

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

DAYANE SALINAS NAGIB GUIMARÃES

BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO NO DESENVOLVIMENTO,  
PRODUÇÃO E QUALIDADE DA CANA DE AÇÚCAR

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

DAYANE SALINAS NAGIB GUIMARÃES

BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO NO DESENVOLVIMENTO,  
PRODUÇÃO E QUALIDADE DA CANA DE AÇÚCAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração  
em Solos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira

Co-orientadora

Profa. Dra. Regina Maria Quintão Lana

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

- G963b  
2016      Guimarães, Dayane Salinas Nagib, 1988  
            Bactérias fixadoras de nitrogênio no desenvolvimento, produção e  
            qualidade da cana de açúcar / Dayane Salinas Nagib Guimarães. - 2016.  
            38 f. : il.
- Orientador: Hamilton Seron Pereira.  
            Coorientadora: Regina Maria Quintão Lana.  
            Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
            Programa de Pós-Graduação em Agronomia.  
            Inclui bibliografia.
1. Agronomia - Teses. 2. Cana-de-açúcar - Adubação - Teses. 3.  
            Inoculação - Teses. 4. Adubação - Teses. I. Pereira, Hamilton Seron. II.  
            Lana, Regina Maria Quintão. III. Universidade Federal de Uberlândia.  
            Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

DAYANE SALINAS NAGIB GUIMARÃES

BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO NO DESENVOLVIMENTO,  
PRODUÇÃO E QUALIDADE DA CANA DE AÇÚCAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração  
em Solos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 22 de março de 2016.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Maria Quintão Lana  
(co-orientadora)

UFU

Prof. Dr. Beno Wendling

UFU

Prof. Dr. Felipe Barros Macedo

USP

Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

Aos meus pais, Garibalde e Elizety, pelo exemplo de vida e humildade, agradeço pelos ensinamentos e pela dedicação à minha formação pessoal e profissional

As minhas queridas avós, Betty (*in memorian*) e Orlandina, pelo amor incondicional, carinho e incentivo.

Ao meu irmão, Diogo, agradeço por me fazer sorrir nos dias mais tristes e por ter acreditado nos meus sonhos, apoiando-me sempre

Aos meus amigos por não me deixarem conhecer a solidão

Ao meu orientador, Hamilton, pelo apoio, companheirismo e conselhos

A minha co-orientadora, Regina, pelos ensinamentos, conselhos e amizade

A todos os professores e alunos que participaram da pesquisa

Como prova de meu amor e gratidão,

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que me concedeu todas as oportunidades necessárias para a realização desse sonho, mesmo nos momentos em que não fui perseverante em confiar.

A minha família, peça chave de cada conquista. Garibalde e Elizety, meus exemplos de vida, caráter e sabedoria. Ficar longe de vocês durante 8 anos não foi fácil. Pai, meu palhaço, minha alegria, única pessoa que era capaz de me acalmar por telefone. Minha Mãe, sempre preocupada em dar uma boa educação, nunca deixando faltar ferramentas para isso, muito obrigada pelo carinho, dedicação e preocupação, você é minha guerreira.

Ao meu irmão, Diogo, o qual estou unida por um elo impartível, carregando a certeza de que nunca estarei só.

As minhas avós, tia(o)s, prima(o)s por nunca duvidarem do meu potencial.

Aos meus amigos, por não me deixarem conhecer a solidão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira, pela orientação, oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Regina Maria Quintão Lana, pela orientação, apoio, confiança e amizade, acreditando sempre no meu potencial.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração, especialmente aos funcionários do ICIAG, pela atenção, apoio e profissionalismo.

A todos os professores, pela difícil tarefa de ensinar.

A Capes, pelo auxílio e apoio concedido, que foi de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

A empresa Stoller, pelo incentivo, suporte financeiro e por acreditar no potencial desse estudo.

A toda a galera do Lafer, pela ajuda na condução do experimento.

Ao Gustavo, pela atenção, paciência e ensinamentos.

Aos técnicos do Labas, por todo apoio e ajuda na condução das análises.

Aos amigos e colegas do curso, pela amizade e por contribuírem para o meu crescimento nesses anos de estudo.

O mérito dessa conquista é nosso, muito obrigada a todos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	2
2.1.Cana Planta .....	2
2.2 Cana Soca .....	6
2.3 Variáveis analisadas .....	7
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
4 CONCLUSÕES .....	30
REFERÊNCIAS.....	31

GUIMARÃES, DAYANE SALINAS NAGIB. **Bactérias fixadoras de nitrogênio no desenvolvimento, produção e qualidade da cana de açúcar**, 2016, 38f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Solos) – Instituto de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.<sup>1</sup>

## RESUMO

A cana de açúcar apresenta alta exigência em nitrogênio, sendo considerado um dos nutrientes mais absorvidos pela cultura. A adubação mineral é a mais utilizada para o fornecimento de nutrientes e representa grande parte dos custos de produção, o que faz da busca por alternativas uma grande contribuição dos órgãos de pesquisa. Resultados indicam que de 20 a 60% do nitrogênio presente na cana de açúcar é proveniente da fixação biológica. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento, a produção e a qualidade tecnológica da cultura da cana de açúcar, em resposta à aplicação de bactérias diazotróficas e os efeitos da adubação nitrogenada no processo de fixação de nitrogênio. Para isso, foram utilizados dois inoculantes, sendo ambos líquidos, um à base de uma mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas e o outro contendo a bactéria *Azospirillum brasilense*. O experimento foi instalado na área experimental da Universidade Federal de Uberlândia-Campus Umuarama, no ano de 2014. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados, em esquema fatorial 6 x 2, sendo 6 tipos de manejo de inoculação constituídos por combinações entre inoculantes e formas de aplicação, na presença ou ausência de adubação nitrogenada de plantio, com quatro repetições. O primeiro experimento, cana planta, teve duração de 263 dias e a segunda fase do experimento, cana soca, foi conduzida por 220 dias. Foram avaliados os parâmetros biométricos e a qualidade tecnológica da cana de açúcar. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Scott-Knott à 0,05 de significância. O manejo de aplicação dos inoculantes 1 e 2 via pulverização foliar mostram incrementos no número de folhas verdes da cana planta. A aplicação do inoculante 2 via pulverização foliar, na cana planta, favorece o aumento no teor de N foliar. A adubação nitrogenada promove aumento na biomassa (fresca e seca) e no teor de N foliar, no ciclo da cana planta. No ciclo da cana soca, a adubação nitrogenada influencia positivamente no número de perfilhos industrializáveis, na quantidade de folhas (verdes e mortas), no índice da área foliar, na biomassa (fresca e seca) e no teor de N foliar. A aplicação de inoculantes contendo bactérias diazotróficas associada a adubação nitrogenada não promove efeito positivo sobre a qualidade tecnológica da cana planta e na cana soca, influencia negativamente nas variáveis Brix, Pol e ATR.

**Palavras-chave:** Inoculação, bactérias diazotróficas, *Azospirillum brasilense*, adubação nitrogenada.

---

<sup>1</sup>Comitê Orientador: Hamilton Seron Pereira (orientador) – UFU; Regina Maria Quintão Lana – UFU



GUIMARÃES, DAYANE SALINAS NAGIB. **Nitrogen fixing bacterias in the development, production and quality of sugar cane.** 2016. 38f. Dissertation (Master Program Agronomy/Crop Science) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia.

## ABSTRACT

The sugar cane has a high requirement for nitrogen being considered one of the most nutrients absorbed by culture. The mineral fertilizer is the most used for the supply of nutrients and is a large part of production costs, which makes the search for alternatives a major contribution of research institutions. Results indicate that 20 to 60% of the nitrogen present in sugar cane is from biological fixation. This study aimed to evaluate the development, production and technological quality of sugar cane culture in response to the application of nitrogen fixing bacteria and the effects of nitrogen fertilization on nitrogen fixation process. For this, two inoculants were used, both liquids, one based on a mixture of five strains diazotrophic and the other containing the bacteria *Azospirillum brasilense*. The experiment was installed in the experimental area of the Federal University of Uberlândia Campus Umuarama in the year of 2014. The design was a randomized block in a factorial 6 x 2, and 6 types of inoculation management consisting of combinations of inoculants and forms application, in the presence or absence of nitrogen fertilization at planting, with four replications. The first experiment, plant cane, lasted 263 days and the second phase of the experiment, soca cane was conducted for 220 days. We evaluated the biometric parameters and the technological quality of sugarcane. The results were submitted to analysis of variance by Scott-Knott test at 0.05 significance. The application of management of inoculants 1 and 2 foliar spray show increases in the number of green leaves of the plant cane. Application of inoculant 2 foliar spraying, the plant cane, favors the increase in leaf N content. Nitrogen fertilization promotes increase in biomass (fresh and dry) and the leaf N concentration in plant cane cycle. In the cycle of ratoon cane, nitrogen fertilization positively influences the number of industrial tillers, the number of leaves (green and dead), the index of leaf area, biomass (fresh and dry) and leaf N content. The application of inoculants containing diazotrophs associated with nitrogen fertilizer does not promote positive effect on the technological quality of plant cane and ratoon cane, negatively influences the variables Brix, Pol and ATR.

**Keywords:** Inoculation, diazotrophic bacteria, *Azospirillum brasilense*, nitrogen fertilization.

---

<sup>1</sup> Advising committee: Hamilton Seron Pereira (advisor) – UFU; Regina Maria Quintão Lana (co-advisor) - UFU

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana de açúcar (FAO, 2015) com uma área cultivada estimada em 9,1 milhões de hectares para safra 2015/2016, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, com área plantada correspondente a 51,7%, seguido por Goiás com 9,8% e Minas Gerais com 8,9%. (CONAB, 2015).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo no qual o  $N_2$  é reduzido por um grupo especializado de organismos procariotos chamados diazotróficos (CHANWAY et al., 2014). Apesar de 78% da atmosfera da Terra ser composta por nitrogênio, muitas vezes este elemento pode ser o fator limitante no crescimento das plantas (LEE; BRESSAN, 2005).

O uso de insumos biológicos visando reduzir a aplicação de fertilizantes, relacionado com a crescente demanda da sociedade pela produção de alimentos, associada à manutenção da qualidade ambiental, traz grandes desafios para integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção. As associações entre bactérias diazotróficas e as gramíneas como cana de açúcar, podem ser utilizadas como alternativas sustentáveis e economicamente viáveis no sentido da substituição parcial das adubações nitrogenadas.

Estudos indicam que a inoculação de bactérias diazotróficas em diversas culturas não substitui a adubação nitrogenada, mas favorece a absorção e utilização do N disponível no solo (SAUBIDET et al., 2002). Aumentar a eficiência do uso de N ainda é um desafio, e o inoculante à base de bactérias diazotróficas pode ser uma alternativa eficaz (SCHULTZ et al., 2012). Segundo Pedraza (2008), além da contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em cana de açúcar, a associação com bactérias diazotróficas possivelmente reduza o uso de fertilizantes por beneficiar as plantas de diversas formas, tais como: solubilização de fosfatos e zinco (SARAVANAN et al., 2007; ESTRADA et al., 2013), produção de sideróforos e de reguladores de crescimento como auxinas, giberelinas e citocininas (LIN et al., 2012; SANTI et al., 2013).

Assim, como na adubação nitrogenada, as respostas à inoculação dependem da variedade adotada (SCHULTZ et al., 2012; URQUIAGA et al., 2012; PEREIRA et al., 2013) e costumam ser mais frequentes em solos de média e baixa fertilidade (GOSAL et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2006).

Recentemente foi desenvolvida uma tecnologia promissora que sugere um novo e mais eficiente conceito em plantio de cana de açúcar no Brasil, substituindo o plantio

de colmos pela planta já formada, chamado de mudas pré-brotadas (LANDELL et al., 2012). Por ser criado há pouco tempo, ainda é escasso qualquer tipo de trabalho com esta nova tecnologia e pouco se sabe sobre o comportamento destas mudas quando submetidas à inoculação com bactérias diazotróficas.

Há necessidade de pesquisas que determinem a contribuição da FBN em gramíneas com o intuito de promover maior produtividade, assim como, contribuir para a redução do passivo ambiental. Apesar da constância com que as bactérias endofíticas são isoladas, ainda são pouco conhecidas as potencialidades fisiológicas, que implicam diretamente nas possíveis trocas entre microrganismos e plantas (MARTINS et al., 2008).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento, a produção e a qualidade tecnológica da cultura da cana de açúcar, cultivar IACSP 95-5000, em reposta à aplicação de bactérias fixadoras de nitrogênio e os efeitos da adubação nitrogenada.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Cana Planta

O experimento foi instalado na área experimental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia-Campus Umuarama (Uberlândia, MG), no ano de 2014.

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados, em esquema fatorial 6 x 2, sendo 6 manejos de inoculação constituídos por combinações entre inoculantes e formas de aplicação, na presença ou ausência de adubação nitrogenada de plantio (Tabela 1), com quatro repetições.

**TABELA 1.** Manejos de inoculação (tipos de inoculantes e formas de aplicação) na cana de açúcar.

Inoculante	Forma de aplicação
Controle	----
Inoculante 1	Imersão de toletes e MPB
Inoculante 1	Pulverização nos toletes + Imersão MPB
Inoculante 1	Pulverização foliar
Inoculante 2	Pulverização nos toletes + Imersão MPB
Inoculante 2	Pulverização foliar

Foram utilizados dois inoculantes distintos, com as seguintes características:

Inoculante 1: líquido, composto por um coquetel contendo cinco estirpes de bactérias fixadoras: *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*.

Inoculante 2 (Masterfix Gramíneas<sup>®</sup>): líquido, fixador de nitrogênio que contém a bactéria *Azospirillum brasilense*, a qual fixa o nitrogênio do ar (N<sub>2</sub>) e libera amônio (NH<sub>4</sub>) às raízes das gramíneas.

Foram utilizadas três formas de aplicação para o inoculante 1 e duas para o inoculante 2, as quais seguiram as recomendações do fabricante e estão apresentadas na Tabela 2.

**TABELA 2.** Forma de aplicação, concentração da solução e tempo de contato com a parte tratada para cada inoculante.

Inoculante	Forma de aplicação	Concentração (mL inoc L de calda <sup>-1</sup> )	Tempo de contato (Minutos)
Inoculante 1	Imersão de toletes e MPB	3,0*	45
	Pulverização nos toletes + imersão MPB	1,0*	---
	Pulverização foliar	1,0*	---
Inoculante 2	Pulverização nos toletes + imersão MPB	3,0	---
	Pulverização foliar	3,0	---

\* Volume de cada uma das 5 estirpes de bactérias presentes no inoculante.

Visando a redução de falhas e homogeneização do perfilhamento nos vasos, para o plantio foram utilizadas mudas pré-brotadas da variedade IACSP95-5000, recomendada devido à possibilidade de maior resposta ao uso de bactérias fixadoras de nitrogênio. Em função disso, as aplicações dos inoculantes nos tratamentos de “imersão” e “pulverização nos toletes” foram feitas no local de produção das mudas (Centro de Cana do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC, Ribeirão Preto – SP), durante o processo de produção das mesmas. Para isso, os toletes das parcelas do tratamento “imersão” foram separados e em seguida imersos em solução com concentração de 3,0 mL de cada uma das cinco estirpes de bactérias presentes no inoculante 1 para cada litro de água (Tabela 2) e volume suficiente para cobertura total de todos os toletes.

Na pulverização dos inoculantes nos toletes, a solução com concentração apropriada (Tabela 2) e em volume pré-determinado (3 L) para perfeito molhamento dos toletes, foi pulverizada com o auxílio de aspersor manual.

Feitas as aplicações, o processo de produção de mudas seguiu normalmente, porém, sem o tratamento com fungicida (evitado para que não houvesse interferência sobre o estabelecimento e o desenvolvimento das bactérias fixadoras nos toletes), até que elas estivessem prontas para serem transplantadas para o vaso.

Decorridos 60 dias, após a aplicação dos tratamentos e o plantio dos toletes, as mudas foram transplantadas para tambores plásticos com capacidade de 200 L ocupados com 200 kg de solo previamente corrigido.

A correção do solo foi feita com base na análise química do solo (Tabela 3), mediante a aplicação de 0,75 g kg<sup>-1</sup> de solo de CaCO<sub>3</sub> (P.A.), 0,21 g kg<sup>-1</sup> de solo de MgCO<sub>3</sub> (P.A.) e 0,75 g kg<sup>-1</sup> de solo de gesso agrícola (20% Ca e 28% SO<sub>4</sub>) no solo peneirado, com umidade de 150 g kg<sup>-1</sup> de solo, 127 dias antes do plantio das mudas.

**TABELA 3.** Caracterização química do solo utilizado para o plantio das mudas.

pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>SMP</sub>	H + Al	SB	T
		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----		
4,9	6,6	2,2	0,73	2,83

S.B= Soma de bases; T = CTC pH 7,0; Fonte: Dados obtidos através de análise realizada no laboratório de análise de solos no Laboratório de Solos da Universidade Federal de Uberlândia (LABAS-UFU)

Decorrido o tempo de reação dos corretivos e do gesso agrícola no solo, foram plantadas três mudas por tambor e, na mesma data realizou-se a adubação de plantio aplicando-se superficialmente 165, 50 e 15 mg kg<sup>-1</sup> de solo de superfostato triplo (45 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), cloreto de potássio (60 % K<sub>2</sub>O) e FTE-BR12 (9% Zn; 7,1% Ca; 5,7% S; 2% Mn; 1,8% B; 0,8% Cu; 0,1% Mo), respectivamente.

Na data do transplantio das mudas foi realizada uma segunda aplicação dos inoculantes, através da imersão dos tubetes contendo as mudas provenientes dos tratamentos de imersão e pulverização nos toletes. Utilizou-se soluções com concentrações de 3 e 1 mL L<sup>-1</sup> de cada uma das cinco estirpes de bactérias presentes no inoculante 1 e 3 mL L<sup>-1</sup> do inoculante 2 (Tabela 2) em volume pré-determinado (4 L).

Aos 60 dias após o plantio realizou-se a aplicação foliar dos inoculantes com auxílio de pulverizador manual, aplicando-se 125 mL vaso<sup>-1</sup> da solução de concentração

determinada na Tabela 2. Adotou-se esse volume de calda de aplicação a fim de obter ótimo molhamento foliar sem escorrimento.

Aos 65 dias após o plantio foi feita a adubação nitrogenada, necessária nos tratamentos selecionados para receberem a aplicação de N, por meio da distribuição manual e superficial de 300 mg kg solo<sup>-1</sup> de N na forma de sulfato de amônio (20 % N).

O tempo de condução do experimento, até o primeiro corte da cana, foi de 263 dias. Durante esse período a umidade do solo foi mantida próximo de 70% da capacidade de campo, por meio de irrigações periódicas por gotejamento superficial (Figura 1).



**FIGURA 1.** Sistema de irrigação por gotejamento superficial.

Foram feitas também duas adubações foliares, em todos os tratamentos, para correção de deficiência nutricional de molibdênio e manganês por meio da aplicação de 100 mL vaso<sup>-1</sup> de solução contendo 2 g L<sup>-1</sup> de sulfato de manganês, 0,825 g L<sup>-1</sup> de molibdato de amônio e 55 g L<sup>-1</sup> de ureia, além de uma adubação via solo que simula a adubação feita no “quebra lombo”. Nesse caso, utilizou-se 500 mg kg<sup>-1</sup> de solo de SFT e 300 mg kg<sup>-1</sup> de solo de KCl.

Aos 263 dias após o transplante das mudas, realizou-se, manualmente, a colheita da cana planta, cortando-se, com auxílio de tesoura de jardinagem, todos os colmos de cada parcela próximo ao nível do solo.

## 2.2. Cana Soca

O experimento foi conduzido na primeira soqueira da cana de açúcar a partir da rebrota da cana planta. Os tratamentos para esse ciclo da cultura foram associados aos tratamentos utilizados na cana planta conforme apresentado na Tabela 4.

**TABELA 4.** Manejos de inoculação (tipos de inoculantes e formas de aplicação) na cana de açúcar.

Cana Planta		Cana Soca	
Inoculante	Forma de aplicação	Inoculante	Forma de aplicação
Controle	----	Controle	----
Inoculante 1	Imersão de toletes e MPB	Inoculante 1	Injeção na soqueira*
Inoculante 1	Pulverização nos toletes + Imersão MPB	Inoculante 1	Injeção na soqueira**
Inoculante 1	Pulverização foliar	Inoculante 1	Pulverização foliar
Inoculante 2	Pulverização nos toletes + Imersão MPB	Inoculante 2	Injeção na soqueira
Inoculante 2	Pulverização foliar	Inoculante 2	Pulverização foliar

Após a colheita da cana planta e antes do início da rebrota da cana de açúcar, foram observados sintomas característicos de ataque de cigarrinha (*Mahanarva fimbriolata*) o que exigiu a realização de controle, feito por meio da aplicação do inseticida Actara® em solução com concentração de 2 g L<sup>-1</sup> e volume de aplicação de 62,5 mL vaso<sup>-1</sup>.

Aos 64 dias após a colheita da cana planta, realizou-se adubação via solo em todos os tratamentos com aplicação de 300 mg kg<sup>-1</sup> de solo de KCl e 500 mg kg<sup>-1</sup> de solo de MAP, escolhido devido ao surgimento de deficiência generalizada de N na cana em função do ambiente restrito dos tambores. A adubação nitrogenada necessária nos tratamentos selecionados para receberem a aplicação de N, foi realizada 70 dias após a colheita da cana planta por meio da aplicação manual e superficial de 300 mg kg<sup>-1</sup> de solo de ureia (45 % N).

No decorrer dessa segunda fase do experimento foram feitas três adubações foliares para correção de deficiência de molibdênio e manganês com a aplicação de 100

mL vaso<sup>-1</sup> de solução contendo 2 g L<sup>-1</sup> de sulfato de manganês, 0,825 g L<sup>-1</sup> de molibdato de amônio e 55 g L<sup>-1</sup> de ureia, em todos os tratamentos.

As aplicações dos inoculantes nos tratamentos com “injeção na soqueira” e “pulverização foliar” foram realizadas 72 dias após a colheita da cana planta. Utilizou-se diferentes concentrações de solução para os inoculantes, as quais seguiram as recomendações do fabricante (Tabela 5).

Conforme apresentado na Tabela 5, uma das formas de aplicação dos inoculantes na cana soca foi feita por meio de injeção na soqueira, realizada com auxílio de proveta, aplicando-se 125 mL vaso<sup>-1</sup> da solução de concentração determinada diretamente no solo, o mais próximo possível da planta.

**TABELA 5.** Formas de aplicação e concentração da solução para cada inoculante.

Inoculante	Forma de aplicação	Concentração
		mL inoculante L de calda <sup>-1</sup> )
Inoculante 1	Injeção na soqueira	1,0*
	Pulverização foliar	1,0*
Inoculante 2	Injeção na soqueira	3,0
	Pulverização foliar	3.0

\* Volume de cada uma das 5 estirpes de bactérias presentes no inoculante.

Para a pulverização foliar dos inoculantes nessa segunda fase, foi adotado o mesmo protocolo utilizado para cana planta, utilizando-se no entanto, as concentrações apresentadas na Tabela 5.

O manejo de irrigação utilizado para cana planta foi mantido nessa fase do experimento a qual teve duração de 220 dias até a realização do corte da soqueira da cana.

### 2.3. Variáveis analisadas

Na data de cada uma das colheitas foram avaliados o número de perfilhos industrializáveis (NPI) e não industrializáveis (NPñI), o diâmetro (DMC) e a estatura média de colmos (EMC), o número de folhas verdes completamente abertas (NFVA), de folhas emergentes (NFE) e de folhas mortas (NFM).



As avaliações do NPI e NPñI foram feitas por meio da contagem dos perfilhos de cada vaso, considerando industrializáveis todos os perfilhos com três ou mais nós. O DMC foi medido na altura equivalente a um terço da base do colmo, com auxílio de paquímetro e a EMC foi adotada como a medida entre a base do colmo e o início do palmito, tomada com auxílio de trena (Figura 2).



**FIGURA 2.** Avaliação do diâmetro e estatura dos colmos da cana de açúcar

A contagem das folhas foi feita somente nos perfilhos industrializáveis e estratificada de acordo com a fase de desenvolvimento e a idade das mesmas. Assim, as folhas com abertura incompleta, acima da folha do TVD (Top Visible Dewlap), foram classificadas como NFE e as folhas completamente abertas obtiveram a classificação NFVA. O NFV foi obtido pela soma de NFE e NFVA, considerando-se como folhas verdes, aquelas com pelo menos 50% da área foliar verde. As demais folhas foram contabilizadas como NFM.

Utilizou-se ainda a folha do TVD (Figura 3), caracterizada como a primeira folha com aurícula (ou lígula) completamente aberta para medições de comprimento (C), largura (L) e amostragem (terço médio, sem nervura, de 5 folhas por vaso) para quantificação do teor de N foliar seguindo a metodologia de digestão-destilação Kjeldahl (ALVES et al. 1994), realizada após secagem do material em estufa de circulação forçada de ar a 65<sup>0</sup> C e moagem em moinho tipo Willey.



**FIGURA 3.** Aurícula completamente aberta da folha do TVD

A partir dos valores de C (distância entre a base e o ápice da folha), L (largura da folha tomada na porção mediana da mesma) (Figura 4), e do NFVA foi calculada a área foliar (AF), seguindo adaptação da metodologia descrita por Hermann e Câmara (1999) cujo cálculo está apresentado na Equação 1.



**FIGURA 4.** Medição do comprimento e largura da folha TVD

$$\text{EQUAÇÃO 1: } AF = C \times L \times 0,75 \times (N + 2)$$

AF = área foliar do perfilho;

C = comprimento da folha do TVD;

L = largura da folha do TVD;

0,75 = fator de correção para a cultura;

N = número de folhas verdes abertas;

2 = fator de ponderação para as folhas emergentes.

A partir dos valores de AF foi determinado o índice de área foliar (IAF), também seguindo metodologia adaptada de Hermann e Câmara (1999) conforme apresentado na Equação 2.

$$\text{EQUAÇÃO 2: } \text{IAF} = \frac{(\text{AF} \times \text{NPI})}{\text{AS}}$$

IAF = Índice de área foliar;

AF = área foliar do perfilho;

NPI = número de perfilhos industrializáveis;

AS = área da superfície (área do vaso = 0,28 m<sup>2</sup>).

Após as avaliações biométricas, os colmos colhidos foram pesados, com auxílio de balança manual, sem separação de palha e palmito, gerando os resultados de massa fresca. Após a pesagem, sub-amostras compostas somente por colmos e também o material composto por colmo, palha e palmito (planta toda) foram trituradas separadamente em uma forrageira ensiladeira. As amostras constituídas somente por colmos triturados foram submetidas às análises de concentração de sólidos solúveis presentes no caldo (Brix), teor de sacarose expresso por Pol do caldo, teor total de açúcar recuperável (ATR) e teor de fibra, o que permitiu a determinação dos valores de pureza e teor de sacarose na cana expresso por Pol da cana, sendo todas essas análises tecnológicas feitas seguindo a metodologia descrita por CONSECANA-SP (2006).

As amostras trituradas da planta toda (colmo, palha e palmito) foram analisadas quanto ao teor de umidade, determinada por gravimetria (pesagem de sub-amostra, secagem em estufa e nova pesagem do material seco), e com o valor da umidade foi obtido a produção de massa seca por parcela. Parte deste material foi moída em moinho tipo Wiley e submetida à análise de N (teor total) pelo método de digestão-destilação Kjeldahl (ALVES et al., 1994). Multiplicando-se os resultados de produção de massa seca e as concentrações de N correspondentes, obteve-se a extração de N acumulado pelas plantas da parcela (g vaso<sup>-1</sup>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfilhamento é influenciado inicialmente pela temperatura e radiação; porém é afetado pela variedade, densidade de plantio, ciclo (cana planta ou cana soca) e disponibilidade de água e de nitrogênio no solo. A cana de açúcar perfilha nos primeiros meses após o plantio ou a rebrota, e esse perfilhamento intensifica-se à medida que as condições de temperatura e disponibilidade hídrica são favorecidas. Após este período, o número de perfilhos diminui até se estabilizar (SUGUITANI; MATSUOKA, 2001).

O manejo de aplicação de inoculantes na cana planta, independente da presença ou ausência de nitrogênio, não influenciou significativamente o número de perfilhos industrializáveis e não industrializáveis, na cultura da cana de açúcar (Tabela 6).

**TABELA 6:** Número de perfilhos industrializáveis (NPI) e não industrializáveis (NPñI) de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	NPI			NPñI		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANÁ PLANTA						
Controle	8,0	8,7	8,4 a	6,0	5,5	5,7 a
Inoc 1 (Imersão)	7,7	9,5	8,5 a	4,0	6,7	5,4 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	8,0	8,0	8,0 a	4,7	5,0	4,9 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	10,0	9,7	9,9 a	3,7	7,0	5,3 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	9,0	9,0	9,0 a	4,3	4,7	4,5 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	9,0	9,7	9,3 a	4,2	3,3	3,8 a
Médias <sup>(1)</sup>	8,6A	9,1 A		4,5 A	5,39 A	
NPI	<sup>(2)</sup> W= <b>0,95</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>0,70</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,08</b> ; CV(%) = 15,80					
NPñI	<sup>(2)</sup> W= <b>0,96</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,77</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,57</b> ; CV(%) = 42,61					
CANÁ SOCA						
Controle	10,5	11,7	11,1 a	9,5	8,5	9,0 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	10,7	12,7	11,7 a	6,0	9,0	7,5 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	10,7	11,7	11,2 a	4,3	5,2	4,8 b
Inoc 1 (Pul. foliar)	11,3	14,7	13,0 a	7,0	9,2	8,1 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	11,7	12,0	11,9 a	9,0	9,2	9,1 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	9,7	13,7	11,7 a	7,0	7,0	7,0 a
Médias <sup>(1)</sup>	10,8 B	12,8 A		7,1 A	8,0 A	
NPI	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>0,88</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,64</b> ; CV(%) = 13,29					
NPñI	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,43</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,52</b> ; CV(%) = 34,45					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05.

<sup>(2)</sup> W, F<sub>Levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

A adubação nitrogenada não apresentou efeito significativo, porém, demonstrou aumento no valor percentual tanto do NPI quanto do NPñI da cana planta (Tabela 6), sendo o incremento desse segundo (NPñI) não apreciável pelas usinas de produção e moagem de cana de açúcar devido à ausência de valor para o processamento industrial que esses perfilhos apresentam. A utilização de bactérias diazotróficas nas diversas formas de aplicação estudadas, ocasionou redução das médias do NPñI quando comparadas com o controle, porém, não foi significativa (Tabela 6).

Segundo Hodgson (1990), as gramíneas utilizam o perfilhamento como forma de crescimento e sobrevivência e cada variedade apresenta um potencial de perfilhamento que depende da emissão de folhas (NABINGER, 1997). O número de perfilhos por unidade de área associada ao início do acúmulo de sacarose nos colmos determina a futura produtividade ou fitomassa ( $t\ ha^{-1}$ ) da cultura. O desenvolvimento da cana de açúcar é favorecido nos três meses iniciais, sendo que o melhor aproveitamento potencial na época de vegetação está associado ao bom desenvolvimento da touceira (SEGATO et al., 2006).

Na Índia, Suman et al. (2005) estudaram o efeito da inoculação de sete estirpes de *G. diazotrophicus* associadas a três doses de nitrogênio (0, 75 e  $150\ kg\ ha^{-1}$ ) na variedade CoSe 92423, e observaram efeito significativo das estirpes sobre o número de perfilhos. Suman et al. (2013) verificaram que o inoculante composto de cinco espécies de bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*) associado a doses de nitrogênio (0, 75 e  $150\ kg\ ha^{-1}$ ), promoveu incremento na produção de perfilhos e melhorou a eficiência de utilização do N-fertilizante em todos os níveis de adubação, mas o melhor resultado foi observado na dose de  $75\ kg\ ha^{-1}$  de N associado ao inoculante.

Gírio (2014), estudou os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas sobre a formação e crescimento de MPB de cana de açúcar, associados à aplicação de nitrogênio, e constatou que o inoculante, não favoreceu sobre o número de perfilhos por vaso, porém, a inoculação associada ao nitrogênio, em solo de baixa fertilidade, promoveu aumento de 12% no perfilhamento. O contrário foi obtido por Leal (2011), onde a inoculação com bactérias, na ausência de nitrogênio, incrementou em 14,4% no número de perfilhos da cana de açúcar cultivar RB835089.

Pereira (2011), ao avaliar a contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas, aplicadas em mistura e individualmente, em seis variedades de cana de

açúcar, observou que o número de perfilhos não diferiu estatisticamente do tratamento testemunha, sendo que em alguns casos, a aplicação das bactérias promoveu a redução desse parâmetro.

Na cana soca não houve interação significativa entre o manejo de aplicação de inoculantes e a adubação nitrogenada, para as variáveis avaliadas (NPI e NPñI). A aplicação de nitrogênio na cana soca promoveu aumento significativo de 18,5% na produção de perfilhos industrializáveis, enquanto que para NPñI, a adubação nitrogenada não demonstrou resultados satisfatórios (Tabela 6).

O manejo de aplicação de inoculantes na cana soca não influenciou significativamente o NPI, porém, a presença das bactérias associadas às diversas formas de aplicação, ocasionou incremento no valor percentual dessa variável (Tabela 6). Independente da adubação nitrogenada, o manejo que apresentou maior diminuição do NPñI, foi o tratamento do inoculante 1 aplicado via injeção na soqueira\*\*, com redução significativa de 46,7% dos perfilhos (Tabela 6). Os demais tratamentos não diferiram do controle.

Oliver (2014) ao estudar o efeito da inoculação de bactérias, associado a diferentes doses de N-fertilizante, observou que o uso do inoculante, aplicado de forma injetada e foliar, e os níveis de adubação, não influenciaram significativamente na variável número de perfilhos por metro, no ciclo da cana soca variedade RB92579. Por outro lado, Prado Jr (2008), ao testar as variedades de cana RB72454 e IACSP936006, inoculadas com bactérias diazotróficas em condições de campo, observou aumento significativo da produção de perfilhos para a variedade RB72454, inoculada com uma concentração de  $10^7$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, estirpe BR11281, por pulverização no momento do corte, à linha de plantio, favorecida tanto pela presença de N como pela inoculação.

Associada à produtividade da cana de açúcar, tem-se que a dinâmica de crescimento dos colmos é outra variável que apresenta correlação positiva com o rendimento final desta cultura (CARLIN et al., 2008), contudo a mesma é influenciada pela variedade e condições do ambiente de cultivo (COSTA et al., 2008; SILVA, 2005),

Os valores de DMC e EMC (Tabela 7) são uma forma de se medir a dinâmica de crescimento de colmos e, nesse caso, a utilização de vários manejos de aplicação de inoculantes na presença ou ausência da adubação nitrogenada, não influenciou significativamente essas medidas, para os dois primeiros ciclos da cana de açúcar (Tabela 7).

**TABELA 7:** Diâmetro (mm) e estatura (m) média dos colmos de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	DMC			EMC		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANA PLANTA						
Controle	23,4	24,4	23,9 a	1,7	1,7	1,7 a
Inoc 1 (Imersão)	24,4	24,2	24,3 a	1,7	1,7	1,7 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	25,0	24,6	24,8 a	1,7	1,7	1,7 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	23,9	24,6	24,2 a	1,6	1,7	1,6 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	22,7	24,9	23,8 a	1,7	1,7	1,7 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	23,7	24,6	24,2 a	1,7	1,7	1,7 a
Médias <sup>(1)</sup>	23,8 A	24,6 A		1,7 A	1,7 A	
DMC	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,35</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,04</b> ; CV(%) = 6,38					
EMC	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,79</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,003</b> ; CV(%) = 6,73					
CANA SOCA						
Controle	24,7	24,8	24,7 a	1,6	1,6	1,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	26,2	24,9	25,6 a	1,6	1,6	1,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	26,4	25,2	25,8 a	1,6	1,6	1,6 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	24,6	24,5	24,6 a	1,6	1,5	1,6 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	24,2	24,5	24,3 a	1,6	1,6	1,6 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	24,4	24,1	24,3 a	1,6	1,6	1,6 a
Médias <sup>(1)</sup>	25,1 A	24,7 A		1,6 A	1,6 A	
DMC	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,73</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,91</b> ; CV(%) = 5,67					
EMC	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,16</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,26</b> ; CV(%) = 6,00					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05. <sup>(2)</sup> W, F<sub>Levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

A aplicação do inoculante 1 via pulverização nos toletes e injeção na soqueira\*\*, mesmo não apresentando resultados significativos, demonstrou as melhores médias de diâmetro para cana planta e cana soca, 24,8 e 25,8 mm, respectivamente (Tabela 7). De acordo com Cesnik e Miocque (2004), o tamanho médio do diâmetro de colmo em cana de açúcar é de 25 mm, valor próximo ao encontrado neste estudo. Entre os atributos biométricos estudados, Landell e Silva (1995) relataram que o diâmetro de colmos é o que apresenta a menor variação, e que depende das características do genótipo, do número de perfilhos, do espaçamento entre linhas, da área foliar e das condições ambientais. Segundo Arantes (2012) o diâmetro de colmos pode sofrer alterações conforme as características genéticas das variedades e do manejo da cultura. O diâmetro dos colmos é influenciado pelo regime hídrico e também pode ser afetado pelo genótipo (SILVA; COSTA, 2004).

Chaves (2014) conduzindo experimentos, em casa de vegetação e ao ar livre, avaliou os efeitos da inoculação, mista e individual, de bactérias diazotróficas em três variedades de cana de açúcar. As cultivares RB867515 e IACSP95-5000, em ambos os experimentos, não apresentaram resultados significativos para o diâmetro dos colmos, e a cultivar RB92579 não obteve dados para este parâmetro. O contrário foi observado no estudo de Gírio (2014), onde a variedade de cana de açúcar RB867515, inoculada com bactérias diazotróficas por imersão, obteve aumento significativo quando o inoculante, composto por cinco estirpes de bactérias, foi associado ao fertilizante nitrogenado com dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, ocasionando acréscimo de 15% no somatório dos diâmetros.

No Mato Grosso, Moreira (2014) avaliou os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas e doses de nitrogênio no desenvolvimento do milho safrá, e observou que o diâmetro do colmo não foi influenciado pela inoculação e aplicação de nitrogênio em cobertura, corroborando com Basi (2013) ao utilizar doses de nitrogênio em cobertura (0, 75, 150, 225, 300 kg ha<sup>-1</sup>) associadas a inoculação com *Azospirillum brasilense*. O contrário foi obtido por Morais (2012), que sob condições controladas, a dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio proporcionou o maior diâmetro do colmo (14,8 mm) das plantas de milho e Dartora et al. (2013) verificaram que a inoculação com a combinação das estirpes Ab-V5 (*A. brasilense*) e SmR1 (*H. seropedicae*) proporcionaram maior diâmetro do colmo em relação à testemunha, não inoculada.

A adubação nitrogenada não promoveu efeito significativo sobre a média da estatura dos colmos, resultando em valores similares em ambos os ciclos da cana de açúcar (Tabela 7). Os tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias seguiram a mesma tendência da adubação. Segundo Barbosa et al. (2002), o comprimento de colmos é uma variável importante, pois, existe correlação positiva entre o comprimento e a produtividade, ou seja, cultivares com maior estatura teriam a tendência de maior produção de massa por colmo, conseqüentemente, maior produtividade.

Oliver (2014) ao avaliar diferentes doses de N (0, 60, 90 e 120 kg ha<sup>-1</sup>) associadas ou não a uma mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas, na cana soca variedade RB92579, observou que os níveis de adubação não influenciaram significativamente o comprimento e diâmetro de colmos. O autor constatou que a inoculação de bactérias via injeção em soqueira e foliar, independentemente do nível de adubação, promoveu incremento no comprimento do colmo, porém, somente a



inoculação via pulverização foliar, com aumento de 7,1%, diferiu significativamente da testemunha, ao passo que o uso do inoculante, este não afetou o diâmetro dos colmos. De fato, segundo Landell e Silva (2004), os componentes de produção determinantes para o potencial agrícola do canavial são número de perfilhos, comprimento e diâmetro de colmo.

No Rio Grande do Sul, Leal (2011) estudou o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada no crescimento da cana de açúcar cultivar RB835089, e observou que a adubação nitrogenada, equivalente a 120 kg ha<sup>-1</sup>, na ausência de bactérias, apresentou incremento de 5,9 e 12,4% nas variáveis diâmetro e estatura de colmo, respectivamente. A aplicação do inoculante na ausência de nitrogênio, promoveu aumento de 13% na estatura do colmo, porém, a inoculação quando associada ao nitrogênio, não demonstrou efeito em ambas variáveis.

Gazola et al. (2014), avaliando a adubação nitrogenada em cobertura com cinco níveis de nitrogênio (0, 60, 120 e 180 kg ha<sup>-1</sup>), na cultura do milho, não observaram resposta no diâmetro do colmo. Assim, como Meira et al. (2009) também não observaram diferença significativa avaliando o híbrido AGN 20A20 submetido a três fontes de nitrogênio e cinco doses em semeadura e cobertura. Os autores ressaltam que esta é uma característica altamente influenciada pelo genótipo e pouco dependente do meio, quando não se varia, por exemplo a densidade de plantas.

A dinâmica foliar é crucial na produtividade da cana de açúcar, uma vez que o baixo desenvolvimento foliar pode limitar expressivamente o rendimento da cultura, devido à redução da interceptação de radiação solar e ao acúmulo de biomassa pelas plantas (SINCLAIR et al., 2004). O número de folhas é pequeno em colmos jovens, e aumenta à medida que o colmo cresce, podendo existir 10 ou mais folhas em um só colmo, o que é dependente da variedade e das condições de crescimento da planta (MILLER; GILBERT, 2009). 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.

Na avaliação do número de folhas verdes, não houve interação significativa entre os manejos de aplicação dos inoculantes e adubação nitrogenada em ambos os ciclos da cana de açúcar (Tabela 8).

Ao analisar as médias dos manejos de aplicação utilizados no ciclo da cana planta, percebe-se que os inoculantes 1 e 2 aplicados via pulverização foliar diferiram significativamente do controle, apresentando incrementos de 25,4 e 14,1% no número

de folhas verdes (Tabela 8). O mesmo não aconteceu com a cana soca, onde não houve diferença significativa entre os manejos, porém, a aplicação de nitrogênio promoveu um aumento significativo de 22,4% na produção das folhas verdes (Tabela 8).

**TABELA 8:** Número de folhas verdes e folhas mortas de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	NFV			NFM		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANA PLANTA						
Controle	62,7	67,2	65,0 b	109,2	109,2	109,2 a
Inoc 1 (Imersão)	65,7	73,5	69,6 b	95,7	111,5	103,6 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	67,5	64,2	65,9 b	91,7	104,2	98,0 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	82,0	81,0	81,5 a	113,3	105,0	109,2 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	68,7	68,0	68,3 b	113,7	100,5	107,1 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	72,0	76,3	74,2 a	104,0	105,3	104,7 a
Médias <sup>(1)</sup>	69,8 A	71,7 A		104,6 A	106,0 A	
NFV	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>0,99</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,05</b> ; CV(%) = 14,27					
NFM	<sup>(2)</sup> W= <b>0,99</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,64</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,36</b> ; CV(%) = 17,32					
CANA SOCA						
Controle	88,5	108,2	98,4 a	200,0	219,5	209,7 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	93,7	118,0	105,9 a	186,2	209,0	197,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	94,0	103,7	92,7 a	171,7	197,0	184,3 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	100,7	119,7	110,2 a	208,0	226,5	217,4 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	102,0	103,2	102,6 a	193,0	220,7	206,9 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	82,2	119,0	100,6 a	210,7	221,0	215,9 a
Médias <sup>(1)</sup>	91,5 B	112,0 A		195,0 B	215,6 A	
NFV	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,28</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,43</b> ; CV(%) = 18,13					
NFM	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,00</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,95</b> ; CV(%) = 14,74					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0,05.

<sup>(2)</sup> W, F<sub>Levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

Leal (2011) ao avaliar a eficiência das bactérias diazotróficas na cultura da cana de açúcar, verificou resultados positivos para o número de folhas verdes, somente quando a inoculação foi realizada junto a dose de 120kg ha<sup>-1</sup> de N. De acordo com este autor, o número médio de folhas verdes, no decorrer do experimento, 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.

Segundo Smit; Singels (2006) e Machado (2009) a senescência foliar é responsiva ao déficit hídrico e ocorre após a redução no surgimento de folhas. A redução de folhas verdes tem sido relatada quanto às plantas com déficit hídrico (INMAN-BAMBER, 2004; PIMENTEL, 2004) e atribuída à 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 senescência foliar e a paralisação do surgimento de folhas podem ser respostas ao estresse hídrico e estas dependem do genótipo da planta (SMIT; SINGELS, 2006), e o número de folhas verdes pode ser usado como indicador do efeito desse estresse em cana de açúcar, conforme sugere Inman-Bamber (2004).

O manejo de aplicação dos inoculantes, tanto na cana planta quanto na cana soca, não influenciou significativamente no número de folhas mortas (Tabela 8). A adubação nitrogenada não apresentou resultados significativos no número de folhas mortas da cana planta, porém, no ciclo da cana soca, a aplicação do N promoveu aumento de 10,6% dessa variável, quando comparada com a ausência do nutriente (Tabela 8).

Segundo Silva et al. (2005) a área foliar da cana de açúcar aumenta no período de grande crescimento da cultura, quando são verificados os maiores índices de área foliar e números de folhas. Com o passar do tempo, a capacidade fotossintética decresce com a redução da área foliar, devido ao fato da planta precisar manter também outros órgãos drenos, como colmos, raízes e folhas velhas (OLIVEIRA et al., 2005). A AF tem grande importância para os valores da fração da radiação fotossinteticamente ativa interceptada, que pode ser afetada pelo espaçamento de plantio, tipo de ciclo (planta ou soca), data de início do ciclo e variedade. O estudo da área foliar em cultivares de cana de açúcar permite correlacioná-la com o potencial produtivo, seja em massa seca, quantidade de açúcar ou taxas de crescimento. A folha é a estrutura responsável pela produção da maior parte dos carboidratos essenciais ao crescimento e desenvolvimento dos vegetais (HERMANN; CÂMARA, 1999).

De acordo com a Tabela 9, não houve interação entre os fatores manejo de aplicação de bactérias e adubação nitrogenada para a área foliar e índice de área foliar nos ciclos da cana de açúcar. Os manejos de aplicação de bactérias diazotróficas não promoveram aumento significativo do AF e IAF. A adubação nitrogenada foi outro fator que não influenciou, exceto no IAF da cana soca, no qual, a aplicação do N

proporcionou aumento significativo de 24,8% quando comparado com a média dos tratamentos sem o nitrogênio (Tabela 9).

**TABELA 9:** Área foliar e índice da área foliar de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	AF			IAF		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANNA PLANTA						
Controle	0,4	0,4	0,4 a	10,1	12,0	11,0 a
Inoc 1 (Imersão)	0,4	0,4	0,4 a	10,6	12,1	11,3 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	0,4	0,4	0,4 a	10,9	11,9	11,4 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	0,4	0,4	0,4 a	13,9	12,7	13,3 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	0,4	0,3	0,4 a	11,7	10,2	10,9 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	0,3	0,4	0,4 a	11,3	12,3	11,8 a
Médias <sup>(1)</sup>	0,4 A	0,4 A		11,4 A	11,9 A	
AF	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,62</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,28</b> ; CV (%) = 9,23					
IAF	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,10</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,66</b> ; CV (%) = 15,65					
CANNA SOCA						
Controle	0,4	0,4	0,4 a	14,3	17,1	15,7 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	0,4	0,4	0,4 a	15,7	19,3	17,5 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	0,3	0,4	0,4 a	11,4	17,3	14,4 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	0,4	0,3	0,4 a	15,5	18,2	16,8 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	0,4	0,3	0,4 a	15,8	14,9	15,4 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	0,3	0,4	0,4 a	12,1	19,2	15,6 a
Médias <sup>(1)</sup>	0,4 A	0,4 A		14,1 B	17,6 A	
AF	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>2,50</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,26</b> ; CV (%) = 14,90					
IAF	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,77</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>4,84</b> ; CV (%) = 21,80					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05. <sup>(2)</sup> W, F<sub>levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

Benincasa (1988) relata que as folhas são os 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 a diminuição da área foliar, pois aceleram o processo de senescência das folhas verdes (INMAMBAMBER, 2004). Neste sentido, Wahid (2004) acrescenta que em condições de estresses ambientais, genótipos sensíveis seriam mais prejudicados por reduzirem sua massa de folhas e sua área foliar. Além desses fatores, a deficiência de nitrogênio também pode reduzir a capacidade fotossintética (MEINZER; ZHU 1998).

Rada-Martinez (2012) ao avaliar o efeito da inoculação da bactéria endofítica fixadora de nitrogênio *Rhizobium* sp. ICB503 no desenvolvimento de plantas de cana de açúcar, observou que a área foliar da cana de açúcar foi influenciada positivamente

tanto pela presença de *Rhizobium* sp. ICB503 como pela presença de nitrato. Por outro lado, em experimentos realizados em casa de vegetação e ao ar livre, Chaves (2014) observou que a inoculação mista e individual de bactérias diazotróficas na cana de açúcar, cultivares RB867515 e IACSP95-5000, não promoveu diferenças significativas para a variável área foliar.

Leal (2011) avaliou a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas na cultura cana de açúcar, em solo de fertilidade baixa, e observou resultados positivos para a área foliar, somente quando a inoculação foi aplicada na ausência de nitrogênio, corroborando com Oliveira et al. (2006), ao verificar que as respostas à inoculação de bactérias diazotróficas é mais evidenciada em solos de baixa e média fertilidade e sem a utilização de nitrogênio fertilizante.

O IAF é efetivo para avaliar o rendimento final, sendo que os maiores valores durante o ciclo de desenvolvimento estão relacionados com a maior produção final de colmos. Diversas variáveis influenciam o IAF, entre essas, o número de perfilhos, o número de folhas verdes, o tamanho e a largura destas folhas, a eficiência fotossintética delas, além da influência dos genótipos e dos fatores ambientais. Gírio (2014), ao avaliar os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas sobre a formação de MPB de cana de açúcar, percebeu que o índice de área foliar (IAF) não foi influenciado pela inoculação, mesmo quando combinados à adubação nitrogenada.

A inoculação de bactérias promotoras de crescimento na cana de açúcar em condições controladas e em condições de campo tem resultado em incrementos de biomassa que em alguns casos pode se equiparar à adição de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N (SCHULTZ et al., 2012). A cultura apresenta elevada produção de biomassa que se torna matéria-prima para produção de açúcar e etanol. O elevado rendimento da cultura (em termos de biomassa) associados a um baixo consumo de fertilizantes nitrogenados (URQUIAGA et al., 1992), são fatores que agregam vantagens no cultivo da cana de açúcar, devido o balanço energético positivo que a mesma apresenta.

A massa fresca e seca, por vaso, na cultura da cana de açúcar, não foram influenciadas significativamente pelos manejos de aplicação de inoculantes, porém, a adubação nitrogenada apresentou incremento para as variáveis, em ambos os ciclos da cultura (Tabela 10).

A inoculação de bactérias associada às diversas formas de aplicação, mesmo não resultando em diferença significativa, promoveu aumento no valor percentual da massa

fresca de todos os tratamentos da cana planta (Tabela 10). Em relação à massa seca da cana planta, esta também não apresentou resultados significativos.

**TABELA 10:** Massa fresca (kg) e Massa seca (kg) de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	Massa Fresca			Massa Seca		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANA PLANTA						
Controle	7,9	8,9	8,4 a	1,9	2,2	2,0 a
Inoc 1 (Imersão)	8,2	9,4	8,8 a	2,1	2,4	2,3 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	8,3	9,2	8,7 a	1,9	2,2	2,0 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	8,6	9,4	9,0 a	2,1	2,1	2,1 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	8,8	8,5	8,7 a	2,1	2,0	2,1 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	8,0	9,0	8,5 a	2,0	2,1	2,0 a
Médias <sup>(1)</sup>	8,3 B	9,1 A		2,0 B	2,2 A	
Massa Fresca	<sup>(2)</sup> W= <b>0,95</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>2,06</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,05</b> ; CV (%) = 9,50					
Massa Seca	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,56</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,56</b> ; CV (%) = 9,78					
CANA SOCA						
Controle	9,5	10,9	10,2 a	2,5	2,7	2,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	10,6	10,6	10,6 a	2,9	2,9	2,9 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	8,3	10,5	9,4 a	2,2	2,5	2,4 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	9,2	11,9	10,5 a	2,6	3,0	2,8 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	9,7	9,7	9,7 a	2,8	2,6	2,7 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	8,2	11,9	10,1 a	2,1	2,9	2,5 a
Médias <sup>(1)</sup>	9,3 B	10,9 A		2,5 B	2,8 A	
Massa Fresca	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,33</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,42</b> ; CV (%) = 15,16					
Massa Seca	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,38</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>6,22</b> ; CV (%) = 14,97					

<sup>(1)</sup>Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0,05.

<sup>(2)</sup> W, F<sub>Levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

A inoculação de bactérias na cana soca, não apresentou resultados significativos tanto para a massa fresca quanto para a massa seca (Tabela 10). Em alguns tratamentos, quando comparados com a média do controle, pode-se observar um decréscimo na produção das massas fresca e seca quando inoculadas com as bactérias diazotróficas (Tabela 10). Este efeito antagônico também foi observado por Oliveira et al. (2009), que foi atribuído à uma interação específica entre estirpes de bactérias e alguns genótipos de cana de açúcar, que é causado pela troca de fotoassimilados e nutrientes entre a bactéria e a planta.

A inibição da produção de biomassa na cana de açúcar, já foi observada por OLIVEIRA et al. (2002), onde as bactérias *Burkholderia sp* e *A. amazonense* foram inoculadas em plantas micropropagadas da variedade de cana de açúcar SP70-1143, levando a redução significativa de biomassa em relação ao controle. O excesso de reguladores de crescimento produzidos por bactérias diazotróficas pode inibir o crescimento de plantas (SPAEPEN et al., 2007), dessa forma, a inoculação com o gênero *Burkholderia* pode provocar um estresse hormonal que ao longo do tempo acaba prejudicando o crescimento da planta. A redução na produção de biomassa de cana de açúcar já foi observada não apenas com a inoculação individual das bactérias, mas também com a inoculação conjunta, inclusive quando inoculadas na variedade RB867515, indicando que existe uma interação complexa entre essas bactérias e a planta, podendo em alguns casos levar a resultados indesejados (CHAVES et al., 2012, 2013; MARQUES JUNIOR et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2002).

Na Índia, Suman et al. (2005) estudaram o efeito da inoculação de sete estirpes de *G. diazotrophicus* associadas a três doses de nitrogênio (0, 75 e 150 kg ha<sup>-1</sup>) na variedade CoSe 92423, e observaram que para a menor dose de nitrogênio, a inoculação por todos os sete isolados apresentaram efeito positivo significativo, mas no maior nível de N, apenas três isolados aumentaram significativamente a massa seca total da cana de açúcar, concluindo que além da interação planta-bactéria, a dose de nitrogênio aplicada afeta a resposta a inoculação. Também na Índia, estudos de inoculação foram desenvolvidos por Govindarajan et al. (2006), onde a inoculação de *Burkholderia vietnamiensis* estirpe MG43 promoveu ganhos de produtividade de 20 e 19% nas variedades Co 86032 e Co 86027, respectivamente, sendo esta estirpe mais eficiente que outras inoculadas.

Chaves (2014) ao estudar os efeitos das bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plantas de cana de açúcar, observou que na variedade IACSP95-5000, a produção de massa seca da parte aérea foi significativamente superior em resposta à inoculação mista e inoculação individual de *G. diazotrophicus*, *H. rubrisubalbicans* e *H. seropedicae*. Outros autores já obtiveram ganhos significativos de biomassa em cana de açúcar com a inoculação individual de estirpes diazotróficas: Marques Junior et al. (2008) inocularam *H. seropedicae* em minitoletes da variedade RB72454 tratados termicamente e observaram aumento significativo de massa seca da parte aérea após 45 dias de cultivo em casa de vegetação. OLIVEIRA et al. (2002) inocularam *G. diazotrophicus* em plantas micropropagadas da variedade SP 70-1143,

obtendo incremento significativo de biomassa após 45 dias de cultivo em casa de vegetação. Estes resultados são evidências de que a inoculação de uma única estirpe na cana de açúcar pode ser suficiente para a obtenção de incrementos significativos de biomassa.

Estudo realizado por Pereira (2011), mostrou que a inoculação com bactérias diazotróficas promove o acúmulo de biomassa na cana de açúcar, sendo a contribuição diferente entre variedades e estirpes. No estudo, a variedade RB72454 apresentou resposta significativa quanto à produção de massa fresca, com incremento de 59,09% quando comparada com o controle absoluto e as outras variedades testadas não apresentaram diferenças significativas na produção da massa fresca. O autor também verificou que o acúmulo de massa seca respondeu significativamente aos tratamentos, sendo a variedade de maior destaque a RB867515, quando inoculada com o coquetel e a estirpe BR11724, apresentando acúmulo de 14,0 e 11,9 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente; a variedade RB72454, com adubação nitrogenada e inoculada com a estirpe BR11411, para qual o acúmulo foi de 8,8 e 9,1 Mg ha<sup>-1</sup> e a variedade RB92579, adubada com nitrogênio e inoculada com a estirpe BR11724, cuja produção de massa seca foi de 11,2 e 12,7 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Nas outras três variedades estudadas (RB855536, RB92606 e RB918639), não foram observadas respostas.

Oliveira et al. (2002) ao inocularem diferentes estirpes de bactérias diazotróficas, isoladas e em mistura, em plantas micropropagadas de cana de açúcar, observaram aumento significativo no acúmulo de massa fresca de colmos das plantas. Entretanto, a inoculação individualizada não promoveu um efeito de acúmulo de massa fresca de colmos quando comparado com o controle não inoculado.

Canuto et al. (2003) estudando a inoculação de várias estirpes de bactérias diazotróficas sobre a produção de fitomassa seca de cana de açúcar oriundas de sementes do cruzamento de SP 701143 x Co421, verificaram que a inoculação das estirpes BR11509, BR11380 e BR11335 promoveu as maiores produções, ao redor de 54 kg ha<sup>-1</sup> de fitomassa seca, sendo superior as plantas não inoculadas, porém inferior a produção de fitomassa seca das plantas adubadas.

Gírio (2014) em um experimento conduzido em casa de vegetação, com duração de 50 dias, constatou que a massa seca da parte aérea da cana de açúcar apresentou ganho de 106,7% quando inoculado com bactérias diazotróficas. Muthukumarasamy et al. (2006), relatou que a inoculação combinada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* sp. promoveu o aumento da biomassa seca da cana de açúcar na



variedade Co86032 por um período de 45 dias após a inoculação em solo de textura média, aumentando significativamente o acúmulo da parte aérea. Da mesma forma, Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), também em um experimento de curta duração, constataram que a inoculação de estirpes bacterianas proporcionou maiores ganhos na parte aérea de mudas micropropagadas, porém, estes ganhos dependeram da variedade e das estirpes utilizadas. Oliveira et al. (2002) observaram incremento significativo de produção de massa seca aos 200 dias após o plantio de cana ao inocular uma mistura contendo duas estirpes de *G. diazotrophicus* e *Azospirillum* sp.

Schultz (2012), ao avaliar a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada em duas variedades de cana de açúcar, observou que o acúmulo de massa seca da parte aérea, na variedade RB72454, avaliado na cana planta e segunda soca, não foi afetado pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada. No entanto, diferença significativa foi observada na segunda soqueira da variedade RB867515, com incremento de 48,8 e 64,1% na massa seca das plantas, nos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada, equivalente a 120 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Existem indícios na literatura, na qual, a inoculação com bactérias diazotróficas pode favorecer, em alguns casos, o acúmulo e concentração de nutrientes nas plantas pela fixação biológica de nitrogênio (MUÑOZ-ROJAS; CABALLERO-MELLADO, 2003; SARAVANAN et al., 2007; ESTRADA, 2013; LIN et al., 2012).

No presente estudo, analisando-se as concentrações de N, observa-se que o manejo de aplicação de inoculantes não promoveu efeito sobre os teores de N foliar e acúmulo de N total na parte aérea da planta, em ambos os ciclos da cultura da cana de açúcar, exceto para o teor de N foliar da cana planta (Tabela11). Com relação a adubação nitrogenada, esta não proporcionou resultados significativos sobre o N acumulado da parte aérea nos ciclos da cana, porém, no que se refere ao teor de N foliar, a adubação nitrogenada mostrou resposta significativa (Tabela11).

**TABELA 11:** N foliar ( $\text{g kg}^{-1}$ ) e N acumulado ( $\text{g vaso}^{-1}$ ) de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

Manejo	N foliar			N acumulado		
	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
CANA PLANTA						
Controle	15,1	14,2	14,7 b	9,5	11,2	10,3 a
Inoc 1 (Imersão)	14,8	13,6	14,2 b	11,6	10,6	11,1 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	15,1	14,2	14,7 b	9,9	12,5	11,2 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	14,9	14,3	14,6 b	10,1	10,8	10,4 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	14,9	14,6	14,8 b	10,4	10,3	10,4 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	15,6	16,1	15,8 a	8,5	10,2	9,3 a
Médias <sup>(1)</sup>	15,1 A	14,5 B		10,0 A	10,9 A	
N foliar	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,62</b> ; F <sub>aditividade</sub> = 7,86; CV (%) = 4,67					
N acumulado	<sup>(2)</sup> W= <b>0,99</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>0,98</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,27</b> ; CV (%) = 15.41					
CANA SOCA						
Controle	14,8	14,6	14,7 a	15,0	14,1	14,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)*	14,8	14,4	14,6 a	13,4	13,7	13,6 a
Inoc 1 (Inj. na soq)**	15,2	14,2	14,7 a	10,9	11,8	11,3 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	15,4	15,3	15,4 a	11,9	14,6	13,2 a
Inoc 2 (Inj. na soq)	14,7	14,5	14,6 a	13,4	11,7	12,5 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	15,7	13,9	14,8 a	10,9	18,2	14,6 a
Médias <sup>(1)</sup>	15,1 A	14,5 B		12,6 A	14,0 A	
N foliar	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>2,13</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>2,51</b> ; CV (%) = 6,09					
N acumulado	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,59</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,55</b> ; CV (%) = 20,51					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0.05. <sup>(2)</sup> W, F<sub>Levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

O manejo de aplicação das bactérias diazotróficas influenciou no teor de N foliar da cana planta. A aplicação do inoculante 2 via pulverização foliar aumentou significativamente o teor de N em 7,5% quando comparada com a média do controle, enquanto que os demais manejos não diferiram do tratamento sem a aplicação dos inoculantes (Tabela 11). Com relação ao ciclo da cana soca, a utilização de vários manejos de aplicação de inoculantes não foi significativa quanto ao teor de N foliar (Tabela 11).

A adubação nitrogenada, tanto na cana planta quanto na cana soca, resultou em redução de 4% do teor de N foliar, quando comparada com a média dos tratamentos na ausência do fertilizante (Tabela 11). Esse resultado pode estar relacionado com o efeito da diluição da concentração de nitrogênio no interior da planta, ou seja, quanto maior o crescimento da planta, maior será a diluição do N foliar na planta.

Oliveira et al. (2002, 2006) avaliaram as variedades SP701143 e SP813250, sob o efeito da inoculação de misturas bacterianas, e verificaram que houve efeito da inoculação sobre a fixação biológica de nitrogênio, com incremento de 30% do nitrogênio acumulado quando inoculadas com a mistura de cinco bactérias diferentes, sugerindo que a combinação das espécies no inoculante é uma das estratégias para aumentar a produção da cultura, que tem demonstrado ser dependente do processo. Uma das variedades que melhor respondeu ao processo de FBN foi a RB72454, com bom desenvolvimento em condições de baixa fertilidade do solo (XAVIER, 2006).

Prado Junior (2008), ao avaliar o comportamento de duas variedades de cana de açúcar frente à inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no sulco de plantio e a aplicação de fontes nitrogenadas, percebeu que os tratamentos estudados não aumentaram o teor de nitrogênio nas folhas +1 da cana de açúcar aos 8 meses. Por outro lado, em casa de vegetação Muthukumarasamy et al. (1999) observaram aumento significativo no conteúdo de N nas folhas de cana. Há controvérsias quanto à técnica da análise foliar para avaliar o estado nutricional da cana de açúcar. Nem sempre a análise da folha diagnóstico, representa o potencial de absorção do nutriente ao longo do ciclo da cultura, conforme Orlando Filho et al. (2001).

Vale et al. (2011) realizaram um estudo de omissão de nutrientes sobre os teores de nutrientes em cana de açúcar em solução nutritiva. Os autores verificaram que, ao utilizar a solução completa (todos nutrientes), o teor de N na parte aérea foi de 22,9 g kg<sup>-1</sup>, porém, quando o N foi omitido da solução, seu teor foi reduzido para 6,8 g kg<sup>-1</sup>. Tendo estes valores como parâmetros, Gírio (2014), verificou em seu estudo que as plantas de cana de açúcar apresentaram, inicialmente, teores de N próximos aos encontrados por Vale et al. (2011) na parte aérea, além de estar na faixa de teores adequados, de 18 a 25 g kg<sup>-1</sup>, estabelecido por Raij et al. (1997). Entretanto, com o crescimento da planta ao longo do tempo, provavelmente o N absorvido foi diluído, chegando a valores de teores de N inferiores aos mencionados por Vale et al (2011) e da faixa considerada adequada.

De modo geral, a inoculação de bactérias diazotróficas, na cana planta e cana soca, não apresentou resultados significativos para o N total acumulado.

Gírio (2014), verificou que a inoculação de bactérias diazotróficas não promoveu incremento no N total acumulado na parte aérea da cana de açúcar, porém, a adubação nitrogenada promoveu aumento significativo, 10 vezes maior, do N acumulado quando comparado com o tratamento sem nitrogênio.

A cana planta pode acumular, na parte aérea, de 180 a 250 kg ha<sup>-1</sup> de N e, em alguns casos, como de cana irrigada, pode variar de 90 a 260 kg ha<sup>-1</sup> de N (ORLANDO FILHO e ZAMBELLO JUNIOR, 1980; OLIVEIRA et al., 2011). A cana acumula entre 100 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de N por ano, enquanto pela fertilização nitrogenada geralmente há um acúmulo de 60 e 120 kg ha<sup>-1</sup> de N para cana planta e cana soca, respectivamente (OHYAMA et al, 2014).

Estudos realizados por Urquiaga et al. (1992), visando seleção de variedades comerciais de cana de açúcar com potencial para fixação biológica de nitrogênio, mostraram que a variedade RB72454 teve um acúmulo total de 265 kg N ha<sup>-1</sup> em relação às outras cultivares. Este estudo foi realizado sob condições controladas onde se potencializou o rendimento da cultura e com isso a demanda potencial de N pela planta, e ficou demonstrado que nesta cultura existe uma grande variação de comportamento quanto à eficiência para FBN.

Leal (2011), ao avaliar o efeito da aplicação de um inoculante misto, composto por cinco estirpes de bactérias diazotróficas, associado a adubação nitrogenada no crescimento da cana de açúcar cultivar RB835089, observou que a adubação nitrogenada, equivalente a 120 kg ha<sup>-1</sup>, apresentou incremento de 45,3% no acúmulo de N total da parte aérea. A aplicação do inoculante na ausência de nitrogênio, ocasionou aumento de 100% do N total acumulado, porém, a inoculação quando associada ao nitrogênio, não promoveu efeito satisfatório. Costa (2014), ao estudar o efeito da aplicação de inoculante composto por bactérias diazotróficas, associado a doses de N-fertilizante, verificou que a aplicação de inoculante em soqueira implicou em aumento do teor foliar de N com incremento em produção de colmos.

Estudos de campo mostraram que as quantidades de N acumuladas na biomassa de cana foram muito superiores aos aplicados pela adubação nitrogenada, e que a possível explicação para isso, é a presença de bactérias fixadoras de nitrogênio (LIMA et al., 1987; URQUIAGA et al., 1992; BASANTA et al., 2003; FRANCO et al., 2011; URQUIAGA et al., 2012). No entanto, apesar destes resultados positivos no Brasil, estudos realizados em outros países, como Austrália (BIGGS et al., 2002) e África do Sul (HOEFSLOOT et al., 2005) com o balanço de N, não encontraram nenhuma evidência para contribuições de FBN nas variedades de cana testadas sob suas condições.

Schultz (2012), ao estudar o efeito da aplicação de um inoculante, compostos por cinco estirpes e da adubação nitrogenada, em duas variedades de cana-de-açúcar,

observou que a o acúmulo de N total, na variedade RB72454, na cana planta e segunda soca, não foi afetado pelos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada. No entanto, diferença significativa foi observada na segunda soqueira da variedade RB867515, com incremento de 75,2 e 118,8% no N total das plantas, nos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada, equivalente a dose de 120 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

A utilização de vários manejos de aplicação de inoculantes e a presença ou ausência da adubação nitrogenada, não influenciaram significativamente na qualidade tecnológica da cana planta, cultivar IACSP 95-5000. No entanto, no ciclo da cana soca, a aplicação de bactérias diazotróficas associada a aplicação de N, apresentou resultados significativos para Brix, Pol% e ATR. Incremento na porcentagem de fibra foi observado, porém, não diferiu estatisticamente da média do controle (Tabela 12).

**TABELA 12** Qualidade tecnológica (Brix%, Pol%, Fibra% e ATR) de cana de açúcar, submetida a tratamentos com diferentes manejos de aplicação de bactérias, na ausência e presença de adubação nitrogenada.

CANa PLANTA						
Manejo	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>
----- Brix% -----				----- Pol% -----		
Controle	16,3	16,6	16,4 a	10,2	10,2	10,2 a
Inoc 1 (Imersão)	15,9	16,4	16,1 a	9,7	10,5	10,1 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	15,6	16,6	16,1 a	9,7	10,5	10,1 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	16,1	16,5	16,3 a	9,9	10,0	10,0 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	15,4	15,7	15,6 a	9,2	9,5	9,3 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	16,4	16,3	16,3 a	9,9	10,3	10,1 a
Médias <sup>(1)</sup>	16,0 A	16,4 A		9,8 A	10,2 A	
Brix	<sup>(2)</sup> W= <b>0,96</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>2,25</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,04</b> ; CV (%) = 4,32					
Pol	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,77</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,19</b> ; CV (%) = 8,82					
----- Fibra% -----				----- ATR (kg t <sup>-1</sup> ) -----		
Controle	14,0	14,3	14,2 a	106,0	106,3	106,1 a
Inoc 1 (Imersão)	14,2	13,9	14,1 a	101,6	108,7	105,1 a
Inoc 1 (Pul. toletes)	14,6	14,3	14,5 a	101,0	108,3	104,5 a
Inoc 1 (Pul. foliar)	14,3	14,5	14,4 a	103,4	104,6	104,0 a
Inoc 2 (Pul. toletes)	14,1	14,8	14,5 a	97,3	99,2	98,3 a
Inoc 2 (Pul. foliar)	14,6	13,5	14,1 a	103,0	106,6	104,8 a
Médias <sup>(1)</sup>	14,3 A	14,23 A		102,0 A	105,6 A	
Fibra	<sup>(2)</sup> W= <b>0,96</b> ; F <sub>levene</sub> = 2,78; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,26</b> ; CV (%) = 5,13					
ATR	<sup>(2)</sup> W= <b>0,98</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,85</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>1,09</b> ; CV (%) = 7,29					
CANa SOCA						
Manejo	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>	Sem N	Com N	Médias <sup>(1)</sup>

----- Brix% -----			----- Pol% -----			
Controle	18,0 a A	17,3 a A	17,6	12,3 a A	11,2 a A	11,7
Inoc 1 (Inj. na soq)*	18,3 a A	18,1 a A	18,2	11,8 a A	11,9 a A	11,8
Inoc 1 (Inj. na soq)**	15,6 b B	18,2 a A	16,9	9,9 b B	12,0 a A	10,9
Inoc 1 (Pul. foliar)	18,4 a A	16,6 a B	17,5	12,9 a A	10,9 a B	11,9
Inoc 2 (Inj. na soq)	18,9 a A	17,2 a B	18,1	12,4 a A	11,2 a A	11,8
Inoc 2 (Pul. foliar)	17,8 a A	17,4 a A	17,6	11,9 a A	11,6 a A	11,8
Médias <sup>(1)</sup>	17,8	17,5		11,9	11,5	
Brix	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,43</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,19</b> ; CV (%) = 6,05					
Pol	<sup>(2)</sup> W= <b>0,96</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,15</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,17</b> ; CV (%) = 10,28					
----- Fibr% -----			----- ATR (kg t <sup>-1</sup> ) -----			
Controle	14,3	15,3	14,8 a	123,9 a A	114,3 a A	119,1
Inoc 1 (Inj. na soq)*	14,2	15,9	15,0 a	120,6 a A	120,2 a A	120,4
Inoc 1 (Inj. na soq)**	14,7	15,7	15,2 a	102,9 b B	121,0 a A	112,0
Inoc 1 (Pul. foliar)	15,8	14,4	15,1 a	128,7 a A	111,3 a B	120,0
Inoc 2 (Inj. na soq)	15,5	14,7	15,1 a	125,1 a A	114,6 a A	119,8
Inoc 2 (Pul. foliar)	15,0	15,2	15,1 a	120,4 a A	117,8 a A	119,1
Médias <sup>(1)</sup>	14,9 A	15,2 A		120,3	116,5	
Fibra	<sup>(2)</sup> W= <b>0,97</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,62</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,04</b> ; CV (%) = 8,43					
ATR	<sup>(2)</sup> W= <b>0,96</b> ; F <sub>levene</sub> = <b>1,08</b> ; F <sub>aditividade</sub> = <b>0,05</b> ; CV (%) = 8,87					

<sup>(1)</sup> Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0,05.

<sup>(2)</sup> W, F<sub>levene</sub>, F<sub>aditividade</sub>; Estatística dos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Tukey para aditividade respectivamente; valores em negrito indicam resíduos com distribuição normal, variâncias homogêneas e aditividade a 0,01 de significância respectivamente.

O manejo de aplicação de inoculantes na cana planta apresentou redução nos valores percentuais de Brix%, Pol% e ATR, quando comparados com a média do controle analisado, porém, esses resultados não foram significativos (Tabela 12). Desta maneira, pode-se perceber que os manejos de inoculação de bactérias não apresentaram respostas para este ciclo da cana de açúcar. A adubação nitrogenada seguiu a mesma tendência, não apresentando efeitos significativos sobre os parâmetros analisados (Tabela 12).

Os teores de sólidos solúveis, da cana soca, não foram influenciados pelos manejos de aplicação de inoculantes na presença do nitrogênio, porém, a aplicação do inoculante 1 via injeção na soqueira\*\*, quando realizada na ausência do N fertilizante, reduziu a quantidade de sólidos solúveis (Brix) em 13,3% quando comparada com o controle (Tabela 12).

Na cana soca a adubação nitrogenada reduziu o Brix dos tratamentos com aplicação do inoculante 1 via pulverização foliar e do inoculante 2 aplicado via injeção na soqueira, em 9,8 e 9,0%, respectivamente (Tabela 12). Para os demais manejos, a adubação de N foi não significativa com exceção do inoculante 1 aplicado via injeção na soqueira\*\*, onde, a presença do N aumentou em 16,7% o teor dos sólidos solúveis, quando comparado ao mesmo tratamento sem adubação (Tabela 12).

Os manejos de aplicação de inoculantes quando associados à adubação nitrogenada, não influenciaram no teor de sacarose (Pol) e açúcar total recuperável (ATR) da cana soca (Tabela 12). Os parâmetros Pol e ATR apresentaram redução de 19,5 e 16,9%, respectivamente, em comparação com a testemunha, quando a aplicação do inoculante 1 via injeção na soqueira\*\* foi realizada na ausência de nitrogênio (Tabela 12). De maneira geral, a adubação nitrogenada não promoveu aumento dos parâmetros Pol e ATR, com exceção do inoculante 1 aplicado via injeção na soqueira\*\*, onde, o uso do N ocasionou o incremento de 21,2 e 17,6%, respectivamente (Tabela 12). A adubação nitrogenada quando associada ao inoculante 1 aplicado via pulverização foliar, promoveu redução de 15,5 e 13,5 % nos teores de Pol e ATR, respectivamente (Tabela 12).

Costa (2014) ao verificar o efeito da aplicação de inoculante composto por bactérias diazotróficas, associado a doses de N-fertilizante sobre os aspectos quantitativos e qualitativos da produção de cana de açúcar, observou que os parâmetros qualitativos, ATR, fibra e Pol não diferenciaram estatisticamente, em relação a aplicação do inoculante e as doses de N. Vitti (2003) observou aumento dos teores de fibra e Pol com o aumento da dosagem de N, mas constatou que não houve variação significativa entre os tratamentos.

#### 4. CONCLUSÕES

O manejo de aplicação dos inoculantes 1 e 2 via pulverização foliar mostram incrementos no número de folhas verdes da cana planta.

A aplicação do inoculante 2 via pulverização foliar, na cana planta, favorece o aumento no teor de N foliar.

A adubação nitrogenada promove aumento na biomassa (fresca e seca) e no teor de N foliar, no ciclo da cana planta.

No ciclo da cana soca, a adubação nitrogenada influencia positivamente no número de perfilhos industrializáveis, na quantidade de folhas (verdes e mortas), no índice da área foliar, na biomassa (fresca e seca) e no teor de N foliar.

A aplicação de inoculantes contendo bactérias diazotróficas associada a adubação nitrogenada não promove efeito positivo sobre a qualidade tecnológica da cana planta e na cana soca, influencia negativamente nas variáveis Brix, Pol e ATR.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, B. J. R.; SANTOS, J. C. F. dos; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., (Ed.) **Manual de métodos empregados em estudo de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p.449-469.
- ARANTES, M. T. **Potencial produtivo de cultivares de cana de açúcar sob os manejos irrigado e sequeiro**. 2012. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- BARBOSA, M. H. P.; BASTOS, I. T.; SILVEIRA, L. C. I.; OLIVEIRA, M. W. Análise de causa e efeito para produção de colmos e seus componentes na seleção de famílias de cana de açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 8, 2002, Recife. **Anais...** Recife-PE 2002. p. 366-370.
- BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura de milho**. 2013. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- BASANTA, M.V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; OLIVEIRA, J.C.M.; TRIVELLIN, P.C.O.; TIMM, L.C.; TOMINAGA, T.T.; CORRECHEL, V.; CÁSSARO, F.A.M.; PIRES, L.F.; DE MACEDO, J.R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v.116, p.235–248, 2003.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Funep, Jaboticabal, 1988. 42 p.
- BIGGS, I.M.; STEWART, G.R.; WILSON, J.R.; CRITCHLEY, C. <sup>15</sup>N natural abundance studies in Australian commercial sugarcane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.238, p.21–30, 2002.
- 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**, Seropédica, v.37, p. 67-72, 2003.
- CARLIN, S. D.; SILVA, M. de A.; ROSSETO, R. Parâmetros biométricos e produtividade da cana de açúcar após tombamento dos colmos. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 04, p. 845-853, 2008.
- CESNIK, R.; MIOCQUE J. **Melhoramento da cana de açúcar**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 307 p.
- CHANWAY, C.P.; ANAND, R.; YANG, H. Nitrogen fixation outside and inside plant tissues. In: OHYAMA, T. (Ed.). **Advances in biology and ecology of nitrogen fixation**, InTech, 2014. cap.1, p.3-21.



CHAVES, V. A. **Desenvolvimento inicial e acúmulo de nutrientes em três variedades de cana de açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas**. 2014. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) -Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

CHAVES, V. A.; PEDULA, R.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; CASSADOR, R.; MACHADO, D.; GIORI, F.; REIS, V. M. Estudo de compatibilidade de bactérias diazotróficas com Regent 800 WG utilizado na cana de açúcar. In: FERTBIO 2012 – A RESPONSABILIDADE SOCIOAMBIENTAL DA PESQUISA AGRÍCOLA, 2012. Maceió. **Anais...** Maceió -AL, Resumo CD-ROM ISSN 0100-0683.

CHAVES, V. A; MAGALHÃES JÚNIOR, H. X.; SOUZA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; MACHADO, D. O. de; REIS, V. M. Resposta da variedade de cana de açúcar RB867515 a doses de nitrogênio associadas à inoculação de bactérias diazotróficas. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 34. 2013. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis-SC. Disponível em: <<http://www.eventossolos.org.br/cbcs2013/>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: cana de açúcar – Segundo levantamento. **CONAB**, Brasília, agosto/15. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_08\\_08\\_09\\_39\\_29\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_abril\\_2015\\_1o\\_lev.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_08_09_39_29_boletim_cana_portugues_-_abril_2015_1o_lev.pdf). Acesso em: 25 jan. 2016.

CONSECANA-SP - Conselho dos Produtores de Cana de açúcar, açúcar e álcool do estado de São Paulo. Manual de Instruções. 5. ed .**CONSECANA-SP**, Piracicaba-SP, 2006. 112 p

COSTA, C. T. S. et al. Crescimento de quatro variedades de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) no quarto ciclo de cultivo, no município de Rio Largo-AL. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 9. 2008, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB, 2008. p. 610-615.

COSTA, H.T. **Efeito do uso de inoculante e da adubação nitrogenada em soqueira de cana de açúcar**. 2014. 69 f. Dissertação (mestrado) -Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

ESTRADA, G.A.; BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, D.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.369, p.115- 129, 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. Disponível em:<<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

FRANCO, H.C.J.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C.; DE OLIVEIRA, E.C.A.; TRIVELLIN, P.C.O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.121. n.1, p.29-41, 2011.

GAZOLA, D.; ZUCARELI, C.; SILVA, R. R.; FOSECA, I. C. de B. Aplicação foliar de aminoácidos e adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho safrinha. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 7, p. 700-707, 2014.

GÍRIO, L. A. S. **Eficiência agrônômica de bactérias diazotróficas na cultura da cana de açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2014. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

GOSAL, S.K.; KALIA, A.; UPPAL, S.K.; KUMAR, R.; WALIA, S.S.; SINGH, K.; SINGH, H. Assessing the benefits of *Azotobacter* bacterization in sugarcane: a field appraisal. **Sugar Tech**, [S.l.], v.14, n.1, p.61-67, 2012.

GOVINDARAJAN, M.; BALANDREAU, J.; MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G. & LAKSHMINARASIMHAN, C. Improved yield of icropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 280, n. 12, p. 239– 252, 2006.

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, p 32-34. 1999.

HODGSON, J. **Grazing management: Science into practice**. Essex, England Longman Scientific & Technical, 1990, 203p.

HOEFSLOOT, G.; TERMORSHUIZEN, A.J.; WATT, D.A.; CRAMER, M.D. Biological nitrogen fixation is not a major contributor to the nitrogen demand of a commercially grown South African sugarcane cultivar. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 277, p.85–96, 2005.

INMAN-BAMBER, N.G. Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. **Field Crops Research**, Amsterdam, 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**, Melbourne, v.59, p.13-26, 2008.

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, p.3-9.

LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. As estratégias de seleção da cana em desenvolvimento no Brasil. **Visão agrícola**, Piracicaba: USP, Esalq, jan.-jun., p. 18-23, 2004.

LANDELL, M.G; CAMPANA, M.P.; FIGUEIREDO, P. XAVIER, M.A.; ANJOS, I.A.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; SCARPARI, M.S.; GARCIA, J.C.; BIDÓIA, M.A.P.; SILVA, D.N.; MENDONÇA, J.R.; KANTHACK, R.A.D.; CAMPOS, M.F.; BRANCALÃO, S.R.; PETRI, R.H.; MIGUEL P.E.M. **Sistema de multiplicação de de cana de açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas**. Ribeirão Preto: Instituto Agronômico de Campinas, 2012. 17 p. (Documentos IAC, 109).

LEAL, L. T. **Resposta de genótipos de cana de açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul**. 2011. 72f. (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

LEE, T.S.G.; BRESSAN, E.A. Clean cane with nitrogen fixing bacteria. **Sugar Tech**, [S.l.], v.7, n.1, p. 11-16, 2005.

LIMA, E.; BODDEY, R.M.; DOBEREINER, J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using a <sup>15</sup>N aided nitrogen balance. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.19, n 2, p.165–170, 1987.

LIN, L.; HU, C.; ZHANG, X; CHANG, S.; YANG, L; LI, Y.; AN, Q. Plant growthpromoting nitrogen-fixing enterobacteria are in association with sugarcane growing in Guangxi, China. **Microbes and environments**, Tagajo, v.27, n.4, p.391-398, 2012.

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

MACHADO, R.S.; RIBEIRO, R.V.; MARCHIORI, P.E.R.; MACHADO, D.F.S.P.; MACHADO, E.C.; LANDELL, M.G. de A. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana de açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1575-1582, 2009.

MARTINS, R.C.R.; BORTOLUCI, J.P.; FLOH, E.I.S.; BARBOSA, H.R. Associações *in vitro* entre bactérias endofíticas diazotróficas e calos de cana de açúcar. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ECOFISIOLOGIA, MATURAÇÃO E MATURADORES EM CANA DE AÇÚCAR, 1. 2008, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2008.

MARQUES JÚNIOR, R. B.; CANELLAS, L. P.; SILVA, L. G. da; OLIVARES, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana de açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1121-1128, 2008.

MEINZER, F. C.; ZHU, J. Nitrogen stress reduces the efficiency of the C4 CO<sub>2</sub> concentranting system, and therefore quantum yield, in *Saccharum* (sugarcane) species. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, n. 324, p. 1227-1234, 1998.

MEIRA, F. de A.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M. E. de; ANDRADE, J. A. da C. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 275-283, 2009.

MILLER, J. D.; GILBERT, R. A. **Sugarcane Botany: A Brief View**. University of Florida IFAS extension. 2009. Disponível em: < <http://edis.ifas.ufl.edu/SC034> >. Acesso em: 10 jan. 2016.

MORAIS, T. P. de; **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho**. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – MG, 2012.

MOREIRA, J. C. F. **Milho safra submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e doses de nitrogênio**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2014.

MUÑOZ-ROJAS, J.; CABALLERO-MELLADO, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. **Microbiology Ecology**, New York, n.46, p.454-464, 2003.

MUTHUKUMARASAMY, R.; GOVINDARAJAN, M.; VADIVELU, M.; REVATHI, G. Nfertilizer saving by the inoculation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspiillum* sp. in micropropagated sugarcane plants. **Microbiological Research**, [S.l], n. 161, p.238-245, 2006.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Diazotrophic Associations in sugar cane cultivation in south India. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.76, p. 171–178, 1999.

NABINGER, C. Eficiência do uso de pastagens: disponibilidade e perdas de forragem. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Eds.). Simpósio sobre manejo da pastagem. Tema: fundamentos do pastejo rotacionado. FEALQ, **Anais...**Piracicaba, SP, 1997. p. 231-251.

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

OLIVEIRA, A.L.M.; STOFFELSC, 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**, Paris, v. 45, p. 106 – 113, 2009.

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

OLIVEIRA, E.C.A.; FREIRE, F.J.; OLIVEIRA, R.I.; OLIVEIRA, A.C.; FREIRE, M.B.G.S. Acúmulo e alocação de nutrientes em cana de açúcar. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.42, n.3, p.579-588, 2011.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E. ZAMBON, J. L. C.; WEBER, H.; IDO, O. T.; ZUFFELATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; SILVA, D. K. T. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana de açúcar, em cana-planta, no estado do Paraná: taxas de crescimento. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.6, n.1/2, p.85-89, 2005.

OLIVEIRA, R.A. de; DAROS, E.; ZAMBON, J.L.C.; WEBER, H.; IDO, O.T.; BESPALHOK-FILHO, J.C.; ZUFFELATO-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**, Goiânia v.37, n.2, p.71-76, 2007.

OLIVER, R. **Interação entre bactérias diazotróficas e doses de N-fertilizante na cultura da cana de açúcar**. 2014. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

ORLANDO FILHO, J.; ROSSETTO, R.; CASAGRANDE, A. A. Micronutrientes para a cana de açúcar. In: FERREIRA, M. E. et al. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. São Paulo: Ed. Legis Summa, vol. 1, 2001. p. 355-373.

ORLANDO FILHO, J.; ZAMBELLO JUNIOR, E. Influência da adubação N-P-K nas qualidades tecnológicas da cana-planta variedade CB41-76. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 96, n.3, p.37-44, 1980.

OHYAMA, T.; MOMOSE, A.; OHTAKE, N.; SUEYOSHI, K.; SATO, T.; NAKANISHI, Y.; ASSIS JUNIOR, C.A.; RUAMSUNGSRI, S.; ANDO, S. Nitrogen fixation in sugarcane. In: OHYAMA, T. (Ed.). **Advances in biology and ecology of nitrogen fixation**, InTech, 2014. cap.3, p.49-70.

PEDRAZA, R. Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.125, p.25-35, 2008.

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

PEREIRA, W.; LEITE, J.M.; HIPÓLITO, G.S.; SANTOS, C.L.R.; REIS, V.M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana de açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.44, n.2, p.363-370, 2013.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Rio de Janeiro: EDUR, 2004, 191 p.

PRADO JUNIOR, J. P. Q. **Qualidade e produtividade da cana de açúcar inoculada com *Gluconacetobacter Diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico.** 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto agrônomo, Campinas. 2008.

RADA-MARTINEZ, L. **Efeito da inoculação da bactéria endofítica fixadora de nitrogênio *Rhizobium* sp.ICB503 no desenvolvimento de plantas de cana de açúcar (*Saccharum* sp.).** 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 1997. 255p. (Boletim Técnico, 100).

SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological fixation in non-legume plants – a review. **Annals of Botany**, Oxford, p.1-25, 2013.

SARAVANAN, V.S.; MADHAIYAN, M.; THANGARAJU, M. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Chemosphere**, Oxford, v.66, p.1794-1798, 2007.

SAUBIDET, M.I.; FATTA, N.; BARNEIX, A.J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 245, p.215-222, 2002.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R.F.; SILVA, J.A.; BAPTISTA, R.B.; OLIVEIRA, R.P.; LEITE, J.M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JR.; J.B.; ALVES, B.J.R.; BALDANI, J.I.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M. Avaliação agrônômica de variedades de cana de açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.2, p. 261-268, fev. 2012.

SEGATO, S.V.; et al. Terminologias no setor sucroalcooleiro. In: SEGATO, S.V.; ALONSO, O.; LAROSA, G. **Atualização em produção de cana de açúcar.** Piracicaba, 2006.p.399-400.

SILVA, A. L. C.; COSTA, W. A. J. M. Varietal variation in growth, physiology and yield of sugarcane under two contrasting water regimes. **Tropical Agricultural Research**, Peradeniya, v. 16, p. 1-12, 2004.

SILVA, D. K. T. da. **Crescimento de cultivares de cana de açúcar em primeira soca na Região Noroeste do Paraná na safra de 2002/2003.** 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

SINCLAIR, T. R. et al. Sugarcane leaf area development under field conditions in Florida, USA. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 88, n. 02/03, p. 171-178, 2004.

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