 69 |
| 6. | REFERÊNCIAS..... | 70 |

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de cana-de-açúcar com uma área cultivada de aproximadamente 8,7 milhões de hectares no ano de 2009 (IBGE, 2011). A grande expansão da cultura no país se deve aos incentivos recebidos pelo setor sucroalcooleiro e a demanda mundial crescente por álcool e açúcar. Aliado a isso, a adaptação da cultura da cana-de-açúcar a distintas condições edafoclimáticas possibilita seu cultivo em diversas regiões do Brasil.

No Rio Grande do Sul (RS) a cana-de-açúcar é produzida predominantemente em pequenas propriedades de agricultores familiares onde a maior parte da cana destina-se a produção artesanal de melado, cachaça, açúcar mascavo e rapadura e ao consumo na propriedade como forragem para alimentação animal, principalmente nos períodos de menor disponibilidade de forragem do campo nativo. O cultivo da cana-de-açúcar com a finalidade de produção de álcool ocorre na região noroeste do estado. Nessa região está instalada a principal usina de produção de álcool do estado, a Cooperativa dos Produtores de Cana de Porto Xavier (Coopercana) a qual é responsável pela produção de apenas 2% do álcool consumido no RS.

Recentemente foi publicada no diário oficial da união (17 de abril de 2009) a portaria 54, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a qual contemplou o RS no zoneamento agrícola da cana-de-açúcar com 1,5 milhão de hectares em 216 municípios aptos ao cultivo. As principais áreas de plantio estão situadas no Litoral Norte (Santo Antônio da Patrulha), Médio Alto Uruguai (Jaboticaba), Central (Jaguari) e Noroeste - Vale do Uruguai (Porto Xavier). Com a divulgação deste zoneamento para o RS acredita-se que a área cultivada com cana aumente significativamente nos próximos anos. Estudos realizados na década de 90 por Aude et al. (1994) e recentemente por Silva et al. (2008) indicaram que a cana-de-açúcar no RS apresenta potencial para produzir matéria-prima para a produção de álcool e açúcar semelhante àquela observada em regiões tradicionais de cultivo desta cultura. Tais informações, aliada a dependência do RS em álcool combustível, estão fazendo que órgãos públicos e privados incentivem o cultivo da cana-de-açúcar no estado.

Para que nos novos cultivos da cana-de-açúcar no RS sejam obtidos rendimentos satisfatórios, é importante que estudos sejam realizados a fim de selecionar genótipos que melhor se adaptem a região do Sul do Brasil com clima subtropical. Isso se justifica, devido

que o RS apresenta condições edafoclimáticas distintas daquelas regiões produtoras de cana-de-açúcar, onde foram geradas a maioria das informações técnicas para essa cultura. É importante que nesses estudos sejam avaliados aspectos relacionados a fixação biológica de nitrogênio (FBN), buscando selecionar aqueles genótipos com elevado potencial em fixar nitrogênio. Essa característica é importante para aumentar a eficiência de produção, diminuir os impactos ambientais relacionados ao uso de fertilizantes nitrogenados, assim como auxiliar para um balanço energético mais positivo.

Em condições de campo vários trabalhos já evidenciaram que a cana-de-açúcar tem uma grande contribuição da FBN a partir de bactérias diazotróficas associadas à cultura, onde várias cultivares apresentaram uma alta contribuição deste processo biológico, chegando até 60% do N acumulado oriundo da FBN (BODDEY et al., 2001; POLIDORO *et al.*, 2001; XAVIER, 2002). Também já foi demonstrado que a ocorrência da FBN e sua magnitude são dependentes do genótipo e sua interação com o ambiente. Segundo Oliveira et al. (2006) a FBN acontece em maior intensidade em ambientes de deficiência de nitrogênio, pois este é um processo energeticamente caro para os microrganismos. Portanto solos de baixa fertilidade podem ser potencialmente mais favoráveis à FBN em cana-de-açúcar. Essas informações reforçam a importância da seleção de genótipos com elevado potencial em FBN para as condições do Sul do Brasil a fim de maximizar a contribuição deste processo biológico nos cultivos de cana no RS.

A expressiva contribuição da FBN para o acúmulo de N em genótipos de cana no Brasil pode ser atribuída, principalmente, à seleção genética de cultivares, a qual sempre visou genótipos produtivos em condições de baixa fertilidade do solo, onde, de maneira geral, sempre utilizaram adubações nitrogenadas relativamente baixas (em torno de $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N). O resultado deste tipo de seleção pode ser notado ao analisar experimentos de calibração de adubação nitrogenada, onde Azeredo et al. (1986) verificaram que de 135 experimentos, apenas 20% obtiveram resposta da cultura à aplicação de nitrogênio. Entretanto, variedades brasileiras não responsivas à aplicação de nitrogênio, respondem à adubação com molibdênio (URQUIAGA et al., 1996), o que é uma característica de culturas que se beneficiam da FBN, pois o molibdênio é essencial para a síntese e atividade da enzima nitrogenase (POLIDORO, 2001)

Atualmente a FBN é muito estudada quanto a sua contribuição para o crescimento vegetal. No entanto, já existem fortes indícios de que estas bactérias contribuem com diversos outros mecanismos promotores de crescimento de plantas. Essas bactérias são chamadas, normalmente, de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), sendo descritas

diversas espécies e estirpes de gêneros como *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum* e *Pseudomonas*. Estas, além de fixar N₂, podem estimular as plantas através da produção de fito-hormônios, solubilização de fósforo e zinco, indução de resistência a doenças ou competição com patógenos, resistência a estresses, entre outros (DOBBELAERE et al. 2003; ARENCIBIA et al. 2006; SARAVANA et al. 2007).

A Embrapa Agrobiologia, no Rio de Janeiro, vem estudando esse grupo de bactérias e seus benefícios, principalmente, aqueles relacionados à FBN em gramíneas, desde a década de 60 liderada pela Dra. Johanna Döbereiner. Ao longo destes anos os trabalhos foram intensificados no isolamento e seleção de bactérias diazotróficas em diversos cultivares de espécies de gramíneas, destacando-se a cana-de-açúcar. Em outubro de 2008, a Embrapa consolidou o seu trabalho ao repassar a tecnologia para quatro empresas produzirem o inoculante comercial para a cultura da cana-de-açúcar composto por cinco espécies de bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*). Informações sobre o efeito da aplicação desta tecnologia sobre a produtividade de cana ainda são escassas e se restringem as regiões tradicionais produtoras de cana. O uso da inoculação em cultivos de cana-de-açúcar no RS poderá ser uma alternativa para promover a maximização da FBN possibilitando ao produtor uma redução nos custos, além de um ganho ambiental. Para que essa tecnologia resulte em benefícios para os cultivos no RS é preciso que a mesma seja testada em diversas condições de solo e aplicada a diferentes genótipos, visando avaliar aqueles mais responsivos a inoculação de bactérias diazotróficas.

O presente trabalho teve como hipótese que a FBN varia entre genótipos de cana, sendo que diferentes genótipos apresentam distintas respostas a inoculação de bactérias diazotróficas. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada sobre o crescimento e a produtividade em diferentes genótipos de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A contribuição da FBN para a cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar apresenta uma alta demanda em N, sendo que para uma produtividade de 100 Mg ha⁻¹ de colmos necessita acumular de 180 a 250 kg ha⁻¹ de N em ciclo de cana-planta (primeiro ciclo) e 120 a 180 kg ha⁻¹ de N em cana-soca (ciclos seguintes) (XAVIER, 2002). Considerando que o nitrogênio contido no colmo é exportado para a usina e a palha da cana é queimada para facilitar a colheita, seu cultivo contínuo, como é feito há muitos anos, rapidamente esgotaria as reservas deste nutriente no solo, pois as quantidades adicionadas anualmente via fertilizantes, raramente ultrapassam 30 kg ha⁻¹ em cana-planta e 80 kg ha⁻¹ em cana-soca (URQUIAGA et al., 2003). No entanto, não se observa a redução nos níveis de nitrogênio do solo, tão pouco da produtividade, evidenciando então que a cultura da cana possa estar se beneficiando da fixação biológica de nitrogênio.

Ao avaliar o balanço de nitrogênio na cultura de cana-de-açúcar, ao longo de 16 anos de cultivo, Resende (2003) observou que não houve redução significativa no teor de nitrogênio do solo, resultando em um balanço positivo mesmo quando não foi adicionado fertilizante nitrogenado ao sistema.

Utilizando técnicas de abundância natural de delta N¹⁵ e de diluição isotópica de N¹⁵, alguns estudos mostram que a contribuição de FBN associada às plantas de cana-de-açúcar cultivadas no campo e sem inoculação varia de zero a 60% (URQUIAGA et al., 1992; POLIDORO et al., 2001), dependendo do genótipo da planta e da sua interação com os diversos gêneros de bactérias associativas (REIS et al., 2000). Estes resultados indicam que a contribuição da FBN na cana-de-açúcar está associada à variedade, assim como a outros fatores como tipo de manejo, tipo de solo e às condições climáticas (URQUIAGA et al., 2005). Entretanto, apesar dos inúmeros avanços, ainda não se tem um controle da FBN nessa cultura, evidenciando a necessidade de continuar selecionando cultivares com alto potencial para FBN (COELHO et al., 2003; URQUIAGA et al., 2003; XAVIER, 2006) para garantir que a utilização e seleção de inoculantes (OLIVEIRA et al., 2002; CANUTO et al., 2003), e diferentes tipos de manejo incrementem este processo.

Estes resultados positivos na cana-de-açúcar são atribuídos, principalmente, à seleção genética de cultivares, a qual sempre visou genótipos produtivos em condições de baixa

fertilidade do solo. Resultado deste tipo de seleção pode ser notado ao analisar experimentos de calibração de adubação nitrogenada, onde Azeredo (1986) cita que de 135 experimentos, apenas 20% obtiveram resposta da cultura à aplicação de nitrogênio. Entretanto, variedades brasileiras não responsivas à aplicação de nitrogênio, respondem à adubação com molibdênio (URQUIAGA et al., 1996), o que é uma característica de culturas que se beneficiam da FBN, pois o Mo é essencial para a síntese e atividade da enzima nitrogenase (POLIDORO, 2001)

2.2 Bactérias promotoras de crescimento de plantas

A fixação biológica de nitrogênio vem sendo estudada com grande intensidade em muitos cereais e gramíneas como a cana-de-açúcar. No entanto, muitos experimentos não conseguiram provar uma contribuição significativa da FBN para o desenvolvimento da cultura. Sendo que é claro que a associação com diazotróficas traz efeitos positivos para o crescimento das plantas, direta ou indiretamente, através de uma combinação de diversos mecanismos chamados generalizadamente de promotores de crescimento (DOBBELAERE, 2003).

A *Gluconacetobacter diazotrophicus* é muito pesquisada em interação com plantas de cana-de-açúcar, como a espécie de maior ocorrência e possivelmente de maior contribuição por FBN. A fixação de N₂, entretanto, não é o único mecanismo promotor de crescimento de plantas observado nesta espécie. Saravanan et al. (2008), relata entre o gênero *Gluconacetobacter* diversos mecanismos como a síntese de fitohormônios, solubilização de P e Zn e biocontrole de patógenos.

Estes mecanismos promotores de crescimento podem ser evidenciados em experimentos de inoculação de plantas com mutantes Nif, sem o gene da enzima nitrogenase, onde tanto as estirpes selvagens quanto os mutantes foram capazes de promover o crescimento das plantas de cana na presença de nitrogênio (SEVILLA et al., 2001). A produção de ácido-3-indol acético (AIA) poderia promover o enraizamento e melhorar o crescimento das plantas por efeito direto sobre processos metabólicos. A produção deste fitohormônio, assim como de giberilina, já foi identificada em diversos isolados dessa espécie (FUENTES-RAMÍREZ et al., 1993; BASTIAN et al., 1998; SUMAN et al., 2001). Além de *G. diazotrophicus*, outras espécies diazotróficas importantes como *Azospirillum brasilense* (BARBIERI et al., 1986; JANZEN et al., 1992), *Azospirillum lipoferum* (PICCOLI et al.,

1996), *Herbaspirillum seropedicae* (BASTIAN et al., 1998), *Azotobacter* (PATI et al., 1995), *Klebsiella sp.* (GOVINDARAJAN et al., 2007) tem apresentado sintetização de fitohormônios como AIA e giberilina.

Considerando os solos de baixa fertilidade, onde a FBN se torna muito importante para a nutrição de plantas, geralmente o fósforo também é um elemento limitante devido sua baixa disponibilidade. Por isso, a fixação do nitrogênio atmosférico não deve ser explorada como única vantagem fornecida pelas bactérias diazotróficas, pois estas vem apresentando resultados promissores de solubilização de fosfato, disponibilizando P e promovendo o crescimento vegetal (SESHADRI et al., 2000; KUKLINSKY-SOBRAL et al., 2004). Suman et al. (2001), ao fazer avaliação de diversidade de bactérias endofíticas em cana-de-açúcar, verificaram que 17 isolados, dos 22 avaliados, tinham capacidade de solubilização de fosfato.

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) vem apresentando potencial de utilização para biocontrole de fitopatógenos. Os mecanismos de controle apresentados são: concorrência por um nicho ecológico ou substrato, produção de aleloquímicos inibidores e indução de resistência sistêmica (IRS) na planta hospedeira (COMPANT et al., 2005).

Quando acontece concorrência por nutrientes e as bactérias biocontroles são mais eficientes, estas dificultando o seu desenvolvimento do patógeno. O melhor exemplo entendido deste mecanismo é a concorrência por ferro. RPCPs produzem sideróforos de alta afinidade Fe^{3+} que sequestraram ferro na rizosfera, tornando-se menos disponíveis para determinados microorganismos deletérios (LOPER; HENKELS, 1999).

Pseudomonas spp. vem apresentando antagonismo ao patógeno da podridão vermelha da cana-de-açúcar, *Colletotrichum falcatum* (VISWANATHAN; SAMIYAPPAN, 2007). A resistência induzida foi mantida até 90 dias no hospedeiro após o tratamento com RPCPs, sendo suficiente para imunizar a cultura durante o período de maior susceptibilidade resultando em uma melhora de produtividade e parâmetros de qualidade como brix e pureza. (VISWANATHAN; SAMIYAPPAN, 1999; VISWANATHAN et al., 2003). Além disso, a escaldadura da cana-de-açúcar, causada por *Xanthomonas albilineans*, também tem sido controlada por resistência induzida por inoculação com *G. diazotrophicus* (ARENCEBIA et al., 2006).

2.3 Ciclagem e aproveitamento do nitrogênio

Estudos demonstram que a cana-de-açúcar tem uma eficiência de recuperação do nitrogênio relativamente baixa. Pois o aproveitamento deste nutriente, por cana-soca, quando proveniente de uréia varia entre 10 e 21% e cerca de 4 a 9% do nitrogênio da palha remanescente sobre o solo (GAVA et al. 2003; GAVA et al., 2005). Ao avaliar o total de nitrogênio residual no sistema, Vitti (2007), aplicando nitrato de amônio, verificou que 40% deste fica no sistema solo-planta (raízes e rizomas)-palha, independentemente da dose utilizada, servindo como residual para a safra seguinte. Sendo que o conteúdo de N nas raízes e rizomas das plantas variou de 22 a 80 kg ha⁻¹ de N. Resultado que evidencia a importância das raízes na ciclagem de nitrogênio no sistema.

Esta baixa eficiência de recuperação do N residual da palhada pode ser atribuída a sua pequena concentração, em torno de 80 kg ha⁻¹, em relação ao estoque na matéria orgânica do solo, maior que 3000 kg ha⁻¹ (NG KEE KWONG; DEVILLE, 1987) e a sua lenta decomposição e mineralização (VITTI, 2003). A decomposição da palhada é acelerada pela adubação nitrogenada (VITTI et al., 2008), sendo que a maior parte do N proveniente da palha é acumulado no final do ciclo (GAVA et al. 2003).

Levando-se em consideração as condições de baixa eficiência de recuperação do N-fertilizante, pode-se concluir que existem outras fontes deste nutriente para a planta (BITTENCOURT et al. 1986). Além disso, nos canaviais brasileiros, a palha é queimada deixando de fornecer o seu nitrogênio residual à cana-soca.

2.4 Ambientes de produção para cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é cultivada desde a latitude 35° N até 35° S, com uma larga escala de adaptação. Neste sentido, a expansão da sua área de cultivo, para atender a demanda de energia, vem exigindo esforços para melhor caracterização de suas exigências climáticas e áreas de adaptação no Brasil, visando também outras fronteiras agrícolas para atender ao agronegócio (BRUNINI, 2008). No Brasil, a cultura se estende desde a proximidade da linha do equador no estado do Amazonas até o Rio Grande do Sul, já na região subtropical

(AGRIANUAL, 2002), abrangendo diversos tipos de solos e climas, caracterizando ambientes de produção variados.

Segundo Prado et al. (2008), o ambiente de produção é definido em função de condições físicas, hídricas, morfológicas, químicas e mineralógicas dos solos sob manejo adequado da camada arável, associadas às condições de subsuperfície dos solos e ao clima regional. Os autores relatam ainda que os ambientes de produção são compostos pela profundidade do solo, que tem relação direta com a disponibilidade de água e com o volume de solo explorado, pela fertilidade, textura, que está relacionada com os níveis de matéria orgânica, e pela água, como parte da solução do solo, que é vital para a sobrevivência das plantas.

Prado (2007) propõe uma classificação de ambientes de produção em 10 níveis de “A” a “E”, para estimar a produtividade da cana-de-açúcar, onde o primeiro nível (A1) estima produtividades acima de 100 TCH e o último (E2) tem produtividade de menor que 68 TCH. Para tal classificação, são considerados, o tipo de solo, o grau de disponibilidade de água, a química do solo abaixo da camada arável e a CTC na camada arável.

A produtividade está diretamente relacionada com o comportamento dos genótipos e sua interação com o ambiente de produção. Dias et al. (1999) avaliaram a produtividade de seis variedades de cana-de-açúcar em seis locais com solos distintos, no noroeste do estado de São Paulo, e demonstraram que algumas variedades são mais adaptadas às condições de maior fertilidade e outras são mais tolerantes à ambientes com menor disponibilidade de água. As características químicas, físicas e hídricas da camada subsuperficial (B) apresentaram significativas correlações com o rendimento da cultura, sendo que nitossolo e latossolo roxo foram os solos de maior potencial produtivo e o neossolo quartzarênico de menor potencial.

Para definir um genótipo em relação ao seu perfil de resposta é necessário caracterizá-lo em quanto a sua capacidade produtiva, avaliada pela média de produção agrícola em um grande número de locais, e quanto a sua responsividade, dada pela estimativa da estabilidade fenotípica (LANDEL; BRESSIANI, 2008). Os autores explicam que a inclinação da reta de desempenho da cultivar nos ambientes de produção pode caracterizá-la em cultivar estável, que respondem a condições mais favoráveis e também tem bom desempenho em condições desfavoráveis de produção, em cultivar responsiva, que tem grande resposta a condições favoráveis, mas não se adapta a condições desfavoráveis, e cultivares rústicas, que se adaptam aos ambientes mais restritos, mas não apresentam boa resposta a condições favoráveis de cultivo.

A resposta de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas, também sofre influência direta do ambiente de produção. Oliveira et al. (2006) ao avaliarem a inoculação de bactérias diazotróficas em duas variedades de cana-de-açúcar (SP70-1143 e SP81-3250), verificaram que o rendimento de colmos e a contribuição da FBN foram influenciados tanto pela combinação de estirpes utilizadas, quanto do genótipo da planta, do tipo de solo, e da adubação nitrogenada. Estes resultados evidenciam a necessidade de avaliação da viabilidade da tecnologia de inoculação de bactérias diazotróficas na cultura da cana-de-açúcar nos mais diversos ambientes de produção desta cultura no Brasil. Dentre as áreas de produção de cana-de-açúcar, ainda é desconhecido o efeito desta tecnologia nas regiões de clima subtropical brasileiras.

3. CAPÍTULO I

CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM NEOSSOLO QUATZARENICO

GROWTH AND PRODUCTIVITY OF SUGAR CANE INOCULATED WITH DIAZOTROPHIC BACTERIA IN QUARTZIPSAMENT SOIL

3.1 Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas sobre o crescimento e produtividade da cana-de-açúcar no município de São Francisco de Assis, RS, em um Neossolo Quartzarênico distrófico. O delineamento experimental adotado foi o blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 2 x 11 (dois níveis de adubação – 0 e 120 kg ha⁻¹ e dois manejos de inoculação de bactérias diazotróficas – sem inoculação e com inoculação) com 11 avaliações de crescimento durante o ciclo da cultura. Foi utilizada a variedade comercial RB835089, analisando-se as seguintes variáveis durante o ciclo da cultura: diâmetro de colmo; área foliar; altura de plantas; número de folhas verdes; perfilhos por metro linear; nitrogênio total acumulado e produtividade da cultura. O inoculante consistiu de cinco estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas: *Gluconacetobacter diazotrophicus* – BR11281^T, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* – BR11335, *H. rubrisubalbicans* – BR11504, *Azospirillum amazonense* – BR11115 e *Burkholderia* sp. – BR11366^T. A inoculação apresentou significância dentro do nível zero de nitrogênio quando observadas as variáveis, altura de plantas, diâmetro de colmos, área foliar da planta, número de colmos por metro linear, produtividade de colmos e nitrogênio total acumulado, não apresentando este comportamento apenas para o número de folhas verdes. Já na presença da adubação nitrogenada na dose de 120 kg ha⁻¹ não foi observada resposta significativa da inoculação de bactérias diazotróficas em todas as variáveis analisadas. A inoculação resultou em um incremento de 50% ou 12,9 Mg ha⁻¹ colmos frescos, e de 44% ou 25,8 kg ha⁻¹ de N em relação ao tratamento testemunha. Já o uso da adubação nitrogenada resultou em um incremento de 78% ou 20,1 Mg ha⁻¹ de colmos e 105% ou 60,5 kg ha⁻¹ de nitrogênio total acumulado na parte aérea.

Palavras-chave: Biometria. Bactérias diazotróficas. Nitrogênio.

3.2 Abstract

This study aimed to evaluate the efficiency of inoculation of diazotrophic bacteria on growth and productivity of sugar cane in São Francisco de Assis, RS, in a Quartzipsamment soil. The experimental design was randomized blocks with four replications in a factorial $2 \times 2 \times 11$ (two levels of fertilization - 0 and 120 kg ha⁻¹ and two management inoculation of diazotrophic bacteria - without inoculation and inoculated) with 11 assessments of growth during the crop cycle. We used the commercial variety RB835089, analyzing the following variables during the crop cycle, stalk diameter, leaf area, plant height, number of green leaves, tillers per meter, total nitrogen accumulated and crop productivity. The inoculant was composed of five strains of endophytic diazotrophic bacteria, *Gluconacetobacter diazotrophicus* - BR11281^T, *Herbaspirillum seropedicae* - BR11335, *H. rubrisubalbicans* - BR11504, *Azospirillum Amazon* - BR11145 and *Burkholderia tropica*. - BR11366^T. The inoculation had significance within the zero level of nitrogen when the observed variables, plant height, stalk diameter, leaf area, tillers per meter, crop productivity, total nitrogen accumulated, did not show this behavior only to the number of green leaves. In the presence of nitrogen at a dose of 120 kg ha⁻¹ there was no significant response to inoculation of diazotrophic bacteria in all variables. The inoculation resulted in an increase of 50% or 12,9 Mg ha⁻¹ stalk fresh, and 44% or 25.8 kg ha⁻¹ N compared to control treatment. The use of nitrogen fertilization resulted in an increase of 78% ou 20,1 Mg ha⁻¹ stalk fresh and 105% or 60,5 kg ha⁻¹ N accumulated in the shoot.

Key works: Biometrics, Diazotrophic bacteria. Nitrogen.

3.3 Introdução

Historicamente o cultivo da cana-de-açúcar no Brasil utiliza baixas doses de adubação nitrogenada. Fato que pode ser explicado, principalmente, pela seleção de genótipos realizada pelos programas de melhoramento genético da cultura no país, conduzidos sob baixas doses

de adubação nitrogenada e com produtividades satisfatórias. Raramente são observadas grandes respostas da cultura a adição de nitrogênio. Azeredo (1986) ao analisar 135 experimentos de calibração de adubação nitrogenada, conduzidos no Brasil, verificou que apenas 20% obtiveram efeito positivo deste elemento com incremento na produtividade de colmos.

Entretanto, genótipos de cana-de-açúcar brasileiros não responsivos à aplicação de nitrogênio, respondem à adubação com molibdênio (Urquiaga et al., 1996), o que é uma característica de culturas que se beneficiam da fixação biológica de nitrogênio - FBN, pois o Mo é essencial para a síntese e atividade da enzima nitrogenase (Polidoro, 2001). Estima-se que, em alguns genótipos, a FBN pode alcançar níveis entre 60% do N total acumulado (Urquiaga et al., 1992; Boddey et al., 2001; Polidoro, 2001; Urquiaga et al., 2003). Estes resultados indicam que a contribuição da FBN na cana-de-açúcar está associada ao genótipo, assim como a outros fatores como tipo de manejo, tipo de solo e às condições climáticas (Urquiaga et al., 2005).

O tipo de solo é determinante para o grau de contribuição da atividade de FBN na cultura. Oliveira et al. (2006) demonstraram que a FBN acontece em maior intensidade em ambientes baixa à média fertilidade, pois este é um processo energeticamente caro para os microrganismos. Portanto, em geral, solos de baixa fertilidade são potencialmente mais favoráveis à FBN. A adição de altas doses de nitrogênio também pode influenciar negativamente na população de algumas bactérias diazotróficas como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Muthukumarasamy et al., 1999), sendo esse efeito dependente do genótipo em estudo. Medeiros et al. (2006) ao avaliarem o efeito da adição de quantidades crescentes de duas fontes de nitrogênio mineral (sulfato de amônio e nitrato de cálcio) sobre a população de *G. diazotrophicus* e a atividade da enzima nitrogenase (redução de acetileno) e acúmulo de atividade N por dois híbridos de cana, SP 701143 e SP 792312, verificaram que ambas as variedades a adição de nitrato de amônio inibiu a população de *G. diazotrophicus*, embora para a variedade SP 701143 o efeito deletério foi mais pronunciado quando utilizado nitrato de cálcio.

O sudoeste do Rio Grande do Sul é caracterizado pela grande ocorrência de solos arenosos, de baixa fertilidade e suscetíveis ao processo de arenização (Klamt, 1994). A ação antrópica, por meio de cultivos agrícolas ou criação animal, acelera o processo de degradação do solo deste ecossistema naturalmente frágil. Os campos desta região possuem baixa produção de forragem, suportando uma baixa carga animal e perda de cobertura do solo causada pelo pastejo e pisoteio animal que aumenta a exposição do solo aos agentes erosivos.

Logo, a cana-de-açúcar pode ser uma alternativa para a região por se tratar de uma cultura semi-perene, de alta produção de massa, que além de proporcionar uma grande quantidade de palha para cobertura do solo após a colheita, possui um grande suporte forrageiro, especialmente nos meses de inverno quando ocorre déficit de forragem nativa.

Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas sobre o crescimento e produtividade da cana-de-açúcar no município de São Francisco de Assis – RS.

3.4 Material e Métodos

O experimento foi realizado no período de agosto de 2009 a julho de 2010, na área experimental do sindicato Rural de São Francisco de Assis, com coordenadas 29°30'56''S e 55°8'45''W. O solo da área é classificado como Neossolo Quartzarênico distrófico. No início do experimento, o solo da camada de 0-20 cm apresentou as seguintes características físicas e químicas: 60 g kg⁻¹ de argila; pH em água = 5,2; índice SMP = 7,1; 3 mg L⁻¹ de P; 60 mg L⁻¹ de K; 0,3 cmolc L⁻¹ de Al³⁺; e 0,5 g kg⁻¹ de matéria orgânica (MO).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 2 x 11 (dois níveis de adubação – 0 e 120 kg ha⁻¹ e dois manejos de inoculação de bactérias diazotróficas – sem inoculação e com inoculação) com 11 avaliações de crescimento durante o ciclo da cultura. Cada unidade experimental consistiu de parcelas de três linhas de 5 m, sendo utilizada a variedade comercial RB835089. Para as avaliações de crescimento, foram marcadas, com fios coloridos, três plantas por parcela, na linha central de cada parcela.

A variedade RB835089 possui alto potencial produtivo, com exigência baixa a média, tendo ampla adaptabilidade e estabilidade, produzindo em ambientes A, B, C e D. Os teores de sacarose e fibra são médios. Em relação a doenças, a variedade é resistente a carvão, ferrugem, mosaico, estria vermelha e falsa estria vermelha, sendo intermediária apenas para escaldadura. Baixo perfilhamento em cana-planta (HOFFMANN et al., 2008). Os autores recomendam a variedade para plantio em solos arenosos em regiões com disponibilidade de água, para colheita no meio e final da safra.

O plantio foi realizado em condições preparo do solo de cultivo mínimo realizando-se uma dessecação previa com glifosato (2 L ha⁻¹) e abertura dos sulcos de plantio com correção

e adubação na ocasião do plantio. A densidade de plantio foi de 18 gemas por metro linear, em sulcos de aproximadamente 30 cm de profundidade e espaçamento de 1,4 m entre linhas. Foram aplicados no sulco de plantio 200 kg ha⁻¹ de calcário (PRNT 90%), 400 kg ha⁻¹ de fertilizante na fórmula 0-30-15 e 50 kg ha⁻¹ de FTE BR12, como fonte de micronutrientes. Aos 85 dias após o plantio realizou-se a adubação de cobertura com 50 kg ha⁻¹ de KCl. A adubação nitrogenada dos tratamentos T3 e T4 foi dividida em três aplicações de 15, 60 e 45 kg ha⁻¹ de N, sendo a primeira na ocasião do plantio, e as demais aos 85 e 140 dias após o plantio, respectivamente.

A inoculação das bactérias diazotróficas nos colmos dos genótipos foi realizada utilizando um inoculante formulado pela Embrapa Agrobiologia (RJ), composto por cinco estirpes diazotróficas selecionadas por Oliveira et al. (2003), conforme a Tabela 1. A inoculação foi realizada conforme recomendado por Reis et al. (2009), antecedendo o plantio, fazendo-se a imersão dos toletes com três gemas por um período de uma hora em calda de inoculação formada por uma dose de 1250 g de inoculante turfoso diluída em 200 litros de água.

Tabela 1. Espécies de bactérias endofíticas e partes da planta de cana-de-açúcar onde as estirpes foram isoladas.

| Espécie | Estirpe | Parte da Planta | Variedade |
|---|---------|-----------------|----------------------|
| <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> | BR11281 | Raízes | <i>Saccharum</i> sp. |
| <i>Herbaspirillum seropedicae</i> | BR11335 | Raízes | SP70-1143 |
| <i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i> | BR11504 | Colmos | SP70-1284 |
| <i>Azospirillum amazonense</i> | BR11145 | Colmos | CB45-3 |
| <i>Burkholderia tropica</i> | BR11366 | Perfilhos | SP71-1406 |

Estirpes depositadas na coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia.

Durante o ciclo da cultura foram realizadas 11 avaliações de crescimento. Analisou-se o diâmetro de colmos na altura do solo; altura de plantas pela medição da distância do solo até a folha +1; número de perfilhos por metro linear e área foliar não destrutiva, realizada por meio da contagem do número de folhas verdes (a partir da folha +1) e pelas medidas de comprimento e largura na porção mediana nas folhas +3, utilizando régua milimétrica, segundo metodologia descrita por Hermann & Câmara (1999).

Na colheita, estimou-se a produção de massa colhendo a linha central de cada parcela e pesando a massa fresca de colmos, palhada, e ponteiros. Deste material foram coletadas

amostras e levadas a estufa de secagem a 65°C, até atingirem peso constante, para determinação do conteúdo de matéria seca e N total na parte aérea das plantas avaliadas. Posteriormente, o material seco foi moído em micro-moinho (modelo MA-630 da marca Marconi), originando tamanho de partículas inferior a 0,5mm. Nas amostras moídas foram determinados os teores de N total por digestão úmida conforme descrito por Tedesco et al. (1995).

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância, sendo as médias comparadas entre si pelo teste de Duncan à 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SAS.

3.5 Resultados e Discussão

A análise de variância para a altura média de plantas não apresentou interação tripla significativa entre os fatores principais: adubação nitrogenada, inoculação e datas de avaliações (Tabela 2). Mas, houve significância para as interações duplas entre adubação e inoculação, adubação e datas de avaliações, e inoculação e datas de avaliações.

Tabela.2. Grau de significância ($P < F$) da análise de variância para as variáveis altura, diâmetro de colmos, área foliar da planta, folhas verdes e número de colmos por metro linear para os fatores, adubação nitrogenada (N), inoculação de bactérias diazotróficas (In) e datas de avaliações (Av).

| | Altura | Diâmetro | Área Foliar Planta | Folhas Verdes | Colmos/m |
|---------|--------|----------|--------------------|---------------|----------|
| N | <.0001 | <.0001 | <.0001 | 0.0030 | 0.4736 |
| In | <.0001 | 0.0252 | 0.0060 | 0.8700 | 0.0008 |
| Av | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 | <.0001 |
| N*In | <.0001 | 0.0393 | 0.0024 | 0.1460 | <.0001 |
| N*Av | 0.0189 | 0.3007 | 0.9094 | 0.6065 | 0.3312 |
| In*Av | 0.0344 | 0.9544 | 0.9563 | 0.8998 | 0.1844 |
| N*In*Av | 0.9548 | 0.9163 | 0.0108 | 0.7316 | 0.8229 |

Houve interação dupla significativa ($P < 0,05$) entre os fatores adubação nitrogenada e inoculação para as variáveis de altura de plantas, diâmetro de colmo e número de colmos por metro linear.

A altura de plantas da cana-de-açúcar apresenta resposta significativa, tanto à inoculação quanto à adubação nitrogenada (Tabela 3). Este resultado indica que a inoculação para a variável altura de plantas pode apresentar um resultado no crescimento da cana-de-açúcar, semelhante à adubação nitrogenada, e não apresentando incremento quando utilizadas as duas técnicas em conjunto, visto que a utilização dos dois insumos não apresenta diferença significativa quando se utiliza estes de maneira isolada. As bactérias endofíticas, além de fixar N₂, podem estimular as plantas através da produção de fitohormônios, solubilização de fósforo e zinco, indução de resistência a doenças ou competição com patógenos, resistência a estresses, entre outros (Dobbelaere et al. 2003; Arencibia et al. 2006; Saravana et al. 2007).

Tabela 3. Valores médios de altura de plantas, diâmetro de colmo e número de colmos por metro linear, proveniente da interação dupla significativa entre tipo de inoculação e adubação nitrogenada, 11 avaliações durante o ciclo da cultura.

| | S/inoc | Inoc | CV % |
|-----------------------------------|----------|----------|-------|
| Altura de plantas (cm) | | | |
| 0 kg N | 87,2 b B | 98,5 a A | 8,06 |
| 120 Kg N | 98 a A | 99 a A | 11,02 |
| CV % | 8,72 | 10,56 | |
| Diâmetro de colmos (cm) | | | |
| 0 kg N | 2,39 a B | 2,48 a A | 5,62 |
| 120 Kg N | 2,53 a A | 2,54 a A | 5,66 |
| CV % | 6,08 | 5,18 | |
| Número de colmos por metro linear | | | |
| 0 kg N | 8,72 b A | 9,98 a A | 12,82 |
| 120 Kg N | 9,32 a A | 9,15 a A | 15,53 |
| CV % | 13,18 | 15,08 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Em relação ao diâmetro de colmo (Tabela 3), verificou-se efeito significativo para a adubação nitrogenada, sendo que a inoculação não apresentou resposta em nenhum dos níveis de adubação nitrogenada. Alvarez & Castro (1999), verificaram que o diâmetro colmos sofre pouca influencia do sistema de manejo, sendo evidenciado que o seu crescimento é mais acentuado no início do ciclo. Oliveira (2004), ao fazer análise de crescimento de três cultivares de cana-de-açúcar, não observou diferenças nas primeiras épocas, até os 135 DAP, sendo as diferenças verificadas a partir dos 279 DAP. Após este período o autor, também

verificou a tendência de diminuição e estabilização do diâmetro médio de colmos de todos os cultivares. De acordo com Cesnik & Miocque (2004), o tamanho médio do diâmetro em cana-de-açúcar é de 2,5 cm, valor similar ao encontrado neste estudo.

O número de colmos por metro linear, não apresentou diferença estatística significativa ($P>0,05$) em relação à ausência e presença da adubação nitrogenada (Tabela 3). A inoculação mostrou-se significativamente superior no nível zero de adubação nitrogenada. O que evidencia o efeito promotor de crescimento proporcionado pelas bactérias diazotróficas, visto que somente a inoculação apresentou efeito significativo sobre esta variável. Segundo Casagrande (1991) o perfilhamento é regulado pela auxina, que é formada no topo do dossel e que desce em fluxo contínuo em direção a base, logo, o hormônio exerce duplo efeito nas plantas: alongamento do colmo e o impedimento do desenvolvimento das gemas laterais (dominância apical) com a alta intensidade luminosa, o fluxo de auxina diminui e observa-se então um decréscimo no grau de inibição das gemas laterais, resultando no aumento do número de perfilhos. No entanto, Taiz & Zeiger (2004) relataram experimentos que demonstraram que após o corte do ápice caulinar foi verificado aumento na quantidade de auxina nas gemas axilares, indicando ser improvável o modelo de dominância apical induzido pela auxina.

Taiz & Zieger (2004) também comentam que outros hormônios, como citocianinas e ABA, podem estar relacionados. A aplicação de citocianinas diretamente nas gemas axilares estimula o crescimento destas em muitas espécies, suprimindo o efeito inibitório do ápice caulinar.

Na ocasião da colheita foi avaliada a produtividade de colmos por hectare e o nitrogênio total acumulado na parte aérea da cana-de-açúcar. Estas, em semelhança às variáveis de crescimento, apresentaram interação significativa entre os fatores inoculação e adubação. A inoculação resultou em um incremento de 50% ou 12,9 Mg ha⁻¹ colmos frescos, e de 45% ou 24 kg ha⁻¹ de N em relação ao tratamento testemunha. Já o uso da adubação nitrogenada resultou em um incremento de 78% ou 20,1 Mg ha⁻¹ de colmos e 100% ou 53 kg ha⁻¹ de nitrogênio total acumulado na parte aérea (Tabela 4).

Oliveira et al. (2006), verificaram que as respostas à inoculação de bactérias diazotróficas é mais evidenciada em solos de baixa e média fertilidade e sem a utilização de fertilizante nitrogenado. Estes resultados corroboram com os resultados deste estudo, em que a inoculação apresenta resultados positivos apenas quando utilizada na ausência de adubação nitrogenada, mesmo se tratando de um solo de fertilidade muito baixa.

O nitrogênio total acumulado foi à única variável analisada em que teve um incremento significativo da adubação nitrogenada em relação ao tratamento que recebeu somente inoculação (Tabela 4). Embora, o acúmulo de nitrogênio na parte aérea da cana-de-açúcar tenha sido superior, este efeito teve menor intensidade na produtividade de colmos, com 46,7 Mg ha⁻¹ quando utilizado adubação e inoculação contra 38,6 Mg ha⁻¹ quanto utilizado apenas a inoculação.

A inoculação apresentou significância dentro do nível zero de nitrogênio quando observadas as variáveis, altura de plantas, diâmetro de colmos, área foliar da planta, número de colmos por metro linear, produtividade de colmos e nitrogênio total acumulado, não apresentando este comportamento apenas para o número de folhas verdes. Já na presença da adubação nitrogenada na dose de 120 kg ha⁻¹ não foi observada resposta significativa da inoculação de bactérias diazotróficas em todas as variáveis analisadas. Comportamento que pode ser explicado pelo efeito supressor que a adubação nitrogenada causa sobre a população de bactérias diazotróficas (Fuentes-Ramírez et al., 1999; Muthukumarasamy et al., 1999).

A altura de plantas apresentou interação dupla significativa (P<0,05) entre os fatores adubação e dias após plantio e entre os fatores inoculação e dias após plantio (Figuras 1).

Os fatores adubação e inoculação apresentaram comportamentos semelhantes em relação as suas testemunhas durante o ciclo da cultura no que diz respeito à altura de plantas. Estes se mostraram superiores especialmente no período entre os 150 e 300 DAP, tendendo se aproximar da testemunha no final do ciclo da cultura (Figuras 1).

Tabela 4. Produtividade de colmos e nitrogênio total acumulado na parte aérea de cana-de-açúcar, proveniente da interação dupla significativa entre inoculação e adubação nitrogenada.

| | S/inoc | Inoc | CV % |
|--|----------|----------|------|
| Produtividade de colmos (Mg ha ⁻¹) | | | |
| 0 kg N | 25,7 b B | 38,6 a A | 5,3 |
| 120 Kg N | 45,8 a A | 46,7 a A | 21,6 |
| CV % | 21,8 | 9,5 | |
| Nitrogênio total acumulado na parte aérea (kg ha ⁻¹) | | | |
| 0 kg N | 53 b B | 77 a A | 12,3 |
| 120 Kg N | 106 a A | 94 a A | 24,5 |
| CV % | 20,7 | 19,0 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

As curvas de crescimento da cultura (Figura 1) apresentaram comportamento sigmoidal, dividido em três fases, conforme verificado por Machado et al. (1982) e Gava et al. (2001). O tratamento na dose de 0 kg ha⁻¹ de N apresentou seu valor máximo de 164 cm aos 328 dias após o plantio (DAP), enquanto o tratamento na dose de 120 kg ha⁻¹ de N alcançou seu valor máximo (162 cm) aos 297 DAP. Os tratamentos utilizados apresentaram crescimento inicial similar, apresentando a partir dos 160 DAP um maior incremento de altura de plantas no tratamento que recebeu 120 kg ha⁻¹ de N, em relação ao tratamento testemunha (0 kg ha⁻¹ de N), sendo esse incremento médio em torno de 10%.

Almeida et al. (2008) verificaram que a primeira fase de crescimento, estabelecimento da cultura, ocorreu até o acúmulo de 750 GD, próximo aos 100 DAP, onde o crescimento foi lento em função da pequena área foliar por colmo em plantas novas, quando as folhas estavam pequenas e pouco expandidas. A segunda fase, com crescimento rápido e linear, foi observada pelos autores foi entre os 750 e 1500 GD, próximo aos 240 DAP, seguida da terceira fase, de maturação, com estabilização da cultura. Comportamento que foi semelhante ao observado, neste estudo, para altura de plantas, onde o crescimento foi acelerado a partir dos 106 DAP até os 249 DAP, quando houve estabilização da altura de plantas coincidindo com o início do período de temperaturas mais baixas no mês de maio e início da maturação da cultura.

O mesmo comportamento foi observado quando analisado o fator inoculação. O tratamento sem inoculação obteve seu ponto de máxima aos 319 DAP (160 cm), enquanto que o tratamento de com inoculação obteve sua maior altura (163 cm) aos 275 DAP. Bastian et al. (1998) estudando a influência de bactérias diazotróficas em plantas, verificaram que essas bactérias são capazes de produzirem fitohormônios (ácido indol acético – AIA) promovendo um maior alongamento do colmo, além de que são capazes de fixar N₂ do ar, aumentando o seu potencial para a promoção de crescimento.

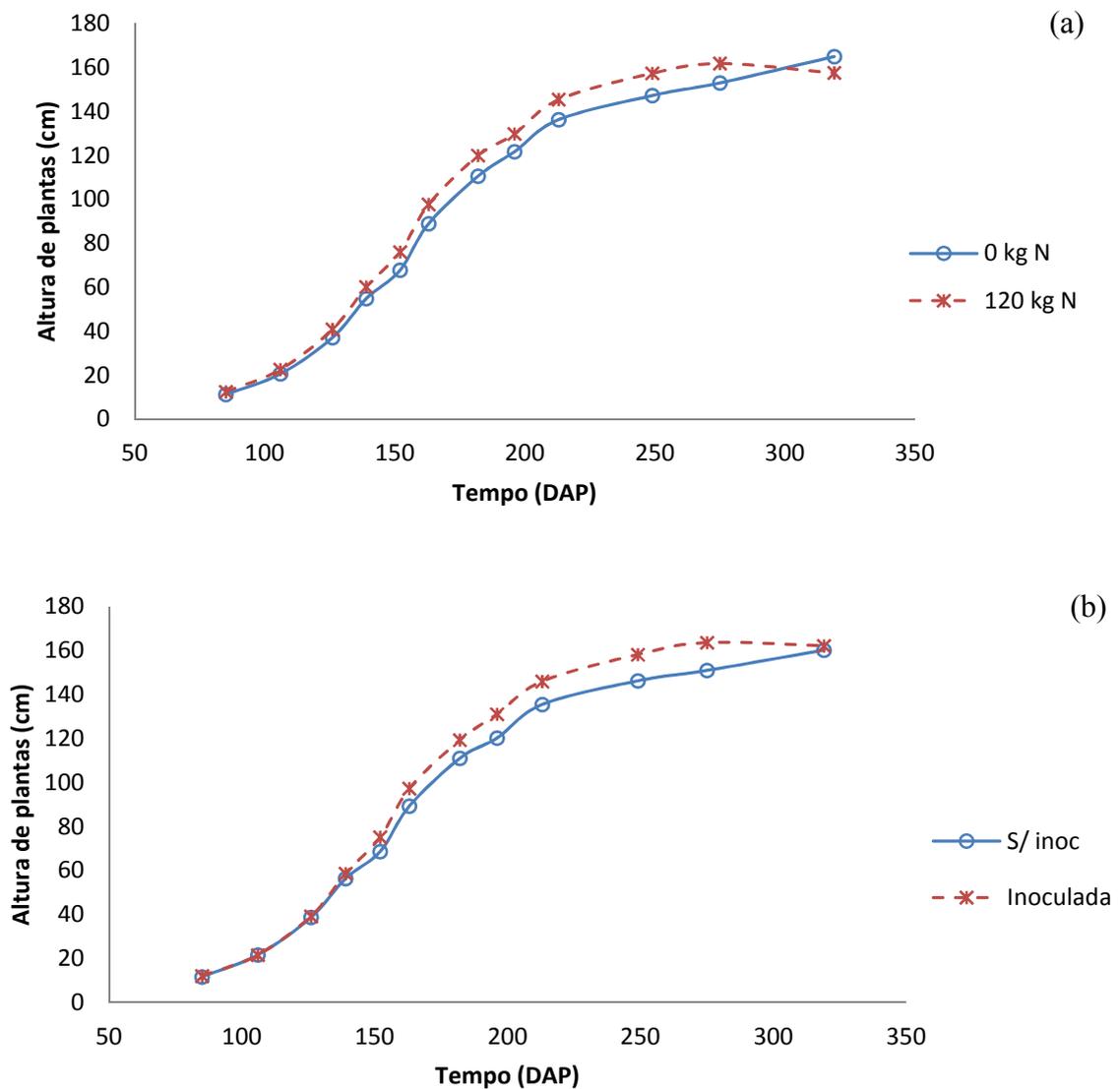


Figura 1. Altura de plantas (cm) durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP), (a) em dois níveis de adubação, 0 kg ha⁻¹ de N e 120 kg ha⁻¹, (b) em duas condições, sem inoculação e com inoculação.

A área foliar da planta de cana-de-açúcar foi a única variável que apresentou interação tripla significativa entre os fatores principais: adubação, inoculação e datas de avaliações. Esta apresentou crescimento acelerado até os 182 DAP, tendendo a estabilização até o final do ciclo (Figura 2). O tratamento que recebeu adubação nitrogenada e inoculação (T4) apresentou a partir dos 200 DAP a maior área foliar até o ciclo final da cultura, obtendo seu valor máximo de 5351 cm² aos 213 DAP. O tratamento testemunha (T1 - sem adubação e sem inoculação) teve comportamento inferior aos demais tratamentos durante quase todo o ciclo da cultura, sendo seu valor máximo de 4422 cm², também aos 213 DAP. Aos 196 e 249 DAP

foram observadas quedas na área foliar em todos os tratamentos estudados. Estes períodos coincidiram com épocas de déficit hídrico (nos meses de março e maio), como pode ser observado na Figura 3, resultando em redução do número de folhas verdes por planta, conforme Figura 5, influenciando diretamente na área foliar da planta.

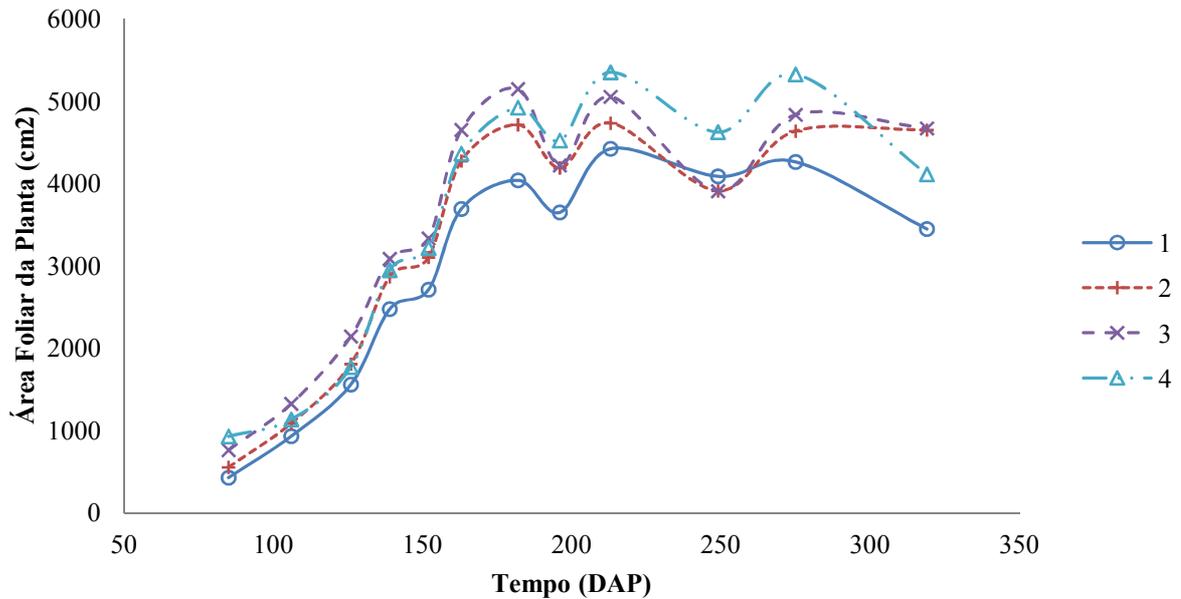


Figura 2. Área foliar média durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP); (1 - Testemunha; 2 - Inoculado; 3 - 120 kg ha⁻¹ de N, sem inoculação; 4 - 120 kg ha⁻¹ de N, com inoculação).

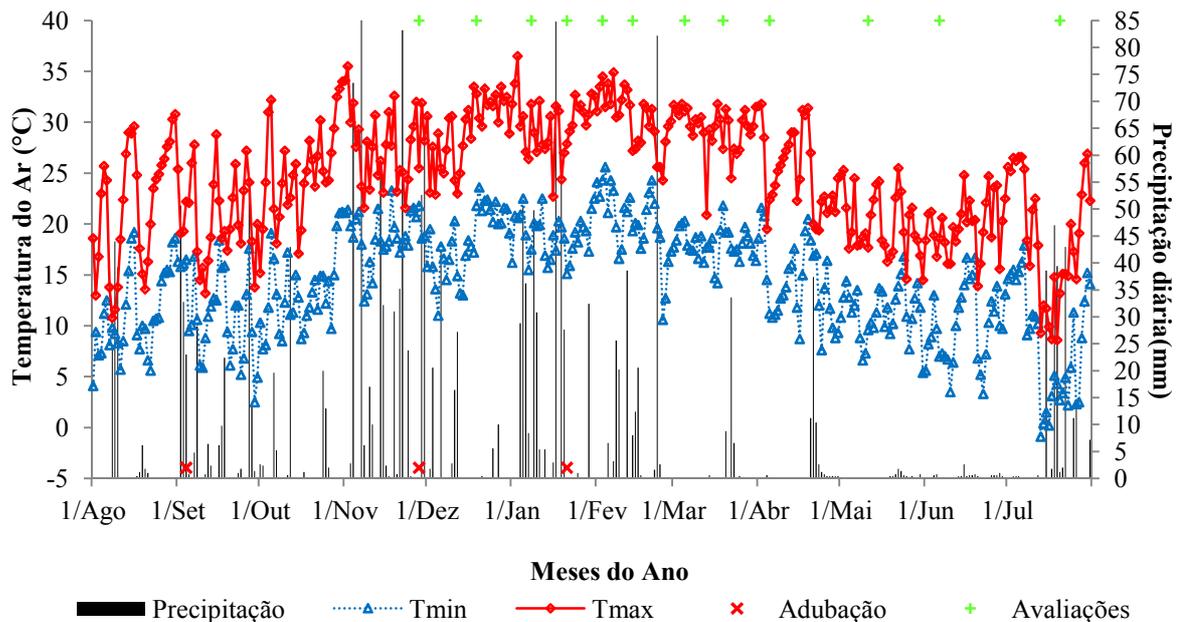


Figura 3. Valores diários de precipitação (mm), temperatura mínima e temperatura máxima na estação meteorológica automática de Santiago-RS. Fonte: INMET.

As folhas são órgãos responsáveis por 90% da massa seca acumulada nas plantas, resultante da atividade fotossintética, assim, fatores como temperaturas elevadas em períodos de estresse hídrico causam diminuição da área foliar, e de acordo com Inman-Bamber (2004), o tempo de exposição à seca afeta negativamente o crescimento da parte aérea, sobretudo a produção de folhas, acelerando a senescência foliar. Machado et al. (1982) e Ido (2003), relatam que o maior crescimento da área foliar ocorrem nos meses de janeiro a abril, devido às adequadas condições de temperatura e precipitação.

Para diâmetro de colmo não houve interação dupla significativa entre os fatores adubação e datas de avaliação e inoculação e datas de avaliação (Figura 4). Foi observado crescimento intenso e linear até os 139 DAP. O valor máximo foi medido aos 163 DAP, chegando a 2,8 cm. Posteriormente foi verificada uma leve queda aos 213 DAP, tendendo, após esse período, a se estabilizar até o final do ciclo da cultura. Essa resposta também foi verificada por Oliveira (2004), e pode ser explicada pelo efeito da despalha natural da planta que faz com que ocorra uma redução no diâmetro medido durante a época de avaliação.

Santos (2006), ao comparar diferentes fontes de fósforo na variedade RB751206, observou o crescimento do diâmetro médio de colmos até os dez meses após o plantio, sendo que o maior incremento é alcançado até seis meses após o plantio, onde é formado mais de 75% do diâmetro final.

Alvarez & Castro (1999) relataram que o diâmetro do colmo sofre pequena influência do sistema de manejo ao avaliar o crescimento da parte aérea em dois tipos de sistemas de colheita de cana crua e queimada. Os autores também relataram que há uma fase de crescimento acelerado no início do ciclo, semelhante ao observado neste estudo.

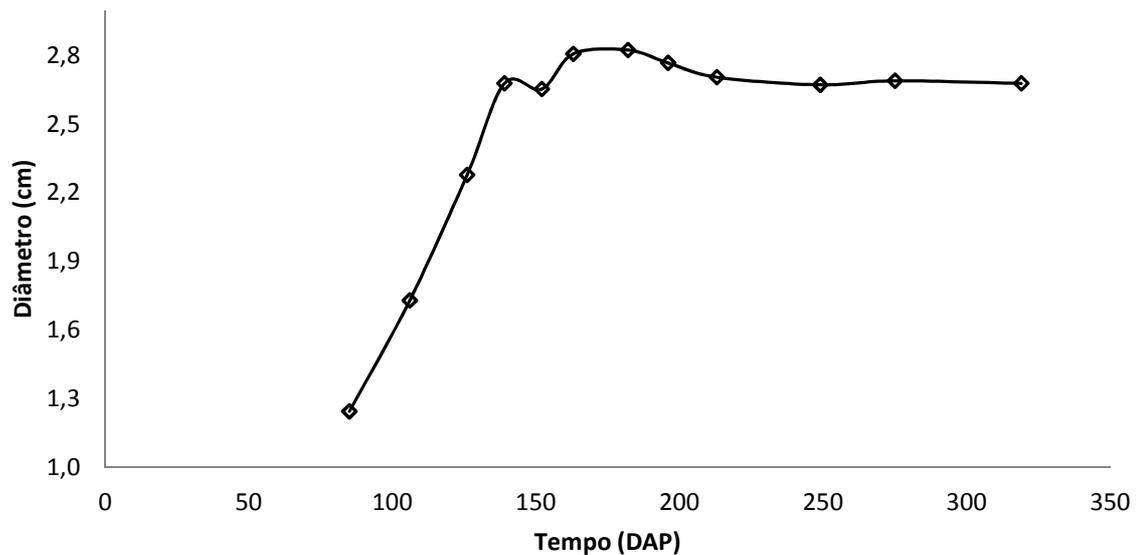


Figura 4. Diâmetro de colmos durante o ciclo da cultura em Dias Após o Plantio (DAP)

A variável número de folhas verdes apresentou uma grande oscilação durante o ciclo (Figura 5). Na fase de perfilhamento, até os 152 DAP, quando a cultura alcançou o maior número de perfilhos por metro linear (12 colmos m^{-1}), pode-se observar que a cultura permaneceu estável, próximo a cinco folhas verdes por planta. O número médio de folhas verdes em relação às datas de avaliação variou de cinco a nove folhas por perfilho. Valores semelhantes foram observados por Oliveira et al. (2007), que encontraram valores médios de 6,6 folhas verdes por perfilho durante o ciclo da cana-de-açúcar. Segundo Machado (1981) devido à senescência e queda das folhas mais velhas observa-se o número praticamente constante, de sete a nove folhas por colmo, após o fechamento do dossel.

Essa oscilação durante o ciclo da cultura pode ser explicada pela ocorrência de déficit hídrico durante o ciclo da cultura no período de 196 e 249 DAP. Conforme Inman-Bamber (2004), Smit & Singels (2006) e Machado (2009) a senescência foliar é responsiva a deficiência hídrica e que a redução do número de folhas verdes ocorre após a redução no surgimento de folhas. Atribui-se que a redução de folhas verdes é uma estratégia para diminuir a superfície transpirante e o gasto metabólico para a manutenção dos tecidos (Inman-Bamber & Smith, 2005; Smit & Singels, 2006; Inman-Bamber et al., 2008). A variável número de folhas verdes caracteriza-se como importante, pois por intermédio desta pode-se verificar a eficiência fotossintética da planta frente aos estresses propostos.

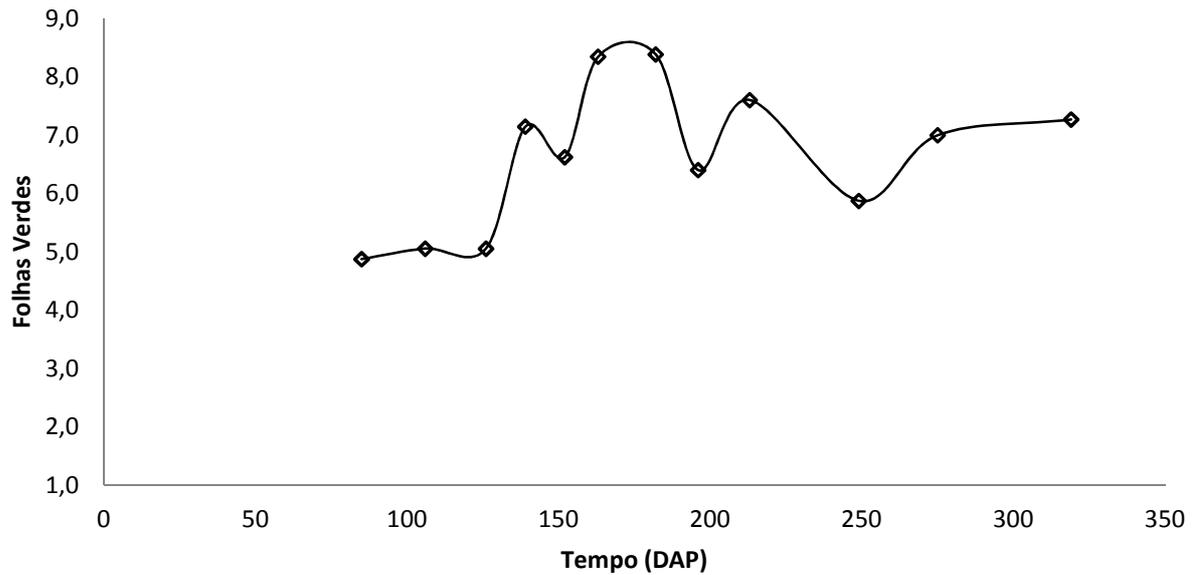


Figura 5. Número médio de folhas verdes por planta em função do fator dias após plantio (DAP).

O perfilhamento da cultura pode ser considerado baixo, justificado pela baixa fertilidade do solo em estudo, onde a competição por nutrientes e água não permitiu estabelecimento de um número maior de perfilhos por metro linear (Figura 6). Machado (1987) relata que a mortalidade de colmos coincide com o período que o índice de área foliar aumenta rapidamente, sugerindo que, além da competição por água e nutrientes ocasionada pelo aumento do número de perfilhos, o auto-sombreamento é um fator importante na determinação deste comportamento. A temperatura também tem sido relatada como determinante para o perfilhamento. Casagrande (1991) indicou que o perfilhamento aumenta até a temperatura de 30°C.

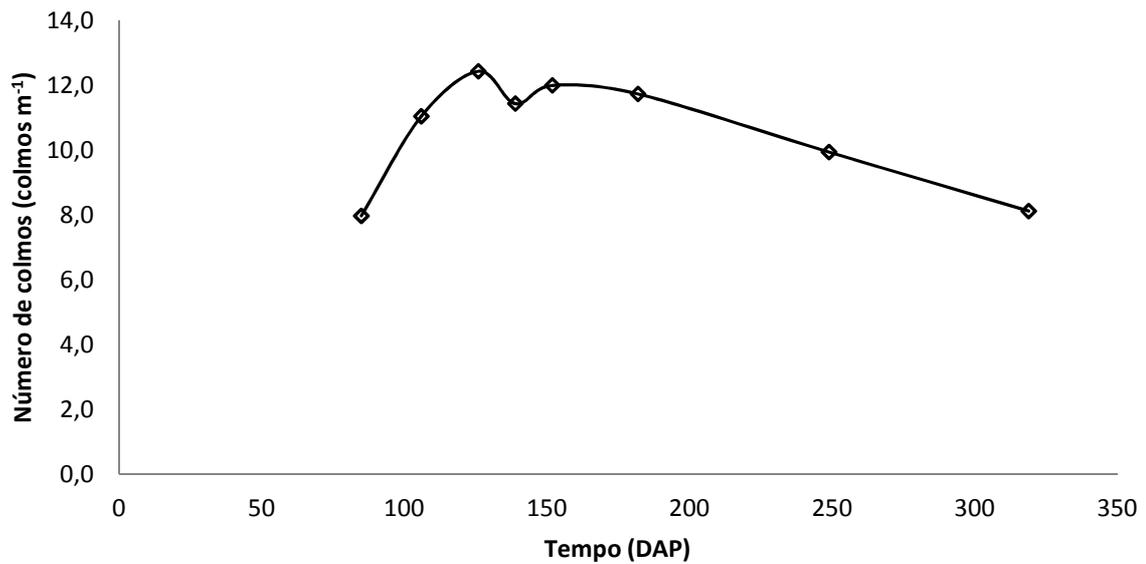


Figura 6. Número de colmos por metro linear em função do fator dias após plantio (DAP).

3.6 Conclusão

1. A inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar favorece o crescimento da cultura, resultando em maior produtividade de colmos e acúmulo de nitrogênio na parte aérea, apresentando resultados próximos aos obtidos quando utilizado a adubação com 120 kg ha⁻¹ de nitrogênio.
2. O uso conjunto de inoculação de bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada não apresenta efeito significativo em relação à utilização destes insumos de maneira isolada.
3. A altura de plantas e o número de colmos por metro se destacam como as variáveis de crescimento mais responsivas a inoculação.

3.7 Referências Bibliográficas

ALMEIDA, A.C. DOS S.; SOUZA, J.L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G.V.S.; MOURA FILHO, G.; FERREIRA JÚNIOR, R.A. Desenvolvimento vegetativo e produção de

variedades de cana-de-açúcar em relação à disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1441-1448, 2008.

ALVAREZ, A. A.; CASTRO, P. R. C. Crescimento da parte aérea de cana crua e queimada. **Scientia Agrícola**, v.56, n.4, p.1069-1079, suplemento, 1999.

ARENCEBIA, A.D.; ESTEVEZ Y.; VINAGRE, E.; BERNAL, A.; PEREZ, J.; CARMONA, E.; HEMERLY, A.S.; SANTANA, I. Induced-resistance in sugarcane against pathogenic bacteria *Xanthomonas albilineans* mediated by an endophytic interaction. **Sugar Tech**, v. 8, n. 4, p. 272-280, 2006.

AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA J.R. Nitrogênio em cana-planta - doses e fracionamento. **STAB**, v.6, n.5, p.26-33, 1986.

BASTIAN F.; COHEN A.; PICCOLI P.; LUNA V.; BARALDI R.; BOTTINI R. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A₁ and A₃ by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Reg**, v. 24, n. 1, p. 7–11, 1998.

BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. Use of ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and others grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.28, p.889-895, 2001.

CASAGRANDE, A.A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana -de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 157p.

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da Cana-de-açúcar**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 307 p.

DOBBELAERE S.; VANDERLEYDEN J.; OKON Y. Plant growthpromoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 22, n. 2, p. 107–149, 2003.

FUENTES-RAMÍRES, L. E.; CABALLERO-MELLADO, J., SEPÚLVEDA, J. & MARTÍNEZ-ROMERO, E. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 29, p.117-128, 1999.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W. Recuperação do nitrogênio (^{15}N) da uréia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.4, p.621-630, 2003.

HERMANN, E.R.; CÂMARA, G.M.S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**. Piracicaba, v.17, n.5, p.32-34, 1999.

HOFFMANN, H.P.; SANTOS, E.G.D.; BASSINELLO, A.I.; VIEIRA, M.A.S. **Variedades RB de Cana-de-açúcar**. Araras: CCA/UFSCar, 2008. 30 p.

IDO, O. T.; **Desenvolvimento radicial e caulinar, de três variedades de cana-de-açúcar, em Rizotron, em dois substratos**. 2003. 141p. Tese (Doutorado em Agronomia, Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, v.89: p.107-122, 2004.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 185-202, 2005.

INMAN-BAMBER, N.G.; BONNETT, G.D.; SPILLMAN, M.F.; HEWITT, M.L.; JACKSON, J. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.59, p.13-26, 2008.

KLAMT, E. Solos arenosos da região da Campanha do Rio Grande do Sul. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. **Solos altamente suscetíveis à erosão**. Jaboticabal, 1994. p.19-37.

MACHADO, E.C. **Um modelo matemático-fisiológico para simular o acúmulo de matéria seca na cultura de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 1981. 115p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia/UNICAMP, Campinas, 1981.

MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R.; FAHL, J.I.; ARRUDA, J.V.; CIONE, J. Índices biométricos de duas cultivares de cana-de-açúcar. **Pesq. agropec. bras.**, v.17, n.9, p. 1323-1329, 1982.

MACHADO, E.C. Fisiologia de produção de cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. (Coord.) **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas, Fundação Cargill, v.1, cap.1, p.56-87, 1987.

MACHADO, R. S.; et al. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesq. agropec. bras.**, v.44, n.12, p.1575-1582, dez. 2009.

MEDEIROS, A.F.A.; POLIDORO, J.C; REIS, V.M. Nitrogen source effect on *Gluconacetobacter diazotrophicus* colonization of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Plant and Soil**, v. 279, p.141–152, 2006

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of nitrogen fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* spp. from Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility Soils**, v.29, p.157-164, 1999.

OLIVEIRA, R.A. **Análise de crescimento da cana-de-açúcar, na região noroeste do Paraná**. 2004. 65p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

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

OLIVEIRA, R.A. de; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; WEBER, H.; IDO, O.T.; BESPALHOK-FILHO, J.C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; SILVA, D.K.T.da. Área foliar em três cultivares de cana-de-açúcar e sua correlação com a produção de biomassa. **Pesq Agropec Trop**, v.37, n.2, p.71-76, 2007.

POLIDORO, J.C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na fixação biológica de nitrogênio atmosférico associada à cultura de cana-de-açúcar**. 2001. 185p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

REIS, V.M.; PEREIRA, W.; HIPÓLITO, G. de S.; **Métodos de aplicação bactérias diazotróficas em cana-planta para fins de determinação de eficiência agrônômica**. Comunicado Técnico 118 - Embrapa Agrobiologia, p.4, 2009.

SANTOS, V.R. dos. **Crescimento e produção de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo**. 2006. 104p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2006.

SARAVANAN, V.S.; MADHAIYAN, M.; OSBORNE J.; THANGARAJU M.; SA, T.M. Ecological Occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and Nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* Members: Their Possible Role in Plant Growth Promotion. **Microbial Ecology**, v. 55, p. 130-140, 2008.

SMITH J. L. & UM M. H. Rapid procedures for preparing soil and KCl extracts for 15N analysis. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v. 21, p. 2173-2180, 1990.

SMIT, M.A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v.98, p.91-97, 2006.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3a edição. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia. UFRGS. Porto Alegre, RS. (Boletim técnico, nº 5) 2ª ed. 215 p., 1995.

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 America Journal**, v. 56, n.1, p.105-114, 1992.

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. In: **XIII Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo**, Águas de Lindóia, SP. CD-ROM, 1996.

URQUIAGA, S. et al. Avaliação da eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio em diferentes variedades de cana-de-açúcar. **Revista Agronomia**, v.37, n.1, p. 55-58, 2003.

URQUIAGA, S. et al. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade dos sistemas agrícolas na América Latina. In: AQUINO, A.M.de; ASSIS, R.L.de. (Org.).

Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 181-200.

4. CAPÍTULO II

PRODUTIVIDADE DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDOS À INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

PRODUCTIVITY OF SUGARCANE GENOTYPES SUBMITTED TO DIAZOTROPHIC BACTERIA INOCULATION

4.1 Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas sobre a produtividade da cana-de-açúcar no município de Jaguari, RS. O delineamento experimental adotado foi blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos consistiram de dez genótipos de cana-de-açúcar, sob três condições de cultivo (adubação nitrogenada – 120 kg ha⁻¹ de N, inoculação de baterias diazotróficas e testemunha) em treze avaliações de crescimento durante o ciclo da cultura. O inoculante foi composto de cinco estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas: *Gluconacetobacter diazotrophicus* – BR11281^T, *Herbaspirillum seropedicae* – BR11335, *H. rubrisubalbicans* – BR11504, *Azospirillum amazonense* – BR11145 e *Burkholderia tropica*. – BR11366^T. Avaliou-se as variáveis de crescimento, altura de plantas, diâmetro de colmos e número de perfilhos, e produtividade, nitrogênio acumulado e massa seca total. Os genótipos RB855156, RB945177 e RB947625, quando inoculados, apresentaram aumento de produtividade de 13, 21 e 13 Mg ha⁻¹ ou 18, 35,6, e 22% em relação ao tratamento testemunha. Os genótipos RB835054, RB855156, RB867515, RB947625 e RB987935 apresentaram efeito significativo para o tratamento com adubação de N, sendo que o RB987935 foi o que apresentou os maiores índices de produtividade nos três tratamentos estudados. Os genótipos RB835156, RB945177 e RB947625 apresentam boa resposta à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. A resposta à adubação nitrogenada e à inoculação de bactérias diazotróficas é dependente do genótipo de cana-de-açúcar, e pouco freqüentes no ambiente de estudo.

Termos para Indexação: Diazotróficas. Avaliação de crescimento. *Saccharum officinarum*..

4.2 Abstract

This study aimed to evaluate the efficiency of inoculation of diazotrophic bacteria on the productivity of sugarcane in the city of Jaguari RS. The experimental design was randomized blocks with three replications. The treatments consisted of ten genotypes of sugar cane under three growing conditions (nitrogen - 120 kg N ha⁻¹, inoculation of diazotrophic bacteria and control) in thirteen assessments of growth during the crop cycle. The inoculant was composed of five strains of endophytic diazotrophic bacteria, *Gluconacetobacter diazotrophicus* - BR11281^T, *Herbaspirillum seropedicae* - BR11335, *H. rubrisubalbicans* - BR11504, *Azospirillum Amazon* - BR11145 and *Burkholderia tropica*. - BR11366^T. We evaluated the growth variables, plant height, stalk diameter and number of tillers, and productivity, total nitrogen accumulated and total dry mass. The genotypes RB855156, RB945177 and RB947625, when inoculated, showed an increase in productivity of 13, 21 and 13 Mg ha⁻¹ or 18, 35.6, and 22% compared to the control treatment. The genotypes RB835054, RB855156, RB867515, RB947625 and RB987935 had a significant effect for treatment with N fertilization, and the RB987935 presented the highest rates of productivity in the three treatments. The response to nitrogen fertilization and inoculation of diazotrophic bacteria is dependent on the genotype of cane sugar, and infrequent in the study environment.

Index terms: Diazotrophic. Evaluation of growth. *Saccharum officinarum*.

4.3 Introdução

A cana-de-açúcar apresenta elevada demanda em N, podendo acumular 180 kg de N ha⁻¹ para uma produtividade de colmos de 143 Mg ha⁻¹ no ciclo de cana planta (Franco et al., 2008; 2010). Apesar disso, as doses de fertilizante nitrogenado recomendadas no plantio da cana não ultrapassam 40 kg de N ha⁻¹ (Franco et al., 2010), evidenciando que essa cultura beneficia-se do processo de fixação biológica de N (FBN). Tal evidência foi comprovada por Boddey et al. (2001), que ao utilizarem a técnica da abundância natural de ¹⁵N verificaram que a FBN, em diferentes regiões produtoras do Brasil, contribuiu com 25 a 60% do N acumulado pela planta da cana.

A FBN em cana ocorre devido a associação desta espécie com diferentes gêneros de bactérias diazotróficas (Gomes et al., 2005). Recentemente Oliveira et al. (2003) selecionaram cinco estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas com elevado potencial de FBN na cana. A seleção dessas estirpes possibilitou a Embrapa Agrobiologia do Rio de Janeiro realizar a formulação de um inoculante para a cana. Essa nova tecnologia ainda está sendo testada (Silva et al., 2009) e os seus efeitos sobre a produtividade da cana, principalmente em condições de campo, ainda não são bem conhecidos. Apesar de ser reconhecida a influência dos genótipos e das condições de fertilidade do solo sobre a FBN em cana-de-açúcar (Boddey et al., 2001; Urquiaga et al., 1992), pouco se conhece sobre o potencial da inoculação das bactérias diazotróficas endofíticas nos diferentes genótipos existentes desta cultura e nos diversos ambientes de cultivo.

As pesquisas vêm buscando entender melhor este processo, utilizando genótipos selecionados pelo alto potencial de FBN (Xavier, 2006). Entretanto, o autor, ressalta que o lançamento de novos genótipos é contínuo e pesquisas paralelas para avaliar os genótipos com maiores chances de se beneficiarem da FBN precisam ser mantidas para garantir que inoculantes e diferentes formas de manejo incrementem este processo biológico, de modo que se tenham maiores chances de sucesso.

No Rio Grande do Sul (RS), onde a maioria do álcool utilizado é importado de outros Estados, estudos sobre o cultivo da cana-de-açúcar vêm sendo incentivados. Conforme a portaria 54 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o RS foi contemplado no zoneamento agrícola da cultura com 1,5 milhão de hectares em 216 municípios aptos ao cultivo. No entanto, nessa região é desconhecido o comportamento de genótipos de cana-de-açúcar em relação a FBN e principalmente a resposta à inoculação de bactérias diazotróficas. Para que a eficiência da FBN seja maximizada nesses novos cultivos de cana-de-açúcar no sul do Brasil é necessária a realização de estudos a fim de quantificar a FBN e avaliar a interação entre genótipos e inoculação de bactérias diazotróficas sobre a produtividade da cultura da cana-de-açúcar em condições subtropicais.

Neste contexto, este trabalho objetivou a avaliar a eficiência de inoculação de bactérias diazotróficas em genótipos de cana-de-açúcar no município de Jaguari, na mesorregião centro-oeste do estado do Rio Grande do Sul.

4.4 Material e Métodos

O experimento foi realizado em condições de campo no período de agosto de 2009 a julho de 2010 na área experimental do Instituto Federal Farroupilha São Vicente do Sul, localizada no Campus Avançado Jaguari no município de Jaguari (RS), com latitude -29°28'1.88" e longitude -54°44'13.28". O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico. No início do experimento, o solo da camada de 0-20 cm apresentava as seguintes características físicas e químicas: 230 g kg⁻¹ de argila; pH em água = 5,3; índice SMP = 6,1; 6,8 mg L⁻¹ de P (Mehlich); 44 mg dm⁻³ de K; 0,2 cmol_c L⁻¹ de Al³⁺; e 1,3% de matéria orgânica (MO).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com parcelas subdivididas e três repetições. Nas parcelas principais foram avaliados 10 genótipos de cana-de-açúcar (RB835054, RB855156, RB925211, RB925345, RB986419, RB867515, RB975038, RB945177, RB947625 e RB987935) e nas subparcelas três formas de manejo: com adubação nitrogenada (120 kg de N ha⁻¹), sem N e com inoculação de bactérias diazotróficas e testemunha (sem N e sem inoculação). Cada unidade experimental foi formada por três linhas de 5 m de comprimento com espaçamento entre linhas de 1,4 m.

A caracterização agrônômica das variedades utilizadas é dada a seguir:

Variedade RB835054: alto potencial produtivo, exigente, que produz bem em ambientes B e C. Possui alto teor de sacarose com teor médio de fibras. O perfilhamento é mediano, tanto em cana-planta quanto em cana soca, e a brotação é boa em ambos os sistemas de colheita. A sua época de colheita compreende o período de maio a novembro. É resistente ao carvão, ferrugem, escaldadura, mosaico e estria vermelha, sendo de resistência intermediária apenas para a falsa estria vermelha. São destaques da variedade, além da alta produtividade agrícola e industrial, o PUI longo, o difícil florescimento e o bom comportamento como cana de ano (HOFFMANN et al., 2008).

RB835156: possui potencial produtivo mediano, com exigência baixa a média, indicada para ambientes B, C e D, tolerando solos fracos. O período de colheita compreende os meses de abril e maio. Apresenta alto teor de sacarose e baixo para fibra. É resistente às principais doenças (carvão, ferrugem, escaldadura, mosaico, estria vermelha e falsa estria vermelha). Destacam-se na variedade a sua alta precocidade e ótima capacidade de brotação de soqueiras (HOFFMANN et al., 2008).

RB925211: é uma variedade rica, com exigência em ambientes média que apresenta potencial produtivo médio/alto, sendo produzida em ambientes B e C. O seu período de colheita fica entre os meses de maio e agosto. É resistente às principais doenças. Destacam-se na variedade o alto teor de sacarose e alta produtividade, excelente sanidade e excelente brotação de soqueira sob colheita mecanizada (HOFFMANN et al., 2008).

RB925345: é uma variedade de alto potencial produtivo, com exigência média/alta para ambientes de produção, sendo indicada para ambientes A, B e C. A época de colheita vai de maio a julho. Possui alto teor de sacarose e alto teor de fibra no início de safra. É resistente a escaldadura, mosaico, estria vermelha e falsa estria vermelha e possui resistência intermediária ao carvão e à ferrugem (HOFFMANN et al., 2008).

RB867515: é uma variedade rústica, com baixa exigência em relação a ambientes, com produtividade agrícola alta, maturação média-tardia, adaptabilidade ampla e boa estabilidade. Produz bem em ambientes B, C e D, ou seja, tolera solos fracos. O período de colheita compreende os meses de julho a setembro. Possui alto teor de sacarose e médio teor de fibra. Tem resistência intermediária à estria vermelha e falsa estria vermelha. Destacam-se a tolerância à seca e boa brotação de soqueira, mesmo colhida crua; alto teor de sacarose, crescimento rápido com alta produtividade (HOFFMANN et al., 2008). Os autores recomendam que esta variedade não deve ser plantada em ambientes favoráveis devido à incidência de estrias vermelhas. Nos ambientes de alto potencial de produção há possibilidades, devido à alta produtividade agrícola, de tombamento e atraso de maturação.

Os demais genótipos utilizados neste experimento são clones que ainda não possuem suas características agronômicas descritas.

O preparo do solo consistiu de uma aração seguida de duas gradagens. Antecedendo as gradagens foi aplicado na superfície do solo 3.000 kg ha⁻¹ de calcário. O plantio foi realizado no dia 30 de agosto de 2009 em sulcos de aproximadamente 30 cm de profundidade e com uma densidade de 18 gemas m⁻¹. A adubação de plantio foi realizada no sulco, utilizando 480 kg ha⁻¹ de fertilizante 0-25-20 como fonte fósforo e potássio e 30 kg ha⁻¹ de FTE BR12 como fonte de micronutrientes. A quantidade de fertilizante utilizada foi determinada com base no resultado da análise de solo e recomendação da Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC (2004). No tratamento com adubação nitrogenada a quantidade de N utilizada no sulco de plantio foi de 30 kg de N ha⁻¹. O restante do N foi dividido em duas doses iguais de 45 kg de N ha⁻¹ e aplicadas em cobertura aos 105 e 140 dias após o plantio. A fonte de N utilizada no plantio e em cobertura foi a uréia.

A inoculação das bactérias diazotróficas nos colmos dos genótipos foi realizada

utilizando um inoculante formulado pela Embrapa Agrobiologia (RJ), composto por cinco estirpes diazotróficas selecionadas por Oliveira et al. (2003), conforme a Tabela 1. A inoculação foi realizada conforme recomendado por Reis et al. (2009), antecedendo o plantio, fazendo-se a imersão dos toletes com três gemas por um período de uma hora em calda de inoculação formada por uma dose de 1250 g de inoculante turfoso diluída em 200 litros de água.

Tabela 1. Espécies de bactérias endofíticas e partes da planta de cana-de-açúcar onde as estirpes foram isoladas.

| Espécie | Estirpe | Parte da Planta | Variedade |
|---|---------|-----------------|----------------------|
| <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> | BR11281 | Raízes | <i>Saccharum</i> sp. |
| <i>Herbaspirillum seropedicae</i> | BR11335 | Raízes | SP70-1143 |
| <i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i> | BR11504 | Colmos | SP70-1284 |
| <i>Azospirillum amazonense</i> | BR11145 | Colmos | CB45-3 |
| <i>Burkholderia tropica.</i> | BR11366 | Perfilhos | SP71-1406 |

Estirpes depositadas na coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia.

Durante o ciclo da cultura foram realizadas treze avaliações de crescimento. Analisou-se o diâmetro de colmos na altura do solo, altura de plantas pela medição da distância do solo até a folha +1 e o número de perfilhos por metro linear.

A colheita da cana-de-açúcar foi realizada nos dias 29 e 30 de julho de 2010, colhendo-se a linha central de cada subparcela. Após o corte, a parte aérea das plantas foi separada em colmos, ponteiros e palha, sendo que cada componente da planta foi pesado separadamente no campo. Após a pesagem foram retiradas subamostras de cada componente, as quais foram pesadas úmidas e levadas à estufa de secagem a 65°C, até atingirem peso constante, para determinação do conteúdo de matéria seca. O material seco foi moído em micro-moinho (modelo MA-630 da marca Marconi), originando tamanho de partículas inferior a 0,5mm. Nas amostras moídas foram determinados os teores de N total por digestão úmida conforme descrito por Tedesco et al. (1995).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise da variância, sendo as médias comparadas entre si pelo teste de Duncan à 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SAS.

4.5 Resultados e Discussão

Para as variáveis de crescimento analisadas, altura de plantas e diâmetro de colmos, a análise de variância não apresentou interação tripla significativa entre os fatores genótipos, tratamentos (condições de manejo) e datas de avaliações. Mas, houve significância para as interações duplas entre genótipos e tratamento, genótipos e datas de avaliações, e tratamento e datas de avaliações.

As curvas de crescimento de plantas para a altura de plantas tendem a apresentar característica sigmoideal, conforme verificado por Alvarez & Castro (1999) e Almeida et al. (2008). As curvas de crescimento de altura do genótipos precoces e médio-tardios mostraram-se semelhantes com uma fase inicial mais lenta, até os 110 dias após o plantio - DAP (Figura 1). As alturas de plantas variaram na última avaliação de crescimento (286 DAP) de 195 a 214 cm para os genótipos precoces, RB855156 e RB925211, respectivamente, e de 193 a 227 cm para os genótipos médio-tardios, RB945177 e RB867515, respectivamente. Ramesh & Mahadevaswamy (2000), citam diferenças na altura de plantas entre genótipos é decorrente do tipo de perfilho, sendo que o perfilho primário é o que apresenta maior crescimento, por não haver competição na fase inicial de desenvolvimento.

O crescimento do diâmetro de colmos foi mais intenso até os 140 DAP, tanto para genótipos de ciclo precoce quanto para os genótipos de ciclo médio-tardio (Figura 2). O genótipo RB986419, ainda apresentou crescimento até a última avaliação onde alcançou o maior diâmetro observado. Na última avaliação (258 DAP), os valores médios variaram de 2,55 a 3,37 cm, para os genótipos RB945177 (ciclo médio-tardio) e RB986419 (ciclo precoce), respectivamente. Santos (2006), ao comparar diferentes fontes de fósforo na variedade RB751206, observou o crescimento do diâmetro médio de colmos até os dez meses após o plantio, sendo que o maior incremento é alcançado até seis meses após o plantio, onde é formado mais de 75% do diâmetro final.

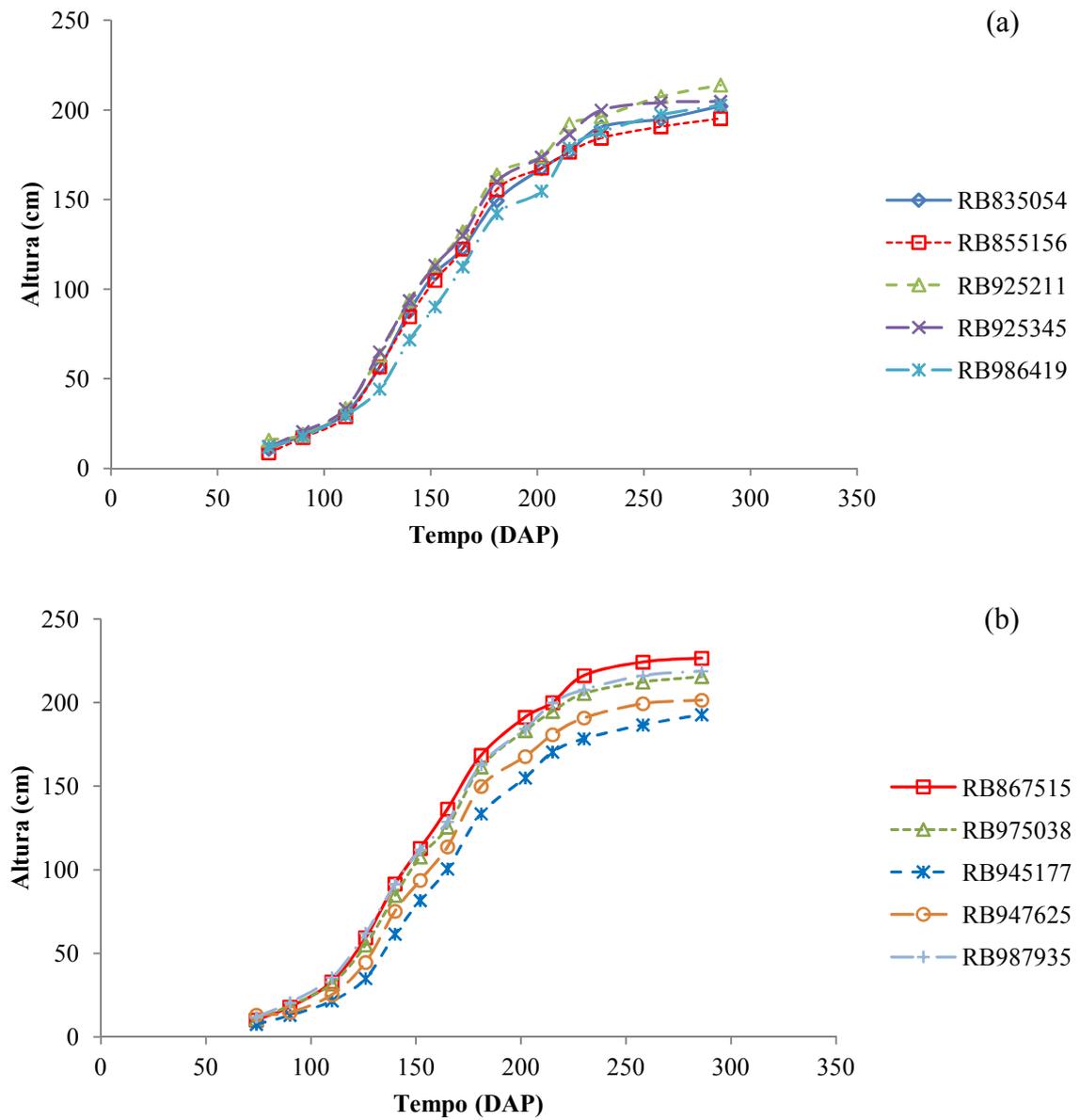


Figura 1. Altura de plantas de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP).

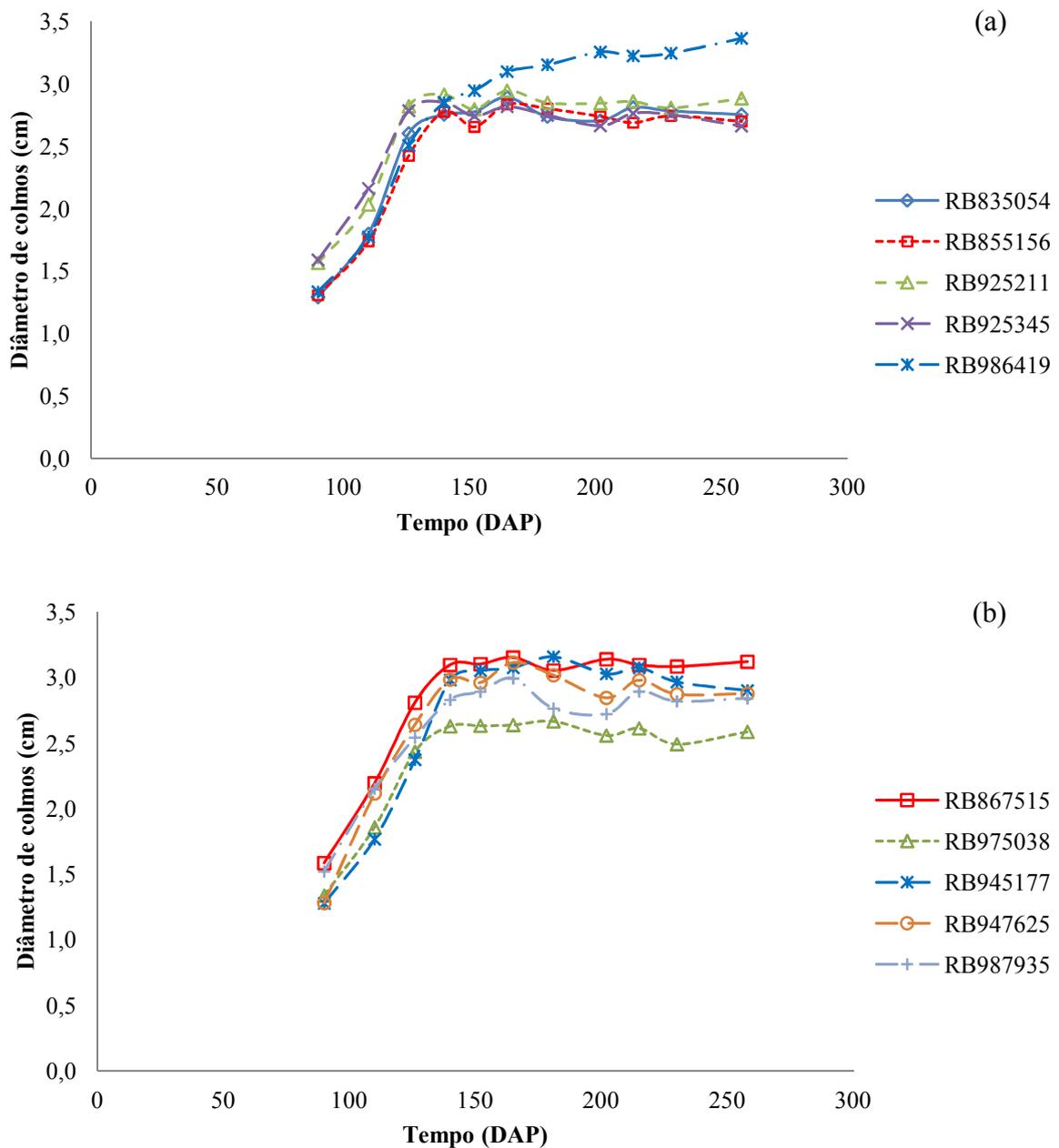


Figura 2. Diâmetro de colmos de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP).

Alvarez & Castro (1999) relataram que o diâmetro do colmo sofre pequena influência do sistema de manejo ao avaliar o crescimento da parte aérea em dois tipos de sistemas de colheita de cana crua e queimada. Os autores também relataram que há uma fase de crescimento acelerado no início do ciclo, semelhante ao observado neste estudo.

O pico do perfilhamento foi observado aos 131 DAP, para todos os genótipos, com exceção do RB835054 que apresentou o seu pico aos 152 DAP (Figuras 3). Resultados que corroboram com os observados por outros autores, que relatam o maior perfilhamento

próximo aos quatro meses após o plantio (Machado et al., 1982; Santos, 2006). Almeida et al. (2008), ao avaliar variedades de cana-de-açúcar, observaram o que o pico do perfilhamento aos 120 DAP com 800GD.

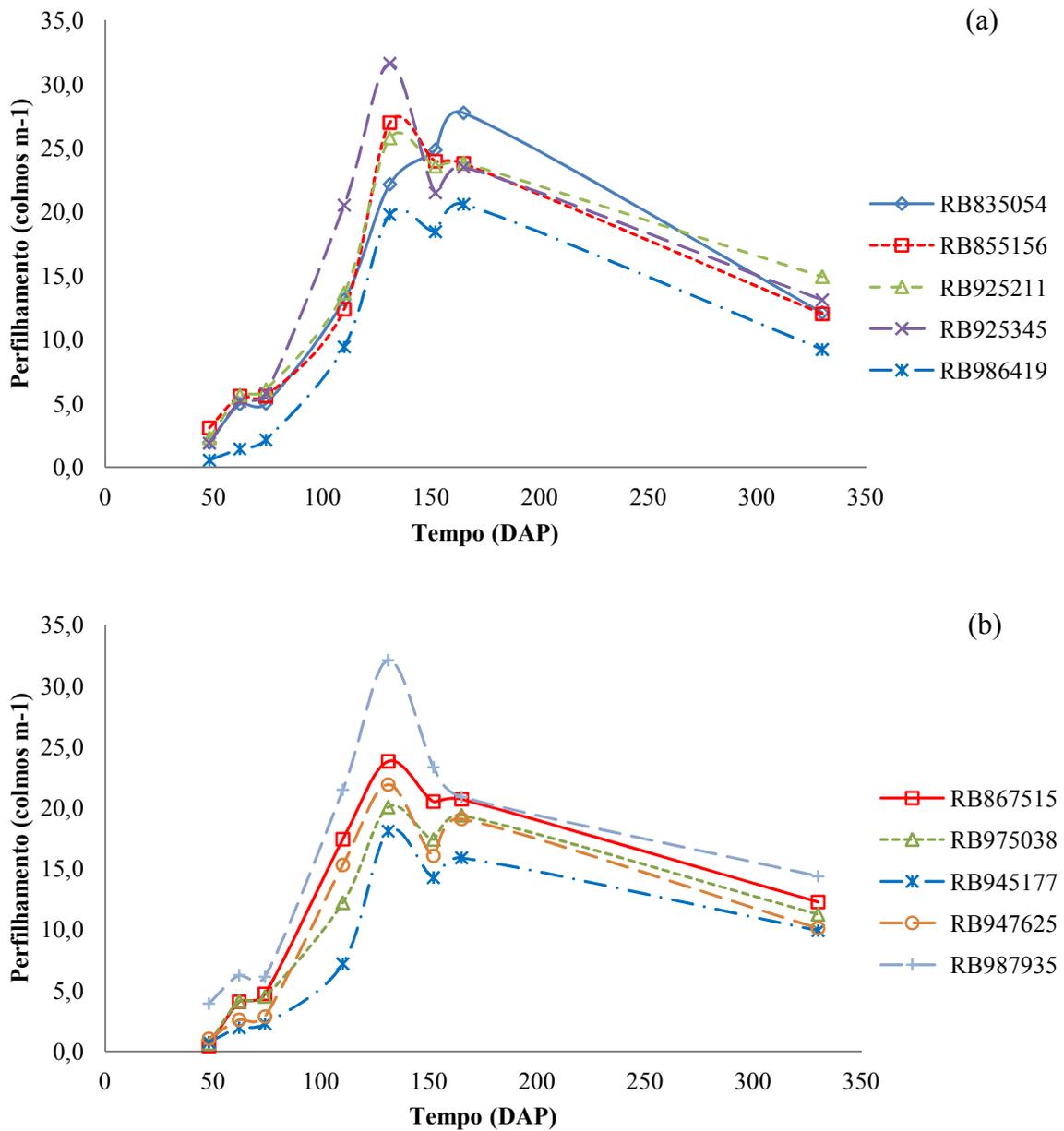


Figura 3. Perfilhamento de colmos de cana-de-açúcar, (a) de genótipos de ciclo precoce, e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP).

Após este período, foi observado o decréscimo na população de perfilhos até o final do ciclo da cultura. Santos (2006) relata que do pico de perfilhamento até a colheita o número de

perfilhos por metro foi reduzido em 66%. Segundo Bezuidenhout (2003), a variação da densidade de perfilhos ocorre de acordo com a intensidade luminosa, sendo que, em condições de maiores intensidades luminosas a cultura tenderia a perfilhar mais. Ao submeter plantas de cana-de-açúcar à baixa luminosidade em casa de vegetação, Christoffoleti (1986) verificou a tendência de redução no perfilhamento, apresentando maior número de perfilhos mortos em relação a plantas manejadas em ambiente com luminosidade maior.

Neste sentido, Machado (1987) relata que a mortalidade de colmos coincide com o período que o índice de área foliar aumenta rapidamente, sugerindo que, além da competição por água e nutrientes ocasionada pelo aumento do número de perfilhos, o auto-sombreamento é um fator importante na determinação deste comportamento. A temperatura também tem sido relatada como determinante para o perfilhamento. Casagrande (1991) indicou que o perfilhamento aumenta até a temperatura de 30°C.

A interação dupla entre os fatores de variação, genótipos e tratamentos, apresentou significância ($P < 0,05$) para as variáveis altura de plantas, diâmetro de colmos, perfilhamento (número de colmos), produtividade de colmos e nitrogênio total acumulado na parte aérea.

De acordo com a Tabela 2, o genótipo precoce RB835054 no tratamento inoculado diferiu significativamente ($P < 0,05$) dos tratamentos nitrogenado e testemunha, apresentando a menor altura de plantas entre os tratamentos estudados. Entre os genótipos de ciclo médio-tardio, o RB975038, no tratamento testemunha, apresentou a menor altura de planta, diferindo significativamente do tratamento com adubação nitrogenada que não diferiu do inoculado. Os demais genótipos estudados não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos utilizados no estudo.

O genótipo RB986419 apresentou a menor altura de plantas em relação aos demais genótipos de ciclo precoce nos três tratamentos estudados (adubado, testemunha e inoculado). Já entre os de ciclo médio-tardio o genótipo RB975038 foi o que apresentou a menor altura de planta nos tratamentos com adubação nitrogenada e com a inoculação. O genótipo RB867515 destacou-se nos tratamentos testemunha e inoculado com as maiores médias de alturas de plantas, o que evidencia o potencial deste genótipo para a utilização em condições de baixa fertilidade.

Tabela 2. Altura média de plantas durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado).

| Genótipo | Tratamento | | | CV (%) |
|---------------------------|------------|------------|-------------|--------|
| | Adubado | Testemunha | Inoculado | |
| Ciclo Precoce | | | | |
| RB835054 | 121,6 A ab | 119,8 A ab | 110,4 B c | 6,6 |
| RB855156 | 113,7 A bc | 113,4 A b | 117,4 A b | 6,2 |
| RB925211 | 125,6 A a | 122,7 A ab | 125 A a | 7,4 |
| RB925345 | 120,7 A ab | 126,6 A a | 121 A ab | 7,9 |
| RB986419 | 107,6 A c | 115,6 A b | 109,3 A c | 7,4 |
| CV (%) | 6,7 | 8,4 | 5,3 | |
| Ciclo Médio-tardio | | | | |
| RB867515 | 126,1 A ab | 131,8 A a | 131,6 A a | 7 |
| RB975038 | 129,4 A a | 117,8 B b | 123,7 AB ab | 8 |
| RB945177 | 100 A c | 103,9 A c | 104,8 A c | 5,2 |
| RB947625 | 112,2 A bc | 109,7 A bc | 117,3 A b | 6,6 |
| RB987935 | 127,8 A a | 130,7 A a | 122,7 A ab | 6,5 |
| CV (%) | 9,1 | 5,4 | 5,5 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%.

Os tratamentos testados não exerceram nenhuma influência estatisticamente significativa ($P > 0,05$) sobre as médias do diâmetro de colmos, em todos os genótipos estudados (ciclo precoce e médio-tardio), exceto para o RB975038 que apresentou, no tratamento testemunha, o menor diâmetro de colmo (2,3 cm), diferindo dos tratamentos nitrogenado e inoculado (Tabela 3).

Entre as variáveis estudadas em análise de crescimento, Landell & Silva (1995) relatam que o diâmetro de colmos é a que apresenta a menor variação, e que depende das características da variedade, do número de perfilhos, do espaçamento utilizado, da área foliar e das condições ambientais (avaliação das características agrotécnicas). De acordo com Cesnik & Miocque (2004), o tamanho médio do diâmetro de colmo em cana-de-açúcar é de 2,5 cm, valor similar ao encontrado neste estudo.

Ao avaliar o efeito de doses de adubação nitrogenada de até 200 kg ha⁻¹ de N sobre o desenvolvimento de soqueiras, Prado e Pancelli (2008) não verificaram efeitos significativos dos tratamentos sobre o diâmetro, número, altura e produtividade de colmos na primeira soqueira da cultura. A ausência de resposta é justificada pelos autores, possivelmente, à maior precipitação pluvial que pode ter elevado as perdas de N no sistema solo-planta e à resposta

da soqueira ao N. Fato que também pode justificar os resultados observados neste estudo, visto que o período de agosto a dezembro apresentou elevadas precipitações. Na Figura 4, pode-se observar que após a segunda adubação de cobertura, realizada em janeiro, ocorreram precipitações elevadas chegando a 80 mm no dia subsequente a aplicação.

Tabela 3. Diâmetro da base de colmos durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado).

| Genótipo | Tratamento | | | CV (%) |
|------------------------------|------------|------------|-----------|--------|
| | Adubado | Testemunha | Inoculado | |
| Genótipos Ciclo Precoce | | | | |
| RB835054 | 2,5 A b | 2,6 A bc | 2,5 A b | 4,29 |
| RB855156 | 2,5 A b | 2,5 A c | 2,5 A b | 6,85 |
| RB925211 | 2,6 A b | 2,8 A a | 2,6 A b | 9,01 |
| RB925345 | 2,5 A b | 2,7 A ab | 2,5 A b | 6,31 |
| RB986419 | 2,8 A a | 2,8 A a | 2,7 A a | 5,64 |
| CV (%) | 6,29 | 7,16 | 6,41 | |
| Genótipos Ciclo Médio-tardio | | | | |
| RB867515 | 2,8 A a | 2,9 A a | 2,8 A a | 3,3 |
| RB975038 | 2,5 A c | 2,3 B c | 2,4 A c | 5,3 |
| RB945177 | 2,7 A b | 2,7 A b | 2,7 A a | 4,2 |
| RB947625 | 2,6 A b | 2,7 A b | 2,7 A a | 9,3 |
| RB987935 | 2,7 A b | 2,7 A b | 2,6 A b | 3,9 |
| CV (%) | 4,6 | 7,2 | 3,8 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%.

Para variável perfilhamento (colmos por metro linear), o genótipo RB835054 apresentou resposta significativa para o tratamento com adubação nitrogenada, diferindo estatisticamente dos demais ($P < 0,05$). O genótipo RB925345 apresentou o mesmo comportamento atingindo a maior média de número de colmos por metro no tratamento nitrogenado (17,2 colmos m⁻¹), diferindo dos demais genótipos precoces (Tabela 4). Entre os genótipos de ciclo médio-tardio, o RB975038 e o RB987935 apresentaram perfilhamento estatisticamente superior para o tratamento nitrogenado, não diferindo do tratamento inoculado e este não diferindo da testemunha. O genótipo RB945177 respondeu à inoculação de bactérias diazotróficas para esta variável, sendo significativamente superior aos demais tratamentos, onde as médias do período de avaliação chegaram a 9,8, 8,5 e 8 perfilhos por

metro, para os tratamentos inoculado, nitrogenado e testemunha, respectivamente. Para o genótipo RB947625 os tratamentos nitrogenado e inoculado, mostraram-se superiores o testemunha, não diferindo entre si, quanto ao número médio de perfilhos por metro linear.

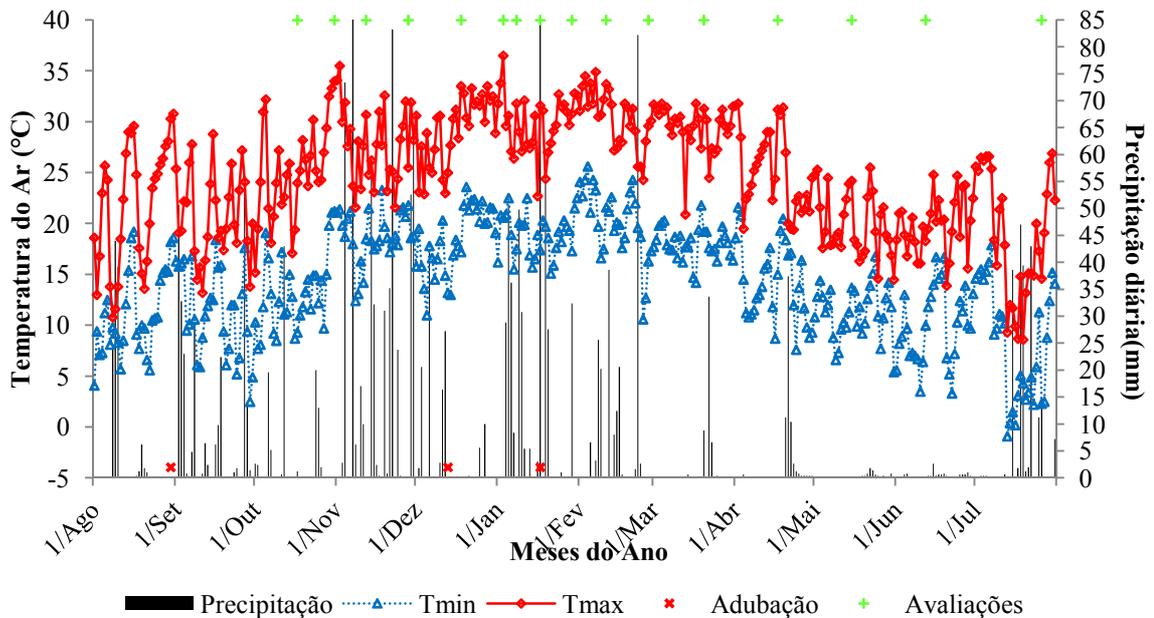


Figura 4. Valores diários de precipitação (mm), temperatura mínima e temperatura máxima na estação meteorológica automática de Santiago-RS. Fonte: INMET.

Os maiores perfilamentos foram observados nos genótipos RB925345, entre os precoces, e RB987935, entre os de ciclo médio-tardio, sob adubação nitrogenada, diferindo estatisticamente dos demais genótipos. Simões et al. (2005), ao estudar modelos de regressão para estimar a produção de biomassa total e produtividade de cana-de-açúcar, relatou o reflexo do aumento do número de colmos sobre a produtividade.

Dentre todas as variáveis analisadas, o perfilamento foi a única que apresentou significância para a interação entre os fatores tratamento e datas de avaliações. Ao analisar as curvas de perfilamento por tratamento, observou-se o tratamento inoculado teve pico menos acentuado entre os genótipos precoces e comportamento semelhante ao tratamento com adubação entre os genótipos de ciclo médio-tardio (Figura 5). Após o pico de perfilamento, com redução do número de colmos por metro, a tendência é de que os tratamentos apresentem médias mais próximas no final do ciclo da cultura.

Tabela 4. Perfilamento médio de colmos de cana-de-açúcar durante o período de avaliação, para genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado).

| Genótipo | Tratamento | | | CV (%) |
|--------------------|------------|------------|------------|--------|
| | Adubado | Testemunha | Inoculado | |
| Ciclo Precoce | | | | |
| RB835054 | 15,2 A b | 13,1 B b | 13,7 B b | 10,6 |
| RB855156 | 14,9 A b | 13,6 A ab | 14,1 A b | 9,6 |
| RB925211 | 14,8 A b | 14,1 A ab | 14,6 A b | 10,7 |
| RB925345 | 17,2 A a | 14,7 B a | 14,2 B a | 7,9 |
| RB986419 | 10,1 A c | 11 A c | 9,5 A b | 15,2 |
| CV (%) | 11,6 | 9,2 | 10,9 | |
| Ciclo Médio-tardio | | | | |
| RB867515 | 13,1 A b | 12,9 A b | 12,9 A b | 12,4 |
| RB975038 | 12,1 A b | 10,6 B c | 10,9 AB cd | 11,1 |
| RB945177 | 8,5 B c | 8 B e | 9,8 A d | 12,6 |
| RB947625 | 12,5 A b | 9,4 B d | 11,5 A c | 11,4 |
| RB987935 | 17 A a | 15,1 B a | 16,2 AB a | 10,7 |
| CV (%) | 12,6 | 7,0 | 11,2 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%.

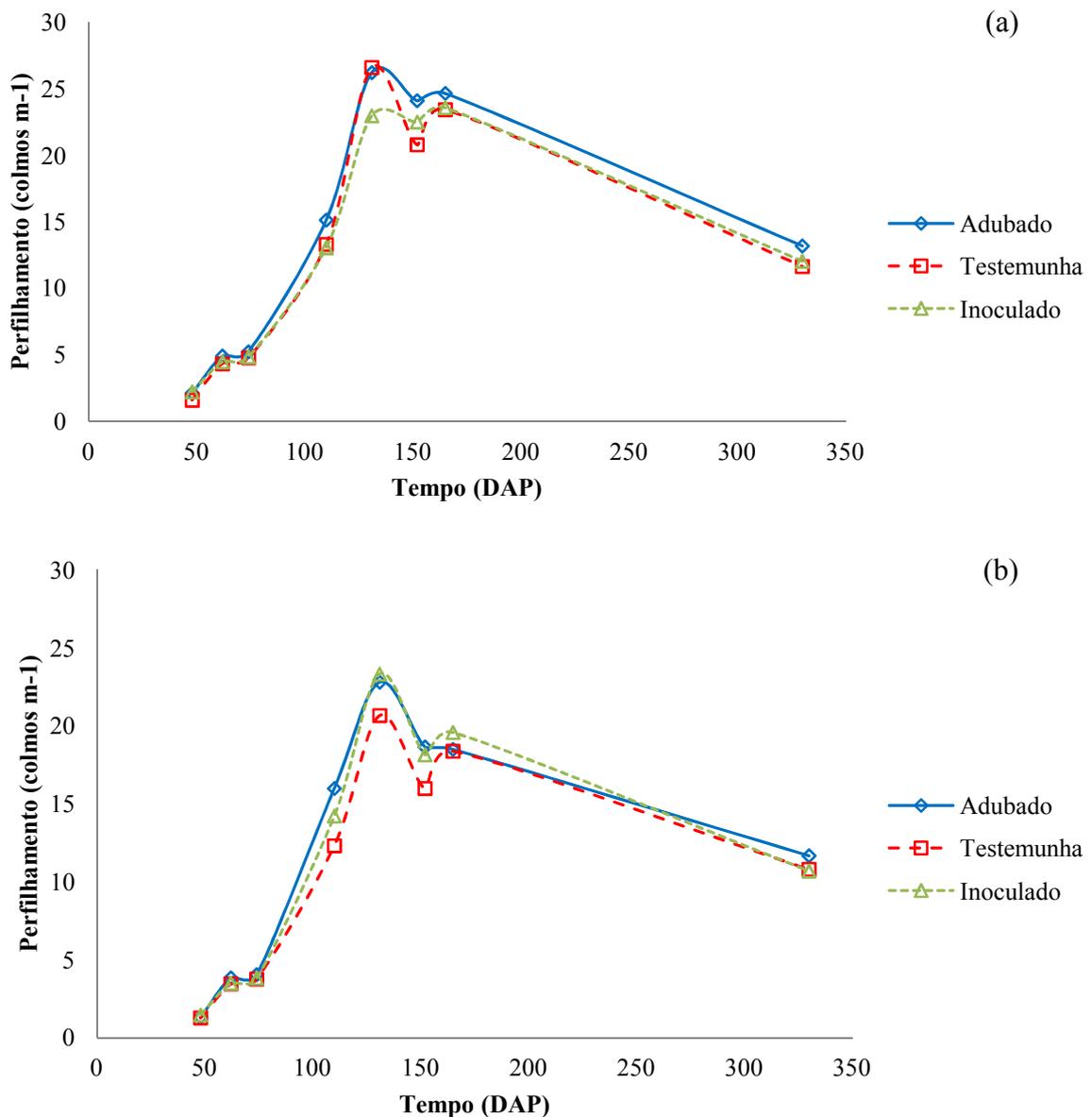


Figura 5. Médias de perfilhamento de colmos de cana-de-açúcar (colmos m⁻¹), (a) de genótipos de ciclo precoce e (b) de genótipos de ciclo médio-tardio, em submetidos a três tratamentos, adubação com 120 kg ha⁻¹ de N, testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas, durante o período de avaliação em dias após o plantio (DAP).

Analisando a produtividade de colmos (Tabela 5), verificou-se efeito significativo ($P < 0,05$) da adubação nitrogenada para os genótipos RB835054 (precoce), RB867515 e RB987935 (médio-tardio), sendo que o comportamento observado para primeiro está em consonância com o observado no perfilhamento e altura de plantas, assim como para o terceiro a mesma tendência foi observada no perfilhamento do genótipo. A adubação de 120

kg ha⁻¹ de N resultou, para estes, em um incremento de 9, 20, e 22,0 Mg ha⁻¹ de colmos, ou seja, 12,5, 23 e 23% a mais que suas testemunhas, respectivamente.

Tabela 5. Produtividade de colmos de cana-de-açúcar (Mg ha⁻¹) dos genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha⁻¹ de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado).

| Genótipo | Tratamento | | | CV (%) |
|--------------------|------------|------------|-----------|--------|
| | Adubado | Testemunha | Inoculado | |
| Ciclo Precoce | | | | |
| RB835054 | 81 A a | 72 B a | 73 AB b | 14,6 |
| RB855156 | 81 A a | 72 B a | 85 A ab | 4,8 |
| RB925211 | 85 A a | 87 A a | 105 A a | 19,8 |
| RB925345 | 93 A a | 79 A a | 80 A b | 10,4 |
| RB986419 | 76 A a | 81 A a | 67 A b | 12,6 |
| CV (%) | 11,7 | 11,3 | 12,9 | |
| Ciclo Médio-tardio | | | | |
| RB867515 | 110 A ab | 90 B a | 91 B a | 8,6 |
| RB975038 | 82 A c | 66 A b | 73 A a | 16,4 |
| RB945177 | 57 B d | 60 B b | 73 A a | 11,1 |
| RB947625 | 89 A bc | 59 B b | 80 A a | 20,4 |
| RB987935 | 118 A a | 96 B a | 98 B a | 8,2 |
| CV (%) | 13,6 | 16,1 | 15,5 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%.

O acúmulo de nitrogênio total na parte aérea da planta (Tabela 6) dos genótipos RB987935 e RB867515, sob adubação, aumentou em 44 e 34 kg ha⁻¹ ou 31 e 25%, respectivamente, em relação à testemunha. Para o genótipo RB835054, o comportamento da produtividade não foi observado no acúmulo de nitrogênio total, sendo o tratamento inoculado alcançou 199 kg ha⁻¹ de N.

Contrariamente a estes resultados, Silva et al. (2009) ao estudarem o efeito de inoculante formulado com polímeros com a mistura de cinco bactérias, em duas variedades de cana-de-açúcar, utilizando toletes tratados termicamente antes da inoculação, observaram um incremento de 30 Mg ha⁻¹ na produtividade de colmos da variedade RB867515, em relação ao tratamento controle absoluto. Comportamento que não se repetiu sobre o acúmulo de nitrogênio total, não apresentando diferença entre os tratamentos com valores médios entre 215 e 285 kg ha⁻¹ de N.

Tabela 6. Nitrogênio total acumulado (kg ha^{-1}) dos genótipos de ciclo precoce e médio-tardio, sob três tratamentos (adubação com 120 kg ha^{-1} de N; testemunha e com inoculação de bactérias diazotróficas sem adição de fertilizante nitrogenado).

| Genótipo | Tratamento | | | CV (%) |
|--------------------|------------|------------|-----------|--------|
| | Adubado | Testemunha | Inoculado | |
| Ciclo Precoce | | | | |
| RB835054 | 154 A a | 150 A a | 174 A a | 8,6 |
| RB855156 | 146 A ab | 136 A a | 147 A bc | 10,3 |
| RB925211 | 134 AB b | 123 B a | 162 A ab | 10,4 |
| RB925345 | 159 A a | 137 A a | 133 A cd | 10,0 |
| RB986419 | 132 A b | 129 A a | 123 A d | 11,7 |
| CV (%) | 6,9 | 11,5 | 7,6 | |
| Ciclo Médio-tardio | | | | |
| RB867515 | 170 A a | 136 B a | 138 B a | 10,4 |
| RB975038 | 137 A b | 97 B b | 119 AB ab | 10,8 |
| RB945177 | 91 A c | 96 A b | 109 A b | 13,5 |
| RB947625 | 135 A b | 105 B b | 118 AB ab | 11,6 |
| RB987935 | 188 A a | 144 B a | 140 B a | 12,4 |
| CV (%) | 10,7 | 10,8 | 12,6 | |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%.

No tratamento que recebeu inoculação de bactérias diazotróficas, destacaram-se os genótipos RB855156, RB945177 e RB947625. O primeiro deles atingiu uma produtividade de colmos média de 85 Mg ha^{-1} , não diferindo do tratamento nitrogenado, com 81 Mg ha^{-1} , que foram significativamente superiores ao tratamento testemunha, com 72 Mg ha^{-1} , resultando em incrementos de cerca de 18 e 12,5% respectivamente. Embora o aumento da produtividade tenha sido expressivo, o incremento na quantidade de nitrogênio total acumulado na parte aérea não apresentou diferença estatística.

A mesma resposta aos tratamentos testados foi observada na produtividade do genótipo RB947625, se correlacionando com a resposta observada no perfilhamento. As produtividades de 89 e 80 Mg ha^{-1} , nos tratamentos nitrogenado, inoculado, respectivamente, corresponderam ao incremento de 50,8 e 35,6% em relação ao tratamento testemunha (59 Mg ha^{-1}). Comportamento que refletiu no acúmulo de nitrogênio total na parte aérea da planta, sendo que o tratamento nitrogenado com 135 kg ha^{-1} de N foi significativamente superior a testemunha, com 105 kg ha^{-1} , que não diferiu do inoculado, com 118 kg ha^{-1} .

O genótipo RB945177 foi o que apresentou o segundo maior incremento na produtividade de colmos sob a inoculação de bactérias diazotróficas, alcançando 73 Mg ha^{-1} ,

ou 22% a mais que as 60 Mg ha⁻¹ produzidos pela testemunha, que não diferiu do tratamento nitrogenado. Diferença que não foi evidenciada sobre o acúmulo de nitrogênio total, onde o valor de 109 kg ha⁻¹ de N não diferiu dos demais.

Embora não tenha sido verificado efeito sobre a produtividade de colmos do genótipo RB925211, a inoculação resultou em maior acúmulo de nitrogênio total na parte aérea da planta, chegando a 162 kg ha⁻¹ de N, ou seja, cerca de 32% de incremento em relação ao tratamento testemunha (123 kg ha⁻¹ de N).

Da mesma maneira, o genótipo RB975038, que não expressou diferença significativa na produtividade de colmos, alcançou 137 kg ha⁻¹ de N, quando adubado, sendo significativamente superior ao tratamento testemunha (97 kg ha⁻¹ de N), sem diferir do tratamento inoculado (119 kg ha⁻¹ de N). O genótipo RB867515 acumulou 170 kg ha⁻¹ de N quando recebeu adubação nitrogenada, diferindo dos demais tratamentos.

Vários experimentos já demonstraram, em diversas regiões do Brasil, que a resposta da cana-planta à adubação nitrogenada é pouco freqüente, assim como a eficiência de recuperação do N-fertilizante é baixa. Azeredo et al. (1986) observaram incremento na produtividade de colmos em apenas 20% dos 135 experimentos de adubação analisados. Cantarella e Raij (1985), relataram uma resposta um pouco mais freqüente, chegando próximo a 40% dos 81 ensaios de adubação realizados no estado de São Paulo. Neste contexto, o percentual de recuperação do fertilizante observados são considerados baixos, chegando a 10% (Sampaio et al., 1984), 7 a 16% (Trivelin et al., 2002), 13 a 22% (Gava et al., 2003) e 24 a 28% (Vitti, 2003). Entretanto, variedades brasileiras não responsivas à aplicação de nitrogênio, respondem à adubação com molibdênio, o que é uma característica de culturas que se beneficiam da FBN, pois o Mo é essencial para a síntese e atividade da enzima nitrogenase (Polidoro, 2001). O autor verificou que a variedade RB72454 respondeu tanto à adição de molibdênio quanto a adição nitrogênio, onde a adubação de 100 g ha⁻¹ de Mo apresentou o mesmo aumento de produção de colmos que a aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N.

Utilizando técnicas de abundância natural de delta ¹⁵N e de diluição isotópica de ¹⁵N, alguns estudos mostram que a contribuição de FBN associada às plantas de cana-de-açúcar cultivadas no campo e sem inoculação varia de zero a 60% (Polidoro, 2001; Urquiaga et al., 1992), dependendo do genótipo da planta e da sua interação com os diversos gêneros de bactérias associativas (Reis et al., 2000). Estes resultados indicam que a contribuição da FBN na cana-de-açúcar está associada à variedade, assim como a outros fatores como tipo de manejo, tipo de solo e às condições climáticas (Urquiaga et al., 2005).

As contribuições significativas da fixação biológica de nitrogênio no acúmulo deste nutriente na parte aérea de genótipos de cana-de-açúcar, na ausência de adubação nitrogenada e inoculação de bactérias diazotróficas (Urquiaga et al., 1992; Coelho et al., 2003; Urquiaga et al., 2003) evidencia que, no presente estudo, a população de bactérias trazidas pelo tolete podem ter disponibilizado nitrogênio via FBN que justifique a falta de resposta destes genótipos à adubação nitrogenada, visto que dos 10 genótipos testados cinco não apresentaram resposta à adubação nitrogenada. Da mesma maneira esta população de diazotróficas naturalmente presente neste materiais vegetais (Perin et al., 2004; Muthukumarasamy et al., 1999) pode ser a causa da falta de resposta de genótipos de cana-de-açúcar a inoculação de estirpes selecionadas, conforme verificado na maior parte dos genótipos testados neste estudo. Por isso, tem sido realizados ensaios de inoculação utilizando plântulas micropropagadas, livre da população de endofíticas nativas (Reis et. al., 1999; Oliveira et al., 2002, 2003, 2009).

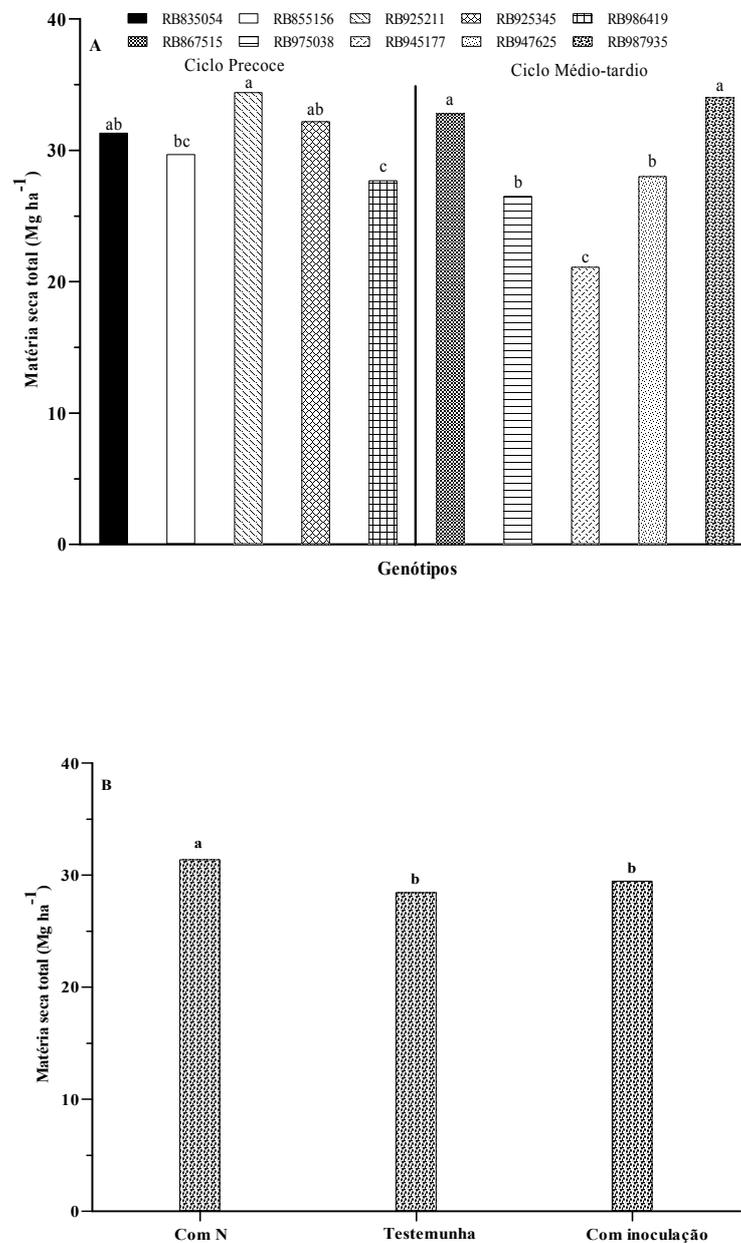


Figura 6. Massa seca total de cana-de-açúcar (Mg ha⁻¹): a) genótipos de ciclo precoce e médio-tardio; b) médias dos três tratamentos (adubação com 120 kg ha⁻¹ de N; testemunha; com inoculação de bactérias diazotróficas).

Para a variável massa seca total, os fatores de variação, tratamentos e genótipos, mostraram-se significativos ($P < 0,05$), no entanto não apresentaram interação entre si, indicando que a resposta aos tratamentos é pouco dependente do genótipo. O tratamento inoculado acumulou 31,3 Mg ha⁻¹ de massa seca, diferindo dos tratamentos testemunha e

inoculado com 29,5 e 28,4 Mg ha⁻¹, respectivamente. As médias de massa seca acumulada variaram de 27,7, para o RB986419, a 34,4 Mg ha⁻¹, para o RB925211, entre os genótipos de ciclo precoce e de 21,1 a 34 Mg ha⁻¹ para os de ciclo médio-tardio, RB945177 e RB987935, respectivamente, de acordo com a Figura 6.

4.6 Conclusão

1. A resposta da cana planta à inoculação de bactérias diazotróficas é dependente do genótipo.
2. Os genótipos RB835156, RB945177 e RB947625 apresentam resposta à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas, resultando em produtividade de colmo superior ao obtido na testemunha.
3. Dos 10 genótipos avaliados, quatro não apresentam resposta a inoculação e nem a adubação nitrogenada, indicando potencial produtivo para ambientes de baixa fertilidade.

4.7 Referências

- ALVAREZ, I. A.; CASTRO, P. R. C. Crescimento da parte aérea da cana crua e queimada. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1069-1079, 1999.
- ALMEIDA, A.C. DOS S.; SOUZA, J.L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G.V.S.; MOURA FILHO, G.; FERREIRA JÚNIOR, R.A. Desenvolvimento vegetativo e produção de variedades de cana-de-açúcar em relação à disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1441-1448, 2008.
- AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA J.R. Nitrogênio em cana-planta - doses e fracionamento. **STAB**, Piracicaba, v.6, n.5, p.26-33, 1986.
- BEZUIDENHOUT, C. N.; O'LEARY, G. J.; SINGELS, A.; BAJIC, V. B. A process based model to simulate changes in tiller density and light interception of sugarcane crops. **Agricultural Systems**. v.76, n.2, p.589-599, 2003.

BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B. J. R. & URQUIAGA, S. Use of ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N_2 fixation to sugar cane and others grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 28, p. 889-895, 2001.

CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van. Adubação nitrogenada no estado de São Paulo. In: SANTA, M.B.M. (Ed.). **Adubação nitrogenada no Brasil**. Ilhéus: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1985. p. 47-49.

CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 157p, 1991.

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da Cana-de-açúcar**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004, 307 p.

CHRISTOFFOLETI, P. J. **Aspectos fisiológicos da brotação, perfilhamento e florescimento da cana-de-açúcar**. Piracicaba, ESALQ, 1986. 80p.

COELHO, C.H.M.; MEDEIROS, A.F.A.; POLIDORO, J.C.; XAVIER, R.P.; RESENDE, A.; QUESADA, D.M.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.; URQUIAGA, S. Identificação de genótipos de cana-de-açúcar quanto ao potencial de contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Agronomia**, vol. 37, nº 2, p. 37 - 40, 2003.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre, RS: Sociedade Brasileira Ciência do Solo/ Núcleo Regional Sul; Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC, 2004, 400p.

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; OTTO, R. Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p.2763-2770, 2008.

FRANCO, H.C.J., TRIVELIN, P.C.O., FARONI, C.E., VITTI, A.C., OTTO, R. Stalk yield and technological attributes of planted cane as related to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, v.67, p.579–590, 2010.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W. Recuperação do nitrogênio (15N) da uréia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.4, p.621-630, 2003.

GOMES, A.A.; REIS, V.M.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R. Relação entre distribuição de nitrogênio e colonização por bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, p.1105-1113, nov. 2005.

HOFFMANN, H.P.; SANTOS, E.G.D.; BASSINELLO, A.I.; VIEIRA, M.A.S. **Variedades RB de Cana-de-açúcar**. Araras: CCA/UFSCar, 2008. 30 p.

LANDELL, M.G.A.; SILVA, M.A. **Manual do experimentador: melhoramento da cana de açúcar**. In: **Metodologia de Experimentação: ensaios de competição em cana-de-açúcar**. Pindorama: Instituto Agrônômico, 1995. Não paginado.

MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R.; FAHL, J.I.; ARRUDA, J.V.; CIONE, J. Índices biométricos de duas cultivares de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, p.1323-1329, 1982.

MACHADO, E.C. Fisiologia de produção de cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S.B. (Coord.) **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas, Fundação Cargill, v.1, cap.1, p.56-87, 1987.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G; LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of N fertilisation on the isolation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum spp.* From Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility of Soils**, v.29, p.157–164, 1999.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI J.I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, p.205–215, 2002.

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

OLIVEIRA, A.L.M.; STOFFELS, M.; SCHMIDC, 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.4 5, p.106-113, 2009.

PERIN, L.; BALDANI, J.I.; REIS, V.M.; Diversidade de *Gluconacetobacter diazotrophicus* isolada de plantas de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.763-770, 2004.

POLIDORO, J.C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na fixação biológica de nitrogênio atmosférico associada à cultura de cana-de-açúcar**. 2001. 185p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

PRADO, R. de M.; PANCELLI, M.A. Resposta de soqueiras de cana-de-açúcar à aplicação de nitrogênio em sistema de colheita sem queima. **Bragantia**, v.67, p.951-959, 2008.

RAMESH, P.; MAHADEVASWAMY. M. Effect of formative phase drought on different classes os shoots, shoot mortality, cane attributes, yield and quanlity of four sugarcane cultivars. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.185, p.249- 258, 2000.

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

REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews Plant Science**, v.19, p.227-247, 2000.

REIS, V.M.; PEREIRA, W.; HIPÓLITO, G. de S.; **Métodos de aplicação bactérias diazotróficas em cana-planta para fins de determinação de eficiência agronômica**. Comunicado Técnico 118 - Embrapa Agrobiologia, p.4, 2009.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; BATTANY, J. Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar. I. Eficiência na utilização de uréia (¹⁵N) em aplicação única ou parcelada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, p.943– 949, 1984.

SANTOS, V.R. dos. **Crescimento e produção de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo**. 2006. 104p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2006.

SILVA, M.F. DA; OLIVEIRA, P.J. DE; 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.

SIMÕES, M.S.; ROCHA, J.V.; LAMPARELLI, R.A.C. Indicadores de crescimento e produtividade da cana-de-açúcar. **Scientia agricola**, Piracicaba, v.62, p.23-30, 2005.

TEDESCO, M.J.; WOLKEISS, S.J.; BOHNEN, H.; GIANELLO, C.E; BISSANI, C.A. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia. UFRGS. Porto Alegre, RS. (Boletim técnico, nº 5) 2ª ed. 215 p. 1995.

TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W.; GAVA, G.J.C.; SARRIÉS G.A. Utilização de nitrogênio e produtividade da cana-de-açúcar (cana-planta) em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.636-646, 2002.

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 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. 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. et al. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade dos sistemas agrícolas na América Latina. In: AQUINO, A.M.de; ASSIS, R.L.de. (Org.). **Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 181-200.

VITTI, A.C. **Adubação nitrogenada da cana-de-açúcar (soqueira) colhida mecanicamente sem a queima prévia: Manejo e efeito na produtividade**. 2003. 114p.

Tese de Doutorado - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

XAVIER, R.P. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produção sustentável da cultura de cana-de-açúcar. 2006. 75p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao analisar os dois locais de realização dos experimentos confirmou-se que o efeito do inoculante foi evidenciado em maior intensidade no ambiente com solo de menor fertilidade, Neossolo quartzarenico, embora apresentando menor potencial produtivo neste ambiente.

A avaliação de genótipos confirmou a variação de respostas a inoculação e a adubação nitrogenada, indicando a necessidade de seleção dos genótipos com maior potencial produtivo sob condições de baixas doses de adubação nitrogenada e responsivos a inoculação de bactérias diazotróficas, com potencial para fixação biológica de nitrogênio, otimizando a eficiência de produção.

As avaliações de crescimento permitiram identificar que, dentre as variáveis analisadas, o perfilhamento é a mais responsiva a inoculação de bactérias diazotróficas com influência direta na produtividade de colmos, visto que este é um importante componente de rendimento da cultura.

Porém, ainda existe a necessidade de se fazer estas avaliações em sucessivos anos de cultivo, tanto em ciclo de cana-planta quanto de cana-soca, confirmando as respostas verificadas neste trabalho, assim como agregando avaliações de quantificação da contribuição da FBN, tanto sob inoculação quanto sem inoculação. Permitindo, então, a seleção de genótipos com maior potencial produtivo para a região, em condições de baixa fertilização nitrogenada e que possibilitem incremento de produtividade quando inoculadas com bactérias diazotróficas.

6. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2002. p.536.

AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA J.R. Nitrogênio em cana-planta - doses e fracionamento. **STAB**, Piracicaba, v.6, n.5, p.26-33, 1986.

ARENCIBIA, A.D.; ESTEVEZ Y.; VINAGRE, E.; BERNAL, A.; PEREZ, J.; CARMONA, E.; HEMERLY, A.S.; SANTANA, I. Induced-resistance in sugarcane against pathogenic bacteria *Xanthomonas albilineans* mediated by an endophytic interaction. **Sugar Tech**, v. 8, n. 4, p. 272-280, 2006.

BITTENCOURT, V.C.; FAGANELLO, B.F.;SALATA, J.C. Eficiência da adubação nitrogenada em cana-de-açúcar (planta). **STAB – Açúcar, Alcool e Subprodutos**, v. 5, p. 26-33, 1986.

BARBIERI, P.; ZANELLI, T.; GALLI, E.; ZANETTI, G. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiology Letters**, v. 36, p. 87-90, 1986.

BASTIAN F.; COHEN A.; PICCOLI P.; LUNA V.; BARALDI R.; BOTTINI R. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A₁ and A₃ by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regulation**, v. 24, n. 1, p. 7-11, 1998.

BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. Use of ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and others grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.28, p.889-895, 2001.

BRUNINI, O. Ambientes climáticos e exploração agrícola da cana-de-açúcar. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G. de A. **Cana-de-Açúcar**, Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. 882 p.

CANUTO, E. de 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, p. 67-72, 2003.

COELHO, C.H.M.; MEDEIROS, A.F.A.; POLIDORO, J.C.; XAVIER, R.P.; RESENDE, A.; QUESADA, D.M.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.; URQUIAGA, S. Identificação de genótipos de cana-de-açúcar quanto ao potencial de contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Agronomia**, vol. 37, nº 2, p. 37 - 40, 2003.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CIÉMENT C.; BARKA E.A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action and future prospects. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 4951-4959, 2005.

DIAS, F.L.F.; MAZZA, J. A.; MATSUOKA, S.; PERECIN, D.; MAULE, R.F. produtividade da cana-de-açúcar em relação a clima e solos da região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p. 627-634, 1999.

DOBBELAERE S.; VANDERLEYDEN J.; OKON Y. Plant growthpromoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 2, p. 107–149, 2003.

FUENTES-RAMÍREZ L.E.; JIMÉNEZ-SALGADO T.; ABARCA-OCAMPO I.R.; CABALLERO-MELLADO J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. **Plant and Soil**, v. 154, p. 145–150, 1993.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OLIVEIRA, M.W. Recuperação do nitrogênio (¹⁵N) da uréia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.4, p.621-630, 2003.

GAVA, G.J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C. & OLIVEIRA, M.W. Urea and sugarcane straw nitrogen balance in a soil-sugarcane crop system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 689-695, 2005.

GOVINDARAJAN M.; KWON S-W.; WEON H-Y. Isolation, molecular characterization and growth-promoting activities of endophytic sugarcane diazotroph *Klebsiella* sp. **World Journal Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 997–1006, 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA**. Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: jul. 2011.

JANZEN, R.; ROOD, S.; DORMAR, J.; MCGILL, W. *Azospirillum brasilense* produces gibberellins in pure culture and chemically medium and in co-culture on straw. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 24, p. 1061–1064, 1992.

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. de A. **Cana-de-Açúcar**, Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. 882 p.

LOPER, J.E.; HENKELS M.D. 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p. 5357–5363, 1999.

NG KEE KWONG, K.F.; DEVILLE, J.; CAVALOT, P.C.; RIVIERE, V. Value of cane trash in nitrogen nutrition of sugarcane. **Plant and Soil**, v. 102, p. 79-83, 1987.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI J.I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, p.205–215, 2002.

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

PATI, B.R.; SENGUPTA, S.; CHANDRA, A.K. Impact of selected phyllospheric diazotrophs on the growth of wheat seedlings and assay of the growth substances produced by the diazotrophs. **Microbiol. Res.**, v. 150, p. 121–127, 1995.

PICCOLI, P.; MASCIARELLI, O.; AND BOTTINI, R. Metabolism of 17,17- $^{2}\text{H}_2$ -gibberellins A₄, A₉ and A₂₀ by *Azospirillum lipoferum* in chemically-defined culture medium. **Symbiosis**, v. 21, p. 263–274, 1996.

PRADO, H. **Pedologia fácil: aplicações na agricultura**. Piracaba, 2007. 105 p.

PRADO, H.; PÁDUA JUNIOR, A.L.; GARCIA, J.C.; MORAES, J.F.L. de; CARVALHO, J.P. de; DONZELI, P.L. Solos e ambientes de produção. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M. de; LANDELL, M.G. de A. (eds) **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. 882 p.

POLIDORO, J.C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na fixação biológica de nitrogênio atmosférico associada à cultura de cana-de-açúcar**. 2001. 185p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.

POLIDORO, J.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, 2001, 8p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 144).

PORTAL DO AGRONEGÓCIO. RS: Falta de processamento freia produção de cana no Estado. Viçosa, MG, 2011. Disponível em:

<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=55844>. Acesso em: 07 jul. 2011

REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews Plant Science**, v.19, p.227-247, 2000.

RESENDE, A.S. **Efeito da queima e das aplicações de nitrogênio e vinhaça após 16 anos de cultivo de cana-de-açúcar.** 2003. 120f. Tese (doutorado) – UFRRJ, Seropédica – RJ.

SARAVANAN, V.S.; MADHAIYAN, M.; OSBORNE J.; THANGARAJU M.; SA, T.M. Ecological Occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and Nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* Members: Their Possible Role in Plant Growth Promotion. **Microbial Ecology**, v. 55, p. 130-140, 2008.

SARAVANAN, V.S.; MADHAIYAN, M.; OSBORNE J.; THANGARAJU M.; SA, T.M. Ecological Occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and Nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* Members: Their Possible Role in Plant Growth Promotion. **Microbial Ecology**, v. 55, p. 130-140, 2008.

SESHADRI ,S., MUTHKUMARASAMY ,R., LAKSHIMINARASIMHAN ,C., IGNACIMUTHU ,S. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*, **Current Science**, v. 79, p. 565–567, 2000.

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 *nif*-mutant strains. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 14, p. 358–366, 2001.

SILVA, S.D. dos A. e; UENO, B.; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; BESPALHOK FILHO, J.C.; OLIVEIRA, R.A. de; CASAGRANDE JR., J.G. Ensaio de variedades de cana-de-açúcar pelotas/rs, safra 2007/08. In: **Simposio Estadual de Agroenergia**. CD-ROM, 2008.

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 of Microbiology and Biotechnology**, v.17, p. 39–45, 2001.

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 America Journal**, v. 56, n.1, p.105-114, 1992.

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. In: **XIII Congresso Latino-Americano de Ciência do Solo**, Águas de Lindóia, SP. CD-ROM, 1996.

URQUIAGA, S.; LIMA, R. de M.; XAVIER, R.P.; RESENDE, A.S. de; ALVES, B.J.R. & BODDEY, R. 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. et al. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade dos sistemas agrícolas na América Latina. In: AQUINO, A.M.de; ASSIS, R.L.de. (Org.). **Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 181-200.

VISWANATHAN, R.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria against red rot disease in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 1, p. 67-76, 1999.

VISWANATHAN, R.; RAJITHA, R.; RAMESH SUNDAR, A.; RAMAMOORTHY, V. Isolation and identification of endophytic bacterial strains from sugarcane stalks and their *in vitro* antagonism against the red rot pathogen. **Sugar Tech**, v. 5, p. 25-29, 2003.

VISWANATHAN, R.; SAMIYAPPAN, R. Siderophores and iron nutrition on the *pseudomonas* mediated antagonism against *Colletotrichum falcatum* in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, p. 57-60, 2007.

VITTI, A.C. **Adubação nitrogenada da cana-de-açúcar (soqueira) colhida mecanicamente sem a queima prévia: Manejo e efeito na produtividade**. 2003. 114p. Tese de Doutorado - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.249-256, 2007.

XAVIER, R. P. **Adubação verde em cana-de-açúcar: influência na nutrição nitrogenada e na decomposição dos resíduos da colheita**. 2002. 108p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.