

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CAMILA DE ANDRADE CARVALHO GUALBERTO

Relação entre a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* e a adubação nitrogenada
na cultura da cana-de-açúcar

UBERLÂNDIA

2024

CAMILA DE ANDRADE CARVALHO GUALBERTO

Relação entre a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* e a adubação nitrogenada
na cultura da cana-de-açúcar

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

Orientador

Prof. Dr. Hamilton Seron Pereira

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2024

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

G899r
2024 Gualberto, Camila de Andrade Carvalho, 1991-
 Relação entre a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* e a adubação
 nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar [recurso eletrônico] / Camila de
 Andrade Carvalho Gualberto. - 2024.

 Orientador: Hamilton Seron Pereira.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
 Pós-graduação em Agronomia.
 Modo de acesso: Internet.
 Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2025.5505>
 Inclui bibliografia.
 Inclui ilustrações.

 1. Agronomia. 2. Cana-de-açúcar - Cultura. 3. Cana-de-açúcar -
 Adubação. I. Pereira, Hamilton Seron, 1968-, (Orient.). II. Universidade
 Federal de Uberlândia. Programa de Pós-graduação em Agronomia. III.
 Título.

CDU: 631

Rejâne Maria da Silva
Bibliotecária-Documentalista – CRB6/1925



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Tese 014/2024, PPGAGRO				
Data:	Onze de novembro de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	18:00
Matrícula do Discente:	12013AGR004				
Nome do Discente:	Camila de Andrade Carvalho Gualberto				
Título do Trabalho:	Relação entre a bactéria <i>Nitrospirillum viridazoti</i> e a adubação nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar.				
Área de concentração:	Produção Vegetal				
Linha de pesquisa:	Uso e Recuperação de Solos e Resíduos na Agricultura				

Reuniu-se no auditório 4G, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agronomia, assim composta: Professores Doutores: Beno Wendling - UFU; Araújo Hulmann Batista - UFU; Gaspar Henrique Korndörfer - KP Consultoria LTDA; Verônica Massena Reis - Embrapa Agrobiologia; Hamilton Seron Pereira - UFU orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Hamilton Seron Pereira - UFU, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada.

Essa tese possui mérito para ser indicada como destaque do Programa? (X) SIM
NÃO ()

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação

interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Hamilton Seron Pereira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/11/2024, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Araína Hulmann Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/11/2024, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Beno Wendling, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/11/2024, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Verônica Massena Reis, Usuário Externo**, em 12/11/2024, às 09:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gaspar Henrique Korndörfer, Usuário Externo**, em 12/11/2024, às 09:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5865971** e o código CRC **79921EE8**.

Referência: Processo nº 23117.076982/2024-84

SEI nº 5865971

A Jesus e à Santa Teresinha do Menino Jesus, por todas as graças recebidas.

*Ao meu esposo, Henrique, e aos meus filhos, João e Isabel por me deixarem viver e
entender o que é a felicidade.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao meu Pai do Céu, por toda a proteção e graças em minha vida. Obrigada, Senhor, por conduzir a minha vida e sempre me guiar para o caminho de Cristo.

Aos anjos e santos, especialmente, à Santa Teresinha do Menino Jesus, que sempre estão olhando por mim e intercedendo ao meu favor.

Ao meu marido, Henrique, meu eterno agradecimento por realizar muitas das minhas responsabilidades diárias para que eu pudesse finalizar este trabalho e por compreender meus momentos de indisponibilidade e dificuldades. Seu valioso apoio me fez estar aqui hoje.

Aos meus filhos, João e Isabel, que ainda não têm idade para entender o que é uma tese, agradeço por alegrarem os meus dias, mesmos aqueles mais difíceis, e por me ensinarem o que realmente importa nesta vida.

À minha família, em especial aos meus irmãos, André, Gabriel e Marcela, que sempre estiveram tão presentes, me apoiando em momentos difíceis e comemorando as minhas conquistas.

Ao professor Hamilton Seron Pereira, meu sincero agradecimento pela confiança e amizade. Obrigada por me orientar e ajudar a realizar esta etapa, que é um sonho que sempre fez parte do meu projeto de vida.

Ao Gaspar Henrique Korndorfer e ao Gustavo Alves Santos, meus companheiros de trabalho. Agradeço por todo conhecimento compartilhado e por toda confiança depositada.

À Lara Gualberto e ao Fábio Janoni, pela ajuda com as análises estatísticas.

A todos os responsáveis técnicos e colaboradores da bpBunge Bioenergia, unidades Itapagipe e Itumbiara, e Usina da Pedra, os quais cederam toda a infraestrutura disponível para a instalação e condução dos experimentos.

Aos membros da banca por aceitarem o convite e dedicarem tempo para contribuir com este trabalho.

À equipe da BASF, pelo fornecimento dos materiais usados nos experimentos e pelo apoio durante toda a pesquisa.

À Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade de desenvolver este trabalho e aos professores do PPGA por todo conhecimento compartilhado.

Muito obrigada!

RESUMO

GUALBERTO, CAMILA DE ANDRADE CARVALHO. **Relação entre a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* e a adubação nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar.** Uberlândia: UFU, 2024. 79f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.¹

O uso de bactérias diazotróficas no cultivo da cana-de-açúcar, a exemplo do *Nitrospirillum viridazoti*, é uma prática com potencial de promover ganhos em produtividade e reduzir a adubação nitrogenada no ciclo da cana-planta. Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio da cana-de-açúcar e diferentes doses de N na operação do quebra-lombo no desenvolvimento, produtividade e qualidade da matéria-prima da cana-planta, bem como nos teores foliares de N e nos bioindicadores da saúde do solo. Três experimentos ,7 foram conduzidos em áreas sucroenergéticas localizadas em Itapagipe – MG, Itumbiara – GO e Serrana – SP. Todos os experimentos foram conduzidos em blocos casualizados, com 4 repetições. Em Itapagipe – MG, avaliaram-se 4 doses de N no quebra-lombo (0, 30, 45 e 60 kg ha⁻¹ de N) associadas à presença da bactéria no plantio e um tratamento de controle com 60 kg ha⁻¹ de N no quebra-lombo, na ausência da bactéria. Em Itumbiara – GO e Serrana – SP, os experimentos foram conduzidos em fatorial 2 x 4, sendo constatada a presença e a ausência da bactéria no plantio e doses de N no quebra-lombo (0, 20, 40 e 60 kg ha⁻¹ de N). Em todas as áreas foram realizadas as avaliações de número de perfilhos e colmos por metro linear, teores foliares de N, bioindicadores da saúde do solo, produtividade de colmos, produtividade de açúcar e açúcar total recuperável da cana-de-açúcar. A presença do *Nitrospirillum viridazoti* resultou em melhorias no perfilhamento da cana-planta, nos teores foliares de N e nos bioindicadores da saúde do solo, especialmente quanto à atividade da enzima fosfatase ácida. Ganhos em produtividades de colmos e de açúcar e nos valores de açúcar total recuperável foram observados na presença da bactéria. Contribuindo para melhores resultados na ausência ou com menores doses de N, bem como em áreas com baixa resposta à adubação nitrogenada, sendo possível reduzir ou eliminar a adubação nitrogenada mineral quando há a inoculação com *Nitrospirillum viridazoti*, nessas condições.

Palavras-chave: Bactéria diazotrófica; Nitrogênio; *Saccharum spp.*

¹ Orientador: Hamilton Seron Pereira – UFU.

ABSTRACT

GUALBERTO, CAMILA DE ANDRADE CARVALHO. **Relationship between the bacterium *Nitrospirillum viridazoti* and nitrogen fertilization in sugarcane crop.** Uberlândia: UFU, 2024. 79p. Thesis (Doctorate in Agronomy) - Federal University of Uberlândia, Uberlândia².

The use of diazotrophs in sugarcane crops, such as *Nitrospirillum viridazoti*, is a practice with the potential to increase yields and reduce nitrogen fertilization in plant cycle. The objective of this study was to evaluate the effect of the application of the inoculant containing *Nitrospirillum Viridazoti* in the sugarcane planting furrow and different doses of N in the operation of the loin breaker on the development, yield and raw material quality of sugarcane, as well as on leaf N contents and biological indicators of soil health. Three experiments were conducted in sugarcane crop areas located in Itapagipe - MG, Itumbiara - GO and Serrana - SP. All experiments were conducted in randomized blocks, with four replications. In Itapagipe - MG, four N doses in topdressing were evaluated (0, 30, 45 and 60 kg ha⁻¹ of N) associated with the presence of the bacteria at planting and a control treatment with 60 kg ha⁻¹ of N in topdressing and no bacteria. In Itumbiara - GO and Serrana - SP, the experiments were conducted in a 2 x 4 factorial design, with the presence and absence of the bacteria at planting and four N doses in topdressing (0, 20, 40 and 60 kg ha⁻¹ of N). In all areas, the number of tillers and stalks per linear meter, leaf N contents, soil health bioindicators, stem yield, sugar yield and total recoverable sugarcane were evaluated. The presence of *Nitrospirillum viridazoti* resulted in improvements in sugarcane tillering, leaf N content and biological indicators of soil health, especially to acid phosphatase enzyme activity. Gains in stalk and sugar yields and total recoverable sugar values were observed in the presence of the bacteria, with better results in the absence or lower doses of N, as well as in areas with low response to nitrogen fertilization, making it possible to reduce or eliminate mineral nitrogen fertilization when *Nitrospirillum viridazoti* is inoculated under these conditions.

Keywords: Diazotrophs; Nitrogen; *Saccharum spp.*

² Orientador: Hamilton Seron Pereira – UFU

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização das áreas experimentais. Fonte: Google Earth, **página 17.**
- Figura 2.** Área experimental do ensaio conduzido em Itapagipe – MG, **página 18.**
- Figura 3.** Adubação de quebra-lombo do ensaio conduzido em Itapagipe – MG, **página 19.**
- Figura 4.** Operação de quebra-lombo do ensaio conduzido em Itumbiara – GO, **página 21.**
- Figura 5.** Plantio da cana-de-açúcar no ensaio conduzido em Serrana – SP, **página 22.**
- Figura 6.** Aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* com pulverizador costal pressurizado a CO₂ no experimento de Itumbiara – GO, **página 25.**
- Figura 7.** Aplicação do manual do nitrato de amônio na operação do quebra-lombo, sobre a linha de brotação da soqueira, no experimento de Serrana – SP, **página 25.**
- Figura 8.** Visual da cana no momento da contagem de perfilhos, aos 89 dias após o plantio, em Itumbiara – GO, **página 27.**
- Figura 9.** Visual da cana no momento da contagem de colmos, aos 181 dias após o plantio, em Serrana – SP, **página 28.**
- Figura 10.** Folha TVD coletada no experimento de Itapagipe – MG. Folha diagnóstica utilizada para análise foliar na cultura da cana-de-açúcar, **página 29.**
- Figura 11.** Retirada do terço médio (a) e da nervura central (b) para envio ao laboratório das folhas coletadas em Serrana – SP, **página 30.**
- Figura 12.** Ponto de coleta de amostra de solo para análises dos bioindicadores da saúde do solo, **página 31.**
- Figura 13.** Pesagem da cana-de-açúcar colhida com o auxílio de balança acoplada ao tripé no experimento de Itapagipe – MG, **página 33.**
- Figura 14.** Número de colmos da cana-planta por metro linear aos 233 dias após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo associadas à 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e (experimento de Itapagipe – MG, variedade SP 95-5094), **página 39.**
- Figura 15.** Número de colmos da cana-planta por metro linear após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo (médias dos tratamentos com e sem a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio) aos 187 dias após a aplicação em Itumbiara – GO (variedade RB966928) e aos 181 dias após a aplicação em Serrana – SP (variedade RB867515), **página 41.**

Figura 16. Atividade das enzimas beta-glicosidade, fosfatase ácida, arilsulfatase e atividade enzimática total (somatório das três enzimas) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta aos 500 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e 60 kg ha⁻¹ de N via nitrato de amônio na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 44.**

Figura 17. Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta aos 500 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e 60 kg ha⁻¹ de N via nitrato de amônio na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 45.**

Figura 18. Atividade enzimática total (somatório das três enzimas) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo (médias dos tratamentos com e sem a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio) aos 332 dias após a aplicação em Itumbiara – GO (variedade RB966928) e aos 322 dias após a aplicação em Serrana – SP (variedade RB867515) (médias das duas áreas), **página 50.**

Figura 19. Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 56.**

Figura 20. Açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 60.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento em Itapagipe – MG, **página 18.**

Tabela 2. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento de Itumbiara - GO, **página 20.**

Tabela 3. Histórico de pluviometria (mm) da área de instalação do experimento em Itumbiara – GO, **página 21.**

Tabela 4. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento de Serrana - SP, **página 22.**

Tabela 5. Histórico de pluviometria (mm) da área de instalação do experimento em Serrana – SP, **página 23.**

Tabela 6. Resumo da descrição das áreas de cada experimento, **página 23.**

Tabela 7. Produtos e doses utilizados no experimento conduzido em Itapagipe – MG, **página 24.**

Tabela 8. Produtos e doses utilizados nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana - SP, **página 24.**

Tabela 9. Resumo da descrição das áreas e datas das avaliações de cada experimento, **página 33.**

Tabela 10. Número de perfilhos da cana-planta por metro linear aos 88 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 35.**

Tabela 11. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no perfilhamento da cana-planta aos 88 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG, **página 35.**

Tabela 12. Número de perfilhos da cana-planta por metro linear aos 89 dias após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, **página 37.**

Tabela 13. Número de colmos da cana-planta por metro linear aos 233 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 38.**

Tabela 14. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no número de colmos por metro linear da cana-planta aos 233 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG, **página 38.**

Tabela 15. Número de colmos da cana-planta por metro linear após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 187 e 181 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 40.**

Tabela 16. Teor de N em folhas da cana-planta aos 297 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 42.**

Tabela 17. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum Viridazoti* no teor de N em folhas da cana-planta aos 297 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG, **página 42.**

Tabela 18. Teor de N em folhas da cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 314 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 43.**

Tabela 19. Atividade da enzima beta-glicosidade na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum Viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 46.**

Tabela 20. Atividade da enzima arilsulfatase na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 47.**

Tabela 21. Atividade da enzima fosfatase ácida na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 48.**

Tabela 22. Atividade enzimática total (somatório das enzimas beta-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 49.**

Tabela 23. Carbono da biomassa microbiana (CBM) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 51.**

Tabela 24. Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG, **página 52.**

Tabela 25. Análise de contraste para avaliar o efeito da aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* na produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG, **página 52.**

Tabela 26. Produtividade de colmos (TCH) cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 56.**

Tabela 27. Produtividade de açúcar (TAH) cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 57.**

Tabela 28. Açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente, **página 59.**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 Adubação nitrogenada na cana-de-açúcar	10
2.2 Uso de microrganismos no manejo da cana-de-açúcar	12
2.3 Bactérias diazotróficas na cana-de-açúcar	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	106
3.1 Caracterização do inoculante	16
3.2 Áreas experimentais	16
3.2.1 <i>Experimento de Itapagipe - MG</i>	17
3.2.2 <i>Experimento de Itumbiara - GO</i>	18
3.2.3 <i>Experimento de Serrana - SP</i>	20
3.3 Delineamento experimental e tratamentos	22
3.4 Instalação e condução	23
3.5 Avaliações	25
3.5.1 <i>Número de perfilhos e colmos por metro linear</i>	25
3.5.2 <i>Teores foliares de N</i>	27
3.5.3 <i>Bioindicadores da saúde do solo</i>	29
3.5.4 <i>Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) a açúcar total recuperável (ATR)</i>	30
3.6 Análises estatísticas	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 <i>Número de perfilhos e colmos por metro linear</i>	35
4.2 <i>Teores foliares de N</i>	41
4.3 <i>Bioindicadores da saúde do solo</i>	43
4.4 <i>Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) a açúcar total recuperável (ATR)</i>	51
5. CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância socioeconômica no Brasil, cujo cultivo tem recebido destaque pela produção de matérias-primas para diversos fins, a exemplo do açúcar e do etanol, bem como, pela geração de empregos (Gualberto *et al.*, 2019). Dados fornecidos pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2024) demonstram que a produção brasileira de cana-de-açúcar, na safra de 2023/24, totalizou 713 milhões de toneladas, com acréscimos de 16,8% em relação à safra anterior.

A produtividade da cana-de-açúcar é regulada por diversos fatores de produção, com destaque para as condições de fertilidade do solo, as quais também viabilizam a sustentabilidade da cultura ao longo dos anos (Gualberto *et al.*, 2019). Dessa forma, grandes quantidades de fertilizantes são necessárias, sendo que, de acordo com dados publicados pela Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA), citados por Cherubin *et al.* (2019): a cana-de-açúcar é responsável por aproximadamente 14% do consumo de fertilizantes minerais no Brasil.

Dentre os nutrientes utilizados no manejo da adubação da cana-de-açúcar, destaca-se o nitrogênio (N), cujo suprimento adequado é necessário para o processo da fotossíntese e produção de proteínas vegetais (Reetz, 2017). No Brasil, em regiões com solos intemperizados e com baixos teores de matéria orgânica, recomenda-se a aplicação de aproximadamente 30 kg de N ha⁻¹ no sulco de plantio, bem como de 40 kg a 60 kg de N ha⁻¹ aos 120 dias após o plantio e, na cana-soca, aproximadamente 100 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹ (Korndörfer, 2018). Dentre os fertilizantes nitrogenados, o nitrato de amônio é o mais utilizado pela cultura, devido, principalmente, às perdas do nutriente no sistema solo-planta no ciclo da soqueira com a aplicação da ureia sobre a palha e sem a incorporação.

Neste sentido, Otto (2012) afirma que apenas 26% do N aplicado através de fertilizantes são absorvidos pela cana-de-açúcar, sendo 32% imobilizados no solo e 42% perdidos por volatilização de NH₃ (19%), lixiviação (5,6%), emissões de N₂O para a atmosfera e outras vias (16%). Dessa forma, apesar de conhecida a importância e a necessidade da adubação nitrogenada para o desenvolvimento adequado e obtenção de maiores produtividades, o uso contínuo de fertilizantes nitrogenados pode resultar na diminuição da eficiência do uso do N e, conseqüentemente, em impactos ambientais negativos (Desalegn *et al.*, 2023).

Atualmente, muito tem sido falado sobre a Política Nacional dos Biocombustíveis (RenovaBio), sancionada na forma da Lei Federal nº 13.576, em 26 de dezembro de 2017 (Brasil, 2017), a qual visa garantir a expansão da produção de biocombustíveis no Brasil, baseada na sustentabilidade, com ênfase na redução de emissões de gases de efeito estufa (GEE) (Matsura *et al.*, 2018). Assim como os combustíveis, um dos principais contribuintes para as emissões de GEE dos biocombustíveis é o consumo de fertilizantes sintéticos nitrogenados (Carvalho *et al.*, 2021), podendo, também, promover alterações abióticas que afetam as comunidades bacterianas no solo (Du *et al.*, 2019).

Dentre as estratégias que podem diminuir a entrada de fertilizantes nitrogenados e, assim, as emissões de N₂O para a atmosfera, destacam-se a otimização do uso de subprodutos (vinhaça e torta de filtro, por exemplo), o aumento do uso de adubo verde através da rotação de culturas e a inoculação com microrganismos fixadores de N e promotores de crescimento de plantas (Bordonal *et al.*, 2018). Nas últimas décadas, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a contribuição da fixação biológica de N (FBN) para diferentes variedades de cana-de-açúcar (Lima *et al.* 1987; Urquiaga *et al.* 1992, 2012; Martins *et al.*, 2020), entretanto, a contribuição da FBN no manejo da adubação nitrogenada para a cultura não evoluiu significativamente (Martins *et al.*, 2020).

As bactérias diazotróficas promovem o crescimento da cana-de-açúcar através da redução do N atmosférico para amônia (Reis *et al.*, 2020). Além disso, esses microrganismos são conhecidos por habitar os espaços intercelulares das raízes, melhorando a arquitetura das raízes e aumentando a absorção de nutrientes (Chaves *et al.* 2015; Girio *et al.* 2015). Outros benefícios dessas bactérias para a cana-de-açúcar também têm sido estudados, incluindo a produção de várias classes de fitohormônios, como auxinas (Van Broek *et al.* 2005), giberelinas, citocininas, além de outros efeitos na solubilização de P e Zn (Crespo *et al.* 2011; Saravanan *et al.* 2007) e redução de estresses sob condições de déficit hídrico (Matoso *et al.* 2020).

A espécie *Nitrospirillum viridazoti*, bactéria anteriormente classificada como espécie do gênero *Azospirillum*, foi isolada da rizosfera de cana-de-açúcar e, em seguida, reclassificada, apresentando grande potencial para uso em formulações de bioinoculantes para a cultura da cana-de-açúcar (Bonassi *et al.*, 2024). Sica *et al.* (2020) afirmam que a inoculação do *Nitrospirillum viridazoti* no cultivo da cana-de-açúcar pode resultar em ganhos de até 25% no rendimento de colmos e de açúcar em solos arenosos e com baixas doses de N, reduzindo os impactos ambientais negativos do sistema produtivo da cultura.

Entretanto, as respostas à inoculação com as bactérias dependem diretamente da variedade da cana-de-açúcar e das condições da fertilidade do solo, com melhores resultados em ambientes mais restritivos (Lopes *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2006).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de um inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio da cana-de-açúcar e diferentes doses de N na operação do quebra-lombo no desenvolvimento, produtividade e qualidade da matéria-prima da cana-planta, bem como nos teores foliares de N e nos bioindicadores da saúde do solo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Adubação nitrogenada na cana-de-açúcar

A adubação é uma prática indispensável para alcançar produtividades economicamente viáveis em canaviais comerciais. Assim, altas doses de fertilizantes são aplicadas, especialmente para o N, que é um dos nutrientes mais exigidos pela cana-de-açúcar. O N é essencial para o desenvolvimento da cultura, visto que está relacionado com importantes processos nos vegetais, como a fotossíntese e a síntese de proteínas (Carvalho *et al.*, 2021).

A cana-de-açúcar pode extrair mais de 200 kg de N para cada 100 t ha⁻¹ de colmos produzidos, sendo que deste montante, 90 a 100 kg são removidos na colheita (Schultz, Reis, Urquiaga, 2015). Esta alta demanda por N resulta em recomendações de elevadas doses de fertilizantes nitrogenados, fornecendo, por exemplo, aproximadamente 30 kg de N ha⁻¹ no sulco de plantio, 40 kg a 60 kg de N ha⁻¹ na operação do quebra-lombo e, na cana-soca, cerca de 100 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹ (Korndörfer, 2018).

O setor canavieiro, portanto, impulsiona o mercado de fertilizantes e, por consequência, o surgimento de estratégias para maximizar seus usos. Entretanto, as perdas que o N sofre no sistema solo-planta, principalmente por volatilização, lixiviação e desnitrificação (Cantarella *et al.*, 2007), são preocupações atuais enfrentadas pelo setor. Um complexo desafio, por exemplo, é o manejo do N na cana-soca, uma vez que a área fica com bastante palhada proveniente da colheita da safra anterior, o que dificulta a incorporação dos fertilizantes ao solo e potencializa as perdas por volatilização do N adicionado via adubação, sobretudo quando se utiliza a ureia (Gualberto *et al.*, 2019). Além desta, existem outras possibilidades de perda, podendo chegar a 50% do N aplicado em áreas com cultivo intensivo de cana-de-açúcar (Takeda *et al.*, 2021).

É importante ressaltar que a volatilização do N₂O, que é um gás 265 vezes mais potente do que CO₂, em termos de potencial efeito estufa (Myhre *et al.*, 2013), também é uma preocupação ambiental para os produtores. Lopes (2017) afirma que as adubações resultam no aumento nas emissões de N₂O, sendo que Ding *et al.* (2007) constataram que a aplicação de 250 kg ha⁻¹ de N para a cultura do milho, via adubação, resultou em um aumento de 85% nas emissões de N₂O, em comparação às parcelas sem adubação nitrogenada.

Este cenário estimula a busca por manejos mais eficientes e o surgimento de políticas públicas para incentivar a redução de emissão de gases de efeito estufa (GEE)

em áreas agrícolas. O RENOVABIO, uma iniciativa lançada pelo Ministério de Minas e Energia, busca reconhecer todos os biocombustíveis na matriz energética brasileira, com o objetivo de promover a redução de emissões de GEE na produção, comercialização e uso de biocombustíveis (Ministério de Minas e Energia, 2017). Espera-se, portanto, que haja valorização dos produtores que adotam práticas sustentáveis, a exemplo do uso eficiente de fertilizantes e práticas que reduzam a dependência exclusiva dos fertilizantes, principalmente, dos nitrogenados.

Dessa forma, o manejo adequado no fornecimento de N para a cana-de-açúcar, além de ser uma prática agronômica essencial para a obtenção de maiores produtividades, desempenha um importante papel na conformidade do setor com as diretrizes do RENOVABIO, pois os produtores de cana podem contribuir para a mitigação das emissões de GEE e ainda melhorarem seus ganhos produtivos e rentabilidade econômica.

Dentre as práticas que visam o uso eficiente de fertilizante, ressaltam-se: o uso de fertilizantes com inibidores (Martins, 2017), o parcelamento da adubação, a incorporação do fertilizante ao solo (principalmente da ureia), a rotação de culturas, os cultivos integrados (Franco *et al.*, 2018), além de observar o manejo 4C dos fertilizantes (Guelfi, 2017). O fornecimento de N, por vias alternativas aos fertilizantes, também é uma importante estratégia para reduzir a dependência desses produtos e para alinhar as áreas de produção de cana aos princípios do RENOVABIO, melhorando a avaliação ambiental do biocombustível. Neste contexto, destaca-se o uso de microrganismos que auxiliam na fixação biológica do N (FBN).

2.2 Uso de microrganismos no manejo da cana-de-açúcar

Para obtenção de altas produtividades associadas a um manejo sustentável e ambientalmente correto, tem sido amplamente discutido em associações benéficas entre microrganismos e a cultura da cana-de-açúcar. O manejo com microrganismos é realidade constante nos campos no que diz respeito a pragas e doenças, entretanto, novas possibilidades vêm surgindo e ganhando ênfase com o passar dos anos, como é o caso de bactérias e fungos rizosféricos que promovem o crescimento da planta e uma maior absorção de nutrientes pelas raízes.

Os microrganismos do solo são importantes para a manutenção da fertilidade, estando envolvidos em diversos processos bioquímicos no solo. Por outro lado, a quantidade e qualidade das comunidades microbianas são afetadas pelo manejo dos solos, de modo que sua acidificação e degradação assolam a diversidade biológica, reduzindo a fertilidade do mesmo, o que é observado em áreas com o monocultivo de cana (Pang *et al.*, 2021). Autores avaliaram três áreas com cana-de-açúcar e observaram que o monocultivo induziu a acidificação do solo e teve efeitos negativos nos indicadores de fertilidade, a exemplo de matéria orgânica, N, carbono total e teor de potássio (K) disponível (Tayyab *et al.*, 2021).

Diante do exposto, faz-se necessário o enriquecimento da comunidade microbiana do solo na busca por maiores produtividades e um cultivo mais sustentável (Liu *et al.*, 2021). São vários os microrganismos estudados e com resultados positivos para a cultura da cana, dentre eles o *Bacillus subtilis* na minimização de efeitos da seca (Fonseca *et al.*, 2022), *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* na absorção de fósforo (P) e N (Rosa *et al.*, 2022), a fixação biológica de nitrogênio pela inoculação com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e bactérias diazotróficas (Saranraj *et al.*, 2021), o *Herbaspirillum seropedicae* que pode auxiliar no crescimento da planta e melhorar a absorção de nutrientes pela cultura (Baldani *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2002) e o *Nitrospirillum viridazoti* que promove melhorias nas características agronômicas e na produtividade da cana (Reis *et al.*, 2020; Bonassi *et al.*, 2024).

Além dos microrganismos supracitados, alguns fungos micorrízicos que auxiliam na absorção de nutrientes, em especial do P, também têm sido estudados no cultivo da cana, como é o caso de *Glomus spp.* (Smith e Read, 2008). Outro fungo bastante estudado na cultura é o *Trichoderma (harzianum e asperellum)* que, além de atuar no controle de patógenos, pode promover o crescimento vegetal e incrementos na produtividade, bem

como reduzir estresse por seca (Shukla *et al.*, 2022; Kumar *et al.*, 2024; Scudeletti, *et al.*, 2021).

Em suma, diversos autores afirmam que todos esses microrganismos contribuem de várias formas para o crescimento das plantas, atuando na síntese de fitohormônios, metabólitos secundários, no desenvolvimento radicular, na maior absorção de água e nutrientes, na solubilização de P, na fixação biológica de nitrogênio, na tolerância a estresses, dentre outros (Kuhad *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2019; Galindo *et al.*, 2020).

2.3 Bactérias diazotróficas na cana-de-açúcar

As bactérias diazotróficas são microrganismos que desempenham um interessante papel na agricultura mundial, pois são capazes de fixar o N_2 atmosférico e convertê-lo em formas passíveis de assimilação pelas culturas. Devido à complexa dinâmica de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura da cana-de-açúcar, essas bactérias têm sido bastante utilizadas para fornecer parte do N requerido pela cultura, reduzindo perdas do N-fertilizante e aumentando a eficiência ambiental dos manejos adotados nos canaviais, ajustando-o às propostas do RENOVABIO, por exemplo.

A fixação de N é importante fornecedora do nutriente para a cultura, sendo um resultado da atuação da bactéria na transformação do N_2 a NO_3^- e NH_4^+ . A enzima nitrogenase é quem catalisa esta transformação, a qual é favorecida pelas bactérias que podem prover um microambiente favorável à sua atividade, visto que há exigência de ATP e energia redutora, bem como baixas concentrações de oxigênio para eficiência do processo (Li, 2024; Singh *et al.*, 2022).

As bactérias fixadoras de N em cana-de-açúcar também são avaliadas no controle de doenças e na melhoria do desempenho da cultura em condições de estresse. Estudos evidenciam que estas bactérias induzem à formação de agentes químicos relacionados à defesa da planta e também à formação de proteínas protetoras do estresse, conferindo maior resistência à planta hospedeira (Singh *et al.*, 2021). Além disso, podem promover o crescimento das plantas através da produção de fitohormônios, aumentando a absorção de nutrientes e proporcionando resistência contra patógenos (Spaepen *et al.*, 2007; Li, 2024).

Dentre os fitohormônios e compostos produzidos em razão da associação da planta com essas bactérias, citam-se a auxina, giberelina, etileno, a síntese de sideróforos, ácido indol-3-acético, amônia, cianeto de hidrogênio (HCN) e enzimas hidrolisantes, além de propiciar a solubilização de fósforo e zinco (Van Broek *et al.*, 2005; Saravanan *et al.*,

2007; Singh *et al.*, 2021), o que leva à caracterização dessas bactérias como promotoras de crescimento vegetal.

As bactérias diazotróficas podem ser encontradas em vários ambientes, como na rizosfera, nos tecidos radiculares e em tecidos endofíticos vegetais (Li, 2024). As espécies endofíticas podem proporcionar um melhor ambiente para fixação de N devido à não competição com outros microrganismos presentes na rizosfera (Reinhold-Hurek e Hurek, 1998). Neste caso, a colonização ocorre pela habilidade da bactéria penetrar o tecido da planta, sendo encontradas em vasos do xilema e em camadas externas do córtex, espalhando-se, posteriormente, para a parte aérea da planta, aparentemente, via xilema (Reinhold-Hurek e Hurek, 1998). Uma vez dentro da planta, as bactérias interagem melhor com as células vegetais, ocasionando os benefícios supracitados.

São várias as bactérias fixadoras de N utilizadas em gramíneas, tais como: *Azospirillum brasilense*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Nitrospirillum viridazoti*, *Pseudomonas* (*P. koreensis* CY4 e *P. entomophila* CN11), *Pantoea cypripedii*, *Kosakonia arachidis* (Ribeiro *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2023; Martins *et al.*, 2020; Fonseca Lopez *et al.*, 2024).

Dentre essas bactérias, destaca-se, especialmente no Brasil, a *Nitrospirillum viridazoti*, que vem ganhando espaço em cultivos com cana-de-açúcar. Esta bactéria pertencia, anteriormente, ao gênero *Azospirillum* e foi reclassificada por Lin *et al.* (2014) para o gênero *Nitrospirillum* e recentemente reclassificada em uma nova espécie, a *Nitrospirillum viridazoti* (Baldani *et al.*, 2024). Trata-se de uma bactéria Gram-negativa, de vida livre e móvel, que forma colônia, predominantemente, na superfície das raízes, onde ocorre a simbiose com a cultura (Cavalcante; Döbereiner, 1988). Estudos genéticos foram feitos para evidenciar a fixação de N pela *Nitrospirillum viridazoti*, demonstrando funções na regulação no metabolismo de N e transferência de elétrons para a nitrogenase, além de grupos de genes para o complexo da enzima nitrogenase (nifHDK, nifUSV, nifENX, nifA) (Potrich *et al.*, 2001, Sant'anna *et al.*, 2011 citados por Terra, 2018).

Neste sentido, a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* foi encontrada em diversas plantas no Brasil, inclusive em variedades de cana-de-açúcar, nas quais se fez a seleção de estirpes para a fabricação de inoculantes para o setor sucroenergético (Terra, 2018). Ressalta-se, ainda, que esta bactéria apresenta capacidade de usar a sacarose como fonte

de carbono (Magalhães *et al.*, 1983; Schwab, Terra e Baldani, 2018) o que favorece ainda mais a simbiose com a cultura da cana.

Muitos estudos têm sido realizados visando avaliar a inoculação com *Nitrospirillum viridazoti* em canaviais, através de aplicações juntamente aos biofertilizantes (Bonassi *et al.*, 2024), bem como associada à vinhaça (Pereira e Rosa-Magri, 2021), inoculada em consórcio de estirpes (Santos *et al.*, 2017) ou até mesmo em aplicações foliares. Entretanto, a forma mais comum são aplicações no sulco de plantio após a distribuição dos toletes.

Neste contexto, a fixação do N através do uso do *Nitrospirillum viridazoti* consiste em uma fonte direta de nutriente para a planta, favorecendo a produtividade dos cultivos. Alguns resultados demonstram que a inoculação com bactérias diazotróficas aumentou significativamente o acúmulo total de N no tecido aéreo da cana, passando de 147 a 199 kg ha⁻¹ de N (cultivar RB867515) e de 126 a 192 kg ha⁻¹ de N (cultivar RB92579) (Martins *et al.*, 2020).

Resultados também apontam efeitos benéficos do *Nitrospirillum viridazoti* em parâmetros quantitativos e qualitativos, nos quais os autores observaram aumentos de 20% (27,5 t ha⁻¹) na produtividade de colmos e de 25% (4,6 t ha⁻¹) na produtividade de açúcar ao se avaliar a inoculação de um produto comercial, na dose de 1 L ha⁻¹, em comparação com parcelas sem inoculação (Sica *et al.*, 2020). Reis *et al.* (2020), encontraram aumento de cerca de 13% no perfilhamento da cultura após a aplicação de inoculante a base de *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio. Ademais, esses autores observaram aumentos na produtividade da cana em certas doses do inoculante, com ganhos de até 18,1 toneladas de colmos por hectare em relação à testemunha com adubação mineral (Reis *et al.*, 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do inoculante

O inoculante a base de *Nitrospirillum viridazoti*, estirpe BR11145, cujo uso é recomendado como inoculante, trata-se de um produto líquido e de cor castanha, com densidade de $1,0 \text{ g cm}^{-3}$, o qual foi desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em parceria com outras instituições privadas.

3.2 Áreas experimentais

Três experimentos foram conduzidos entre os anos de 2020 a 2023 em usinas sucroenergéticas localizadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Goiás, conforme a figura abaixo (Figura 1).

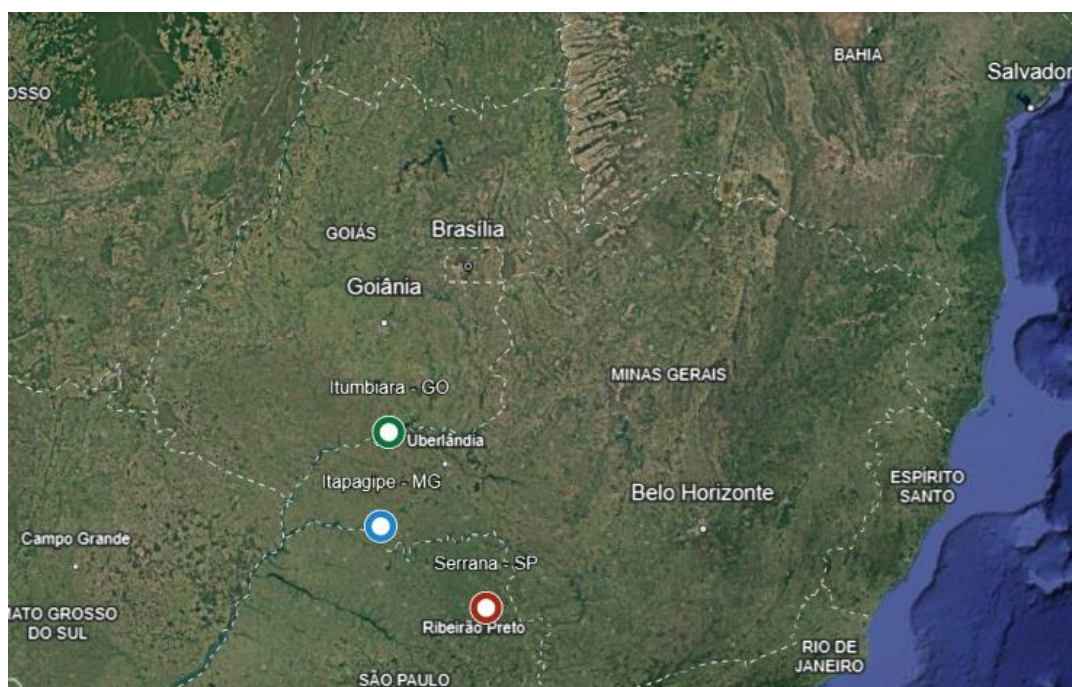


Figura 1. Localização das áreas experimentais. Fonte: Google Earth.

As áreas experimentais diferenciavam entre si quanto às variedades plantadas, às classes texturais do solo, ao ambiente de produção, ao clima, à pluviosidade e ao histórico de manejo. Por outro lado, todos os experimentos foram instalados no ciclo da cana-planta, com aplicação do inoculante no sulco de plantio e variação de doses de nitrogênio em cobertura, na operação de quebra-lombo. A operação de quebra-lombo ocorre de 45 a 90 dias após o plantio, a qual consiste no nivelamento do solo nas entrelinhas de plantio e adubação de cobertura. Mais detalhes sobre as características e manejos adotados em cada área experimental serão descritos a seguir.

3.2.1 Experimento em Itapagipe – MG

O experimento foi instalado em julho de 2020 em área de produção de cana-de-açúcar da bpBunge Bioenergia, localizada na fazenda Boa Fé, talhão 20007, município de Itapagipe – MG (19°54'49.4"S 49°28'16.4"W) (Figura 2).



Figura 2. Área experimental do ensaio conduzido em Itapagipe – MG

O ambiente de produção foi classificado como E, sendo um solo classificado como LATOSSOLO VERMELHO Ácrico (EMBRAPA, 2009), com 70% de argila, cujas características químicas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento em Itapagipe – MG

Prof	pH	P	S	K	Ca	Mg	Al	MO	B	Cu	Fe	Mn	Zn	T	V
		mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³			%			mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³	%
0-20	5,8	5	36	0,1	3	0,8	0	3	0,3	4	10	8	0,7	6	57
20-40	5,3	4	46	0,1	2	0,7	0	3	0,3	4	12	10	0,4	6	54

pH: CaCl₂; P e K: Mehlich-1; S: Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹; Al, Ca, Mg: KCl 1 mol L⁻¹; MO: K₂Cr₂O₇; B: BaCl₂; Cu, Fe, Mn e Zn: DTPA; T: CTC a pH 7; V: saturação por bases (Silva, 2009).

O preparo do solo antecedendo a instalação do experimento foi realizado com subsolador e a área recebeu, antes do plantio da cana, 2,8 t ha⁻¹ de calcário dolomítico, 1,0 t ha⁻¹ de fosfato e 3,1 t ha⁻¹ de gesso agrícola. Além disso, não foram cultivadas culturas

de rotação antes do plantio da cana. No plantio, realizou-se adubação somente de P através da fonte superfosfato triplo na dose de 150 kg ha^{-1} de P_2O_5 .

Além do mais, utilizou-se a variedade SP 95-5094 (cana-planta), a qual apresenta porte semiereto, produtividade elevada, ótima brotação de soqueira, ausência de florescimento e ótimo desempenho em plantio de inverno. Ademais, esta variedade é recomendada para ambientes médios-favoráveis e para colheitas dos meses de maio a setembro (Socicana, 2012).

No quebra-lombo, aos 59 dias após o plantio, realizou-se a adubação nitrogenada com nitrato de amônio, variando as doses de N conforme os tratamentos e a aplicação de KCl, em todas as parcelas, na dose de 100 kg ha^{-1} de K_2O (Figura 3). A usina não possuía estação meteorológica no período de condução do experimento, não constando os registros de precipitação pluviométrica.



Figura 3. Adubação de quebra-lombo do ensaio conduzido em Itapagipe – MG

3.2.2 Experimento em Itumbiara – GO

O experimento foi instalado em abril de 2022 em área de produção de cana-de-açúcar da bpBunge Bioenergia, fazenda 100348, talhão 22011, município de Itumbiara – GO ($8^{\circ}24'36.8''\text{S}$ $49^{\circ}17'31.0''\text{W}$). O ambiente de produção foi classificado como B/C, sendo um solo classificado como LATOSSOLO VERMELHO Distrófico (EMBRAPA, 2009), com 43% de argila, cujas características químicas estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento de Itumbiara - GO

Prof	pH	P	S	K	Ca	Mg	Al	MO	B	Cu	Fe	Mn	Zn	T	V
		mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³			%			mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³	%
0-20	5,5	20	10	0,2	6	2	0	5	0,5	3,2	15	3	0,9	12	69
20-40	5,3	15	8	0,1	5	1	0	4	0,4	0,3	14	2	0,8	10	61

pH: CaCl₂; P e K: Mehlich-1; S: Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹; Al, Ca, Mg: KCl 1 mol L⁻¹; MO: K₂Cr₂O₇; B: BaCl₂; Cu, Fe, Mn e Zn: DTPA; T: CTC a pH 7; V: saturação por bases (Silva, 2009).

O preparo do solo antecedendo a instalação do experimento foi realizado com subsolador. A área recebeu, ainda, antes do plantio da cana, 2,5 t ha⁻¹ de calcário dolomítico, 2,9 t ha⁻¹ de fosfato e 1,0 t ha⁻¹ de gesso agrícola. Não houve rotação de cultura antecedendo o cultivo da cana. No plantio, realizou-se adubação somente com P, proveniente do Superfosfato Triplo, sendo que todas as parcelas receberam a mesma dose (150 kg ha⁻¹ de P₂O₅).

No mais, utilizou-se a variedade RB966928 (cana-planta), a qual apresenta excelente germinação em canaplanta, boa brotação em soqueiras, alto perfilhamento excelente fechamento de entrelinhas, elevada produtividade agrícola e maturação de precoce a média. Além disso, esta variedade é recomendada para ambientes de médio a alto potencial, com colheita no início a meio de safra (Ridesa, 2010).

O nitrato de amônio foi aplicado aos 89 dias após o plantio, de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira (Figura 4). Nesta mesma data, também foi realizada a adubação com K, via 711 L ha⁻¹ da formulação 00-00-17 (120 kg ha⁻¹ de K₂O) em todas as parcelas, seguindo a recomendação da usina.



Figura 4. Operação de quebra-lombo do ensaio conduzido em Itumbiara – GO

Na Tabela 3 estão descritos os valores de precipitação pluviométrica da área registrados pela estação meteorológica da usina.

Tabela 3. Histórico de pluviometria (mm) da área de instalação do experimento em Itumbiara – GO

2022									2023			
Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr
67	70	15	0	0	89	100	108	375	466	113	183	127

Fonte: Estação meteorológica da bpBunge Bioenergia, unidade Itumbiara – GO.

3.2.3 Experimento em Serrana – SP

O experimento em Serrana - SP foi instalado em março de 2022 na área de produção de cana-de-açúcar da Usina da Pedra, fazenda 10008 Santa Eugênia, talhão 25, município de Serrana – SP (21°23'13.6"S 47°30'34.9"W). O ambiente de produção foi classificado como D, sendo um LATOSSOLO VERMELHO Álico, com 44% de argila, cujas características químicas estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização química do solo da área de instalação do experimento em Serrana – SP

Prof	pH	P	S	K	Ca	Mg	Al	MO	B	Cu	Fe	Mn	Zn	T	V
		mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³			%			mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³	%
0-20	5,5	12	5	0,1	4	1	0	2	0,1	2	7	1	5	7	66
20-40	5,2	8	4	0,05	3	01	0	2	0,2	2	7	1	1	6	65

pH: CaCl₂; P e K: Mehlich-1; S: Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹; Al, Ca, Mg: KCl 1 mol L⁻¹; MO: K₂Cr₂O₇; B: BaCl₂; Cu, Fe, Mn e Zn: DTPA; T: CTC a pH 7; V: saturação por bases (Silva, 2009).

O preparo do solo, antecedendo a instalação do experimento, foi realizado com subsolador. Além disso, a área foi rotacionada com a cultura da soja, recebendo, antes do plantio da leguminosa, 1 t ha⁻¹ de calcário dolomítico, 1,08 t ha⁻¹ de fosfato e 1,0 t ha⁻¹ de gesso agrícola. No plantio, realizou-se adubação somente com P, proveniente do Superfosfato Triplo, sendo que todas as parcelas receberam a mesma dose (150 kg ha⁻¹ de P₂O₅).

Ainda, utilizou-se a variedade RB867515 (cana-planta) (Figura 5), a qual apresenta tolerância à seca e boa brotação de soqueira, bem como alto teor de sacarose, crescimento rápido com alta produtividade. Além disso, esta variedade é recomendada para ambiente de produção de média fertilidade natural e para colheita entre os meses de julho e setembro (Ridesa, 2010).



Figura 5. Plantio da cana-de-açúcar no ensaio conduzido em Serrana – SP

O nitrato de amônio foi aplicado aos 91 dias após o plantio, de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira. Nesta mesma data, também foi realizada a adubação com K, via KCl, na dose de 80 kg ha⁻¹ de K₂O para todas as parcelas, seguindo a recomendação da usina.

Na Tabela 5 estão descritos os valores de precipitação pluviométrica da área registrados pela estação meteorológica da usina.

Tabela 5. Histórico de pluviometria (mm) da área de instalação do experimento em Serrana – SP

Serraia - SP														
2022										2023				
Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai
220	71	34	0	0	0	118	181	167	461	426	185	157	110	0

Fonte: Estação meteorológica da Usina da Pedra, Serrana – SP.

Observa-se na tabela 6 o resumo com as características de cada área experimental.

Tabela 6. Resumo da descrição das áreas de cada experimento

Experimento	Solo	Ambiente de produção	Variedade
Itapagipe - MG	LATOSSOLO VERMELHO Ácrico 70% de argila	E	SP955094
Itumbiara - GO	LATOSSOLO VERMELHO Distrófico 43% de argila	B/C	RB966928
Serrana - SP	LATOSSOLO VERMELHO Álico 44% de argila	D	RB867515

3.3 Delineamento experimental e tratamentos

Na área de Itapagipe - MG, o experimento foi conduzido em blocos casualizados com quatro repetições, contendo 5 tratamentos, sendo 4 deles com a presença da bactéria associada às diferentes doses de N (0, 30, 45 e 60 kg ha⁻¹ de N) e um tratamento controle sem o *Nitrospirillum viridazoti* e com 60 kg ha⁻¹ de N (Tabela 7).

Os experimentos instalados em Itumbiara – GO e Serrana – SP foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições e em esquema fatorial 2 x 4, sendo com e sem a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* e 4 doses de N no quebra-lombo (0, 20, 40 e 60 kg ha⁻¹ de N) (Tabela 8).

Em todas as áreas, as parcelas foram constituídas por 5 linhas de cana-de-açúcar com 10 m de comprimento e espaçadas 1,5 m entre si. A área de cultivo de cada parcela foi de 75 m², sendo que, entre cada uma das parcelas, adotou-se ainda um espaçamento de 3 m nas cabeceiras.

Tabela 7. Produtos e doses utilizadas no experimento conduzido em Itapagipe – MG

Dose de <i>Nitrospirillum viridazoti</i> (L ha ⁻¹)	Dose de N no quebra-lombo (kg ha ⁻¹)
1,0	0
1,0	30
1,0	45
1,0	60
0	60

N: Nitrato de amônio aplicado na adubação de cobertura (quebra-lombo).

Tabela 8. Produtos e doses utilizadas nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP

Dose de <i>Nitrospirillum viridazoti</i> (L ha ⁻¹)	Dose de N no quebra-lombo (kg ha ⁻¹)
1,2	0
1,2	20
1,2	40
1,2	60
0	0
0	20
0	40
0	60

N: Nitrato de amônio aplicado na adubação de cobertura (quebra-lombo).

3.4 Instalação e condução

A aplicação do *Nitrospirillum viridazoti* foi realizada por meio de jato dirigido sobre os toletes, após a distribuição dos mesmos no fundo do sulco de plantio e antes da cobertura. Para isto, foi utilizado pulverizador costal pressurizado a CO₂, com volume de calda de aproximadamente 270 L ha⁻¹ (Figura 6). Ressalta-se ainda que todos os tratamentos, nas três áreas experimentais, receberam o Muneo[®] (inseticida e fungicida - BASF) na dose de 0,8 L ha⁻¹ no momento do plantio.



Figura 6. Aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* com pulverizador costal pressurizado a CO₂ no experimento de Itumbiara – GO

O nitrato de amônio foi aplicado de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira (Figura 7).



Figura 7. Aplicação manual do nitrato de amônio na operação do quebra-lombo, sobre a linha de brotação da soqueira, no experimento de Serrana – SP

Os experimentos foram conduzidos no ciclo da cana-planta, sendo que a condução e manutenção do experimento, ou seja, o controle fitossanitário, a realização de adubações complementares e afins, foram realizados pela equipe das usinas, de acordo com o manejo recomendado para cada área, assegurando que não houvesse interferência nos tratamentos.

3.5 Avaliações

Em todas as áreas foram realizadas as seguintes avaliações: número de perfilhos e colmos por metro linear, teores foliares de N, bioindicadores da saúde do solo, produtividade de colmos, produtividade de açúcar e açúcar total recuperável da cana-de-açúcar, as quais serão detalhadas a seguir.

3.5.1 *Número de perfilhos e colmos por metro linear*

Aproximadamente 90 dias após a aplicação dos tratamentos (Figura 8), realizou-se a contagem do número de perfilhos presentes nas três linhas centrais de cada parcela. Nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP, não foi realizada a adubação de cobertura com nitrogênio na data da contagem de perfilhos, portanto, foi avaliada somente a presença e ausência da bactéria *Nitrospirillum viridazoti*.



Figura 8. Visual da cana no momento da contagem de perfilhos, aos 89 dias após o plantio, em Itumbiara – GO

Uma segunda contagem foi realizada após a estabilização do perfilhamento, aproximadamente 180 dias posteriormente à aplicação dos tratamentos (Figura 9), neste caso realizando a contagem de colmos. A relação do número total de perfilhos ou colmos obtidos pelo total de metros lineares avaliados, resulta nos números de perfilhos ou colmos por metro linear.



Figura 9. Visual da cana no momento da contagem de colmos, aos 181 dias após o plantio, em Serrana – SP

3.5.2 *Teores foliares de N*

Em todas as áreas foram coletas folhas descritas como Top Visible Dewlap (TVD) (Figura 10), a qual é definida como a primeira folha com a lígula visível, sendo considerada a folha diagnóstica para a análise foliar na cana-de-açúcar.

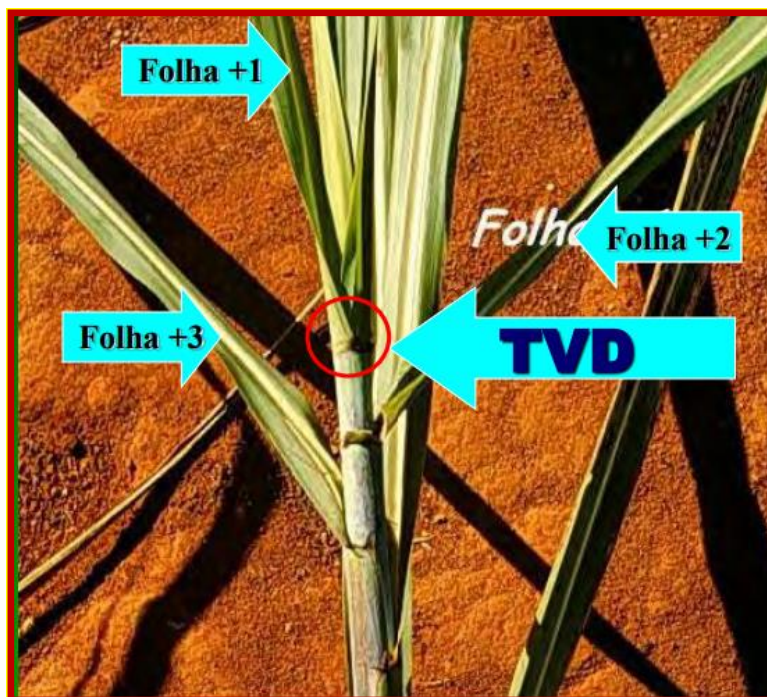


Figura 10. Folha TVD coletada no experimento de Itapagipe – MG. Folha diagnóstica utilizada para análise foliar na cultura da cana-de-açúcar

Assim, foram coletadas quatro folhas em cada uma das três linhas centrais, totalizando 12 folhas por parcela, das quais foram retirados o terço médio e a nervura central (Figura 11), para a posterior análise dos teores de N, seguindo metodologia proposta por Silva (2009).

(a)



(b)



Figura 11. Retirada do terço médio (a) e da nervura central (b), para envio ao laboratório, das folhas coletadas em Serrana – SP

3.5.3 *Bioindicadores da saúde do solo (BioAS)*

A amostragem de solo para análise dos bioindicadores da saúde do solo foi realizada com solo úmido, na profundidade de 0-10 cm de solo e ao lado da linha de brotação da soqueira (Figura 12). Desse modo, foi coletado um ponto em cada uma das três linhas centrais e as amostras foram encaminhadas para o laboratório a fim de analisar a atividade das enzimas arilsulfatase, beta-glicosidase e fosfatase ácida, bem como do carbono da biomassa microbiana (CBM) seguindo a metodologia proposta no manual BioAS da EMBRAPA (Mendes *et al.*, 2018).



Figura 12. Ponto de coleta de amostra de solo para análises dos bioindicadores da saúde do solo

3.5.4 Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR)

Em todas as áreas, a cana-de-açúcar foi colhida crua e de forma manual, através do corte de 1 metro linear de cada linha central, totalizando 3 metros lineares por parcela. A pesagem da cana-de-açúcar colhida foi realizada com o auxílio de balança acoplada a um tripé de sustentação (Figura 13), determinando-se, assim, o peso de cada uma das linhas avaliadas. A produtividade foi determinada convertendo os pesos obtidos para $t\ ha^{-1}$, obtendo-se os valores de toneladas de colmos por hectare (TCH).



Figura 13. Pesagem da cana-de-açúcar colhida com o auxílio de balança acoplada ao tripé no experimento de Itapagipe – MG

Para a obtenção dos valores de açúcar total recuperável (ATR), também descrito como qualidade da matéria-prima, foram amostrados 10 colmos dentre os colhidos e, em seguida, os materiais obtidos foram submetidos à análise tecnológica, seguindo a metodologia proposta por Consecana (2006). Dessa forma, determinou-se o açúcar total recuperável por tonelada de colmos (ATR em kg t^{-1}), já através dos valores de TCH e ATR, torna-se possível o cálculo dos valores de toneladas de açúcar por hectare (TAH em t ha^{-1}), conforme equação abaixo:

$$TAH = \frac{TCH \times ATR}{1.000}$$

Na Tabela 9 está apresentado o resumo com as datas das avaliações de cada experimento:

Tabela 9. Resumo da descrição das áreas e datas das avaliações de cada experimento

Experimento	Data					
	Instalação	Adubação nitrogenada	Contagem de perfilhos/colmos	Coleta de folhas	Coleta de solo (BioAS)	Colheita
Itapagipe - MG	01/06/20	05/07/20 (59 DAA)	28/08/20 e 20/01/21 (88 e 233 DAA)	25/03/21 (297 DAA)	14/10/21 (500 DAA)	29/04/21 332 (DAA)
Itumbiara - GO	09/04/22	07/07/22 (89 DAA)	07/07/22 e 13/10/22 (89 e 187 DAA)	17/02/23 (314 DAA)	03/02/23 (332 DAA)	05/04/23 (361 DAA)
Serrana - SP	24/03/22	23/06/22 (91 DAA)	21/06/22 e 21/09/22 (89 e 181 DAA)	09/02/23 (322 DAA)	09/02/23 (322 DAA)	18/05/23 (420 DAA)

DAA: Dias após a aplicação dos tratamentos no sulco de plantio.

3.6 Análises estatísticas

Inicialmente, foram testadas as pressuposições do modelo, ou seja, a existência de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias e efeitos aditivos entre os blocos pelos testes de Tukey, Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, todos a 0,01 de significância, utilizando-se o programa SPSS 17.0 (SPSS, 2008).

No experimento de Itapagipe – MG, realizou-se, com o auxílio do programa estatístico Sisvar (versão 5.3) (Ferreira, 2014), a comparação entre os produtos mediante a análise de variância e, em caso de significância do teste de F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 0,1 de significância. Além disso, visando comparar os tratamentos com *Nitrospirillum viridazoti* versus o tratamento sem *Nitrospirillum viridazoti*, realizou-se a análise de contraste através dos testes de Scheffé e t Student a 0,1 de significância com auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2014). Neste mesmo experimento, também foi realizada a análise de regressão para as doses de N com auxílio dos programas estatísticos Sisvar (versão 5.3) (Ferreira, 2014) e SigmaPlot (versão 11.0) (Systat Software, 2008), a 0,1 de significância.

Para os experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana –SP foi realizada uma análise conjunta dos experimentos com estratificação dos locais, uma vez que os experimentos foram independentes e realizados com a mesma metodologia. A análise conjunta teve como objetivo avaliar se os locais afetam as variáveis analisadas, fazendo um fatorial triplo 2 x 4 x 2, ou seja, adicionando dois locais ao fatorial já existente. A análise conjunta estava disponível, porque a razão entre o maior e o menor quadrado médio residual de cada variável era menor que sete (Banzato; Kronka, 2006). Através da análise conjunta, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e pela análise de regressão com o auxílio dos softwares RStudio (versão 2024.04.0) (Posit Team, 2024) (teste de média) e Sisvar (versão 5.3) (Ferreira, 2014) (regressão), ambos a 0,1 de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Número de perfilhos e colmos por metro linear

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, através do teste de Tukey a 0,1 de significância, quanto ao perfilhamento da cana-planta aos 88 dias após a aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti*, no experimento conduzido em Itapagipe – SP (Tabela 10). Além disso, não foi obtido modelo de regressão significativo que demonstre o efeito das doses de N no perfilhamento da cana-planta.

Tabela 10. Número de perfilhos da cana-planta por metro linear aos 88 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Tratamento	Dose de N kg ha ⁻¹	Perfilho perfilho m ⁻¹
Com <i>N. viridazoti</i>	0	6,5 a
Com <i>N. viridazoti</i>	30	6,6 a
Com <i>N. viridazoti</i>	45	6,6 a
Com <i>N. viridazoti</i>	60	7,0 a
Sem <i>N. viridazoti</i>	60	5,9 a
Média		6,5

Perfilhos: CV: 14,8%.

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação aos 59 dias após o plantio (quebra-lombo) (07/20), de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira.

Variedade: SP 95-5094.

Entretanto, a análise de contraste demonstra que, ao se comparar os tratamentos que receberam a bactéria (médias das 4 doses de N) *versus* o tratamento sem bactéria, maior perfilhamento médio da cana-planta é obtido com a inoculação do *Nitrospirillum viridazoti*, com ganhos de 0,8 perfilhos por metro linear em comparação ao tratamento sem bactéria (Tabela 11).

Tabela 11. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no perfilhamento da cana-planta aos 88 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG

Comparações	Perfilho (perfilho m ⁻¹)
Com <i>N. viridazoti</i> (4 doses de N) x Sem <i>N. viridazoti</i>	(6,7)* x (5,9)

* Significativo pelo teste de t Student a 0,1 de significância.

O maior perfilhamento da cana-planta está associado ao efeito benéfico da bactéria diazotrófica na produção de hormônios responsáveis pela promoção de crescimento da cana-de-açúcar (Viana *et al.*, 2019), sendo que, de acordo com Tomlinson e O'Connor (2004), a auxina e a giberilina exercem papel importante no processo de perfilhamento de gramíneas. As bactérias diazotróficas promovem crescimento por produção de hormônios vegetais, principalmente auxinas e giberelinas (Santos *et al.*, 2017). A aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* pode ter influenciado neste resultado.

As bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal também produzem a enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) deaminase (Ferreira *et al.*, 2020), a qual contribui para o desenvolvimento vegetal ao reduzir os níveis de etileno nas plantas, promovendo seu crescimento (Facco *et al.*, 2024). O etileno é um hormônio vegetal gasoso liberado em condições de estímulos abióticos e/ou bióticos internos e ambientais que regulam diversos processos de crescimento e desenvolvimento das plantas (Pei *et al.*, 2017; Ferreira *et al.*, 2020). Mishra *et al.* (2014) afirmam que o etileno é o principal fito-hormônio regulador do processo de perfilhamento na cultura.

Além da produção hormonal e da enzima ACC deaminase, o potencial do *Nitrospirillum viridazoti* em promover a fixação biológica de N pode ter influenciado positivamente no perfilhamento da cana-planta, uma vez que o N é um dos principais nutrientes utilizados pela planta durante este processo. Desta forma, o N absorvido pelas raízes ou fixado da atmosfera através de bactérias diazotróficas, a exemplo do *Nitrospirillum viridazoti*, aumenta a atividade meristemática da parte aérea, resultando em maior perfilhamento (Oliveira *et al.*, 2007).

Por outro lado, não foi observada resposta à adubação nitrogenada mineral quanto ao perfilhamento da cana-planta neste experimento. Esse fato pode estar associado à época de aplicação do fertilizante mineral e da avaliação do perfilhamento da cana-planta. Assim, nota-se que a adubação nitrogenada foi realizada no período seco (julho de 2020), sem a incidência de chuvas, retardando a disponibilização deste nutriente para a cultura. Associado a isso, a contagem do número de perfilhos por metro linear foi realizada antes do início das chuvas (agosto de 2020), diminuindo as chances de se avaliar o efeito da adubação nitrogenada mineral neste processo fisiológico.

Na tabela 12 estão descritos os resultados de perfilhamento da cana-planta nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP. Uma vez que, nesses experimentos, a contagem de perfilhos foi realizada antes da adubação nitrogenada, avaliaram-se somente a presença e a ausência da bactéria nas duas áreas experimentais.

Tabela 12. Número de perfilhos da cana-planta por metro linear aos 89 dias após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio, na operação de quebra-lombo nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP

Produto	Perfilho (perfilho m ⁻¹)		Média
	Local		
	Itumbiara - GO	Serrana - SP	
Com <i>N. Viridazoti</i>	10,0 aA	10,0 aA	10,0
Sem <i>N. Viridazoti</i>	10,0 aA	8,6 bB	9,3
Médias	10,0	9,3	

CV: 13,0%

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

De modo geral, não foi observado efeito da inoculação da bactéria no perfilhamento da cana-planta no experimento conduzido em Itumbiara – GO. Por outro lado, ao se avaliar o perfilhamento da cana na área de Serrana – SP, nota-se que o melhor resultado foi obtido com a presença do *Nitrospirillum viridazoti*, resultando em acréscimos médios de 16% em relação ao tratamento que não recebeu o inoculante (Tabela 12). Assim como observado na área de Itapagipe – MG, tais resultados estão associados aos efeitos benéficos das bactérias na produção de hormônios e enzimas e na FBN.

Reis *et al.* (2020) também observaram efeitos positivos da inoculação com bactéria diazotróficas no perfilhamento da cana-de-açúcar, observando-se ganhos de 13% em relação aos tratamentos sem inoculação. Os mesmos autores afirmam que o perfilhamento é um dos componentes que influenciam na produtividade da cana-de-açúcar, podendo-se observar maiores valores de produção de colmos nos tratamentos que aumentam a expressão desta característica (Reis *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010).

Além disso, observa-se que, quando não há a adição do *Nitrospirillum viridazoti*, a área de Itumbiara – GO apresenta perfilhamento superior ao observado em Serrana – SP, com acréscimos de 1,4 perfilhos por metro linear (Tabela 12). De modo geral, a área de Itumbiara – GO apresenta melhores condições de fertilidade do solo, com maiores

teores de fósforo (P) e matéria orgânica do solo (MOS). De acordo com Manhães *et al.* (2015) dentre os elementos minerais, o P é um dos elementos primordiais para um bom perfilhamento, sendo que o perfilhamento tem sido menor em solos de baixa fertilidade.

Uma segunda contagem da população da cana-de-açúcar foi realizada nas áreas experimentais dentre 180 a 230 dias após a aplicação do inoculante no sulco de plantio. Nessa avaliação, foi considerado o número de colmos por metro linear, uma vez que, de acordo Diola e Santas (2010), aos 180 dias após o plantio, pelo menos 50% dos perfilhos morrem e uma população estável é estabelecida, sendo formados os colmos.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, através dos testes de Tukey ou análise de contraste, ambos a 0,1 de significância, quanto ao número de colmos aos 233 dias após a aplicação do inoculante em Itapagipe – MG (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13. Número de colmos da cana-planta por metro linear aos 233 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Tratamento	Dose de N (kg ha ⁻¹)	Colmos (colmo m ⁻¹)
Com <i>N. viridazoti</i>	0	18,7 a
Com <i>N. viridazoti</i>	30	19,1 a
Com <i>N. viridazoti</i>	45	19,3 a
Com <i>N. viridazoti</i>	60	20,4 a
Sem <i>N. viridazoti</i>	60	18,9 a
Média		19,3

Colmos: CV: 6,7%.

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação aos 59 dias após o plantio (quebra-lombo) (07/20), de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira.

Variedade: SP 95-5094.

Tabela 14. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no número de colmos por metro linear da cana-planta aos 233 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG

Comparações	Colmos (colmo m ⁻¹)
Com <i>N. viridazoti</i> (4 doses de N) x Sem <i>N. viridazoti</i>	(19,4) ^{ns} x (18,9) ^{ns}

^{ns} Não significativo pelo teste de t Student ou Scheffé a 0,1 de significância.

Por outro lado, observou-se efeito da adubação nitrogenada, associada ao inoculante, pela análise de regressão (Figura 14). Dessa forma, acréscimos de 0,25 colmos por metro linear são obtidos a cada 10 kg ha⁻¹ de N aplicado via nitrato de amônio na operação de quebra-lombo, aos 59 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante

contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio (Figura 14). Como a contagem de colmos foi realizada no mês de janeiro de 2021, esse resultado demonstra que, após o início da chuva, houve a disponibilização do N mineral para a cultura, promovendo ganhos no perfilhamento da cana, conforme observado por diversos autores (Malavolta, 2006; Oliveira, 2011; Boschiero *et al.*, 2020; Silva, 2022). De modo geral, o N promove efeito estimulante e influência na formação de gemas e no perfilhamento da cana-de-açúcar (Aude, 1993; Olivera *et al.*, 2007).

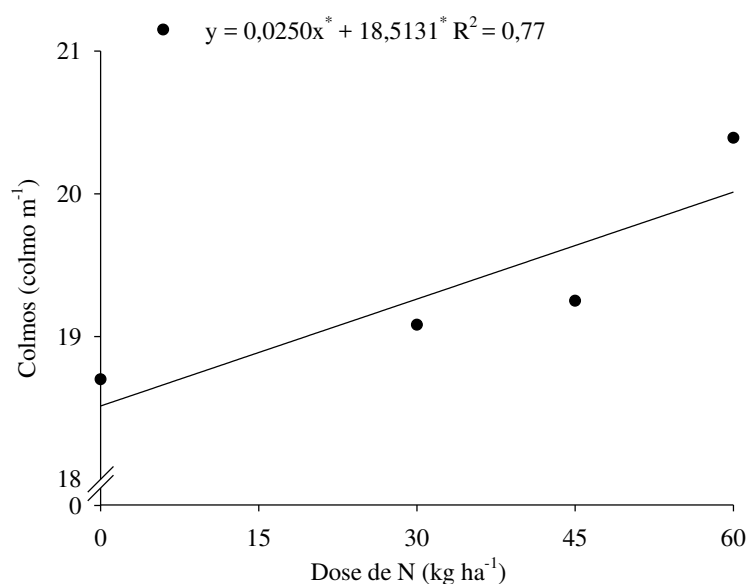


Figura 14. Número de colmos da cana-planta por metro linear aos 233 dias após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo associadas à 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio (experimento de Itapagipe – MG, variedade SP 95-5094)

Nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP, observou-se interação entre as variáveis doses e locais quanto ao número de colmos da cana-planta, independentemente da presença ou ausência da bactéria *N. viridazoti* (Tabela 15). Dessa forma, nota-se que, para todas as doses de N avaliadas, o maior número de colmos foi observado no experimento de Serrana, com acréscimos que variam de 3 a 5 colmos por metro linear (Tabela 15). Além disso, nota-se que, para o experimento de Serrana – SP, o melhor resultado foi obtido quando a maior dose de N foi utilizada (60 kg ha⁻¹ de N).

Tabela 15. Número de colmos da cana-planta por metro linear após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 187 e 181 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Doses de N (kg ha ⁻¹)	Colmos (colmos m ⁻¹)		
	Local		Média
	Itumbiara	Serrana	
0	7,7 bA	11,0 aB	9,4
20	8,1 bA	11,6 aB	9,9
40	8,2 bA	11,4 aB	9,8
60	7,8 bA	13,1 aA	10,5
Médias	8,0	11,8	

CV: 22,3%

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

A análise de regressão também demonstra o efeito das doses de N no número de colmos por metro linear (Figura 15). No experimento de Serrana – SP, acréscimos lineares de 0,31 colmos por metro linear são obtidos a cada 10 kg ha⁻¹ de N aplicados via nitrato de amônio na operação do quebra-lombo, independentemente da presença da bactéria no plantio. Em Itumbiara – GO, o modelo polinomial quadrático foi observado, cujo melhor resultado seria observado na dose de 30 kg ha⁻¹ de N (ponto máximo da curva). Tais resultados demonstram, novamente, a importância da adubação nitrogenada no desenvolvimento vegetativo da cana-de-açúcar.

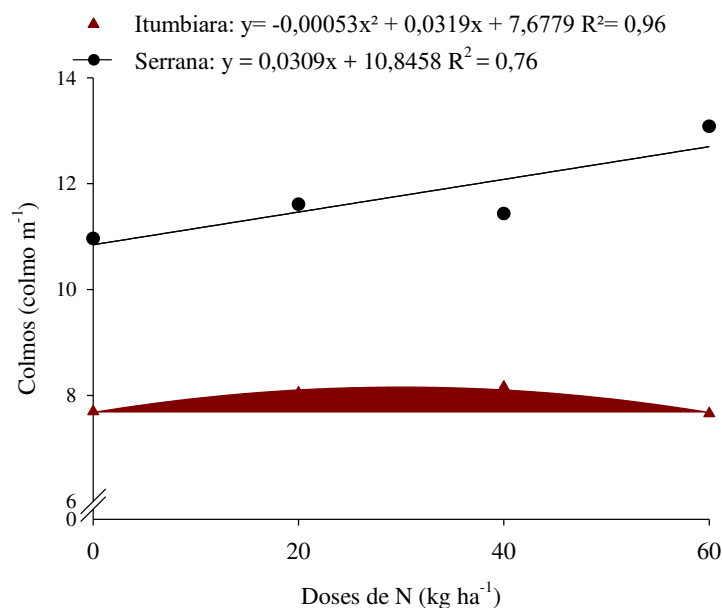


Figura 15. Número de colmos da cana-planta por metro linear após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo (médias dos tratamentos com e sem a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio) aos 187 dias após a aplicação em Itumbiara – GO (variedade RB966928) e aos 181 dias após a aplicação em Serrana – SP (variedade RB867515)

4.2 Teores foliares de N

No experimento de Itapagipe – MG, não foram observadas diferenças entre os tratamentos pelos testes de Tukey e contraste, ambos a 0,01 de significância, quanto aos teores foliares de N após a aplicação da bactéria *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo (Tabelas 16 e 17). Além disso, não foi obtido ajuste de modelo de regressão significativo que demonstre o efeito das doses de N, associadas ao inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti*, nos teores foliares de N.

Tabela 16. Teor de N em folhas da cana-planta aos 297 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Tratamento	Dose de N (kg ha ⁻¹)	N foliar (g kg ⁻¹)
Com <i>N. viridazoti</i>	0	24,3 a
Com <i>N. viridazoti</i>	30	23,3 a
Com <i>N. viridazoti</i>	45	23,4 a
Com <i>N. viridazoti</i>	60	25,0 a
Sem <i>N. viridazoti</i>	60	24,6 a
Média		24,1

CV: 5,3%, DMS: 2,5.

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação aos 59 dias após o plantio (quebra-lombo) (07/20), de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira.

Variedade: SP 95-5094.

Tabela 17. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no teor de N em folhas da cana-planta, aos 297 dias após a aplicação no sulco de plantio, no experimento de Itapagipe – MG

Comparações	N foliar
	(g kg ⁻¹)
Com <i>N. viridazoti</i> (4 doses de N) x Sem <i>N. viridazoti</i>	(24,6) ^{ns} x (24,0) ^{ns}

^{ns} Não significativo pelo teste de t Student ou Scheffé a 0,1 de significância.

Por outro lado, nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP, observou-se maior teor foliar médio de N nos tratamentos que receberam a inoculação com a bactéria *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio, independentemente do local e da dose de N via mineral (Tabela 18).

Tabela 18. Teor de N em folhas da cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 314 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	N foliar (g kg ⁻¹)	
		Produto	
		Com <i>N. viridazoti</i>	Sem <i>N. viridazoti</i>
Itumbiara - GO	0	15,5	16,1
	20	15,5	16,1
	40	15,8	17,1
	60	17,9	14,2
Serrana - SP	0	13,8	11,1
	20	14,1	11,2
	40	14,3	13,2
	60	15,9	11,9
Média		15,4 a	13,9 b

CV: 23,7%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

A aplicação do inoculante contendo a bactéria diazotrófica no sulco de plantio resultou em acréscimos de 10% nos teores foliares de N, em relação aos tratamentos sem a adição da bactéria (Tabela 18). Jardim *et al.* (2018) afirmam que o principal benefício associado aos microrganismos diazotróficos é promover o crescimento do sistema radicular das plantas e, conseqüentemente, aumentar a absorção de nutrientes, especialmente o N. Além disso, a FBN promovida por essas bactérias pode promover a suficiência do elemento no solo, aumentando os teores de N nas folhas (Gallo *et al.*,

1974). Dessa forma, diversos estudos têm mostrado maior acúmulo de N na parte aérea da cana-de-açúcar após a inoculação de bactérias diazotróficas (Oliveira *et al.*, 2016; Schultz *et al.*, 2017; Li, 2024).

4.3 Bioindicadores da saúde do solo

O efeito da bactéria *Nitrospirillum viridazoti* no cultivo da cana-de-açúcar também foi avaliado pela análise dos bioindicadores da saúde do solo, conforme descrito por Mendes *et al.* (2018). Desta forma, foi realizada a amostragem de solo, na profundidade de 0-10 cm de solo e em período chuvoso para a avaliação da atividade das enzimas beta-glicosidade, fosfatase ácida e arilsulfatase, assim como a quantificação do carbono da biomassa microbiana do solo (CBM). Uma vez que os microrganismos são considerados as principais fontes de enzimas do solo, a análise da atividade enzimática tem sido utilizada como indicadora da qualidade deste ambiente, bem como da decomposição da matéria orgânica e da disponibilidade de nutrientes decorrentes das práticas de manejo (Evangelista *et al.*, 2012), como a inoculação de microrganismos benéficos (Sobucki *et al.*, 2009) e uso de fertilizantes minerais e orgânicos (Balota *et al.*, 2013).

No experimento de Itapagipe – MG a análise dos bioindicadores da saúde do solo foi realizada somente nos tratamentos que receberam a maior dose de N (60 kg ha⁻¹ de N) com ou sem a presença da bactéria no sulco de plantio. Dessa forma, estão apresentados somente os valores da bioanálise (BioAS), sem a aplicação da estatística (Figura 15).

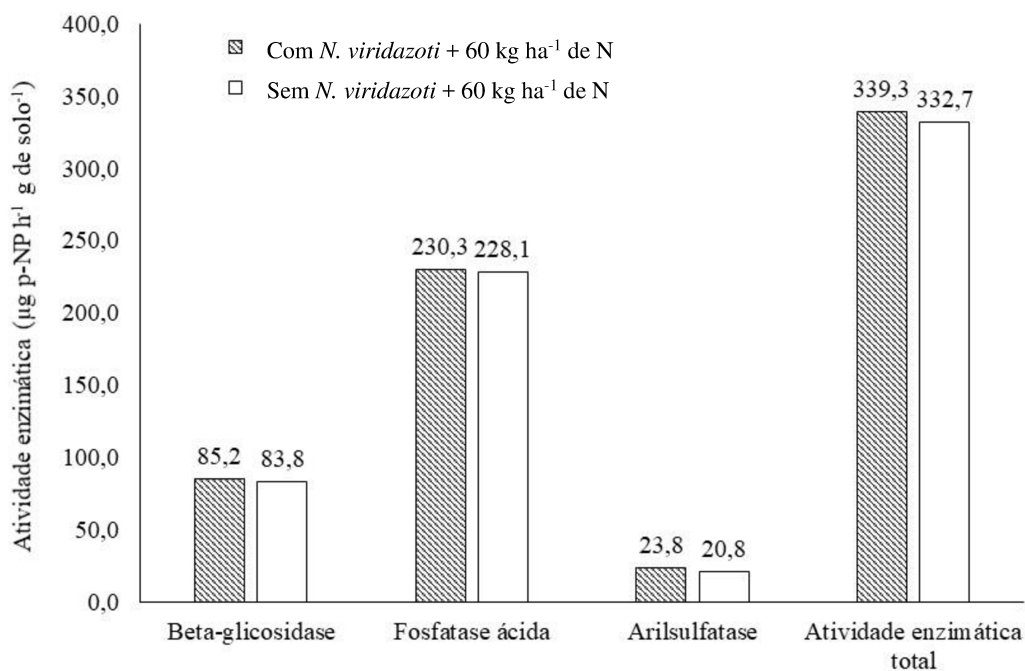


Figura 16. Atividade das enzimas beta-glicosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase e atividade enzimática total (somatório das três enzimas) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta, aos 500 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e 60 kg ha⁻¹ de N via nitrato de amônio na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Para todos os parâmetros avaliados nota-se uma tendência de aumento nas variáveis nos tratamentos que receberam o inoculante no sulco de plantio (Figura 16). Dessa forma, a aplicação do *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio com posterior aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N, via nitrato de amônio no quebra-lombo, resultou em acréscimos de 1,4, 2,0 e 3,0 μg de p-nitrofenol kg de solo⁻¹ h⁻¹ nos valores correspondentes à atividade das enzimas beta-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase, respectivamente, quando comparado ao tratamento que recebeu somente N (Figura 16). Quanto ao carbono da biomassa microbiana, ganhos de 6,0 $\mu\text{g C g}^{-1}$ solo foram obtidos com a utilização do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* (Figura 17).

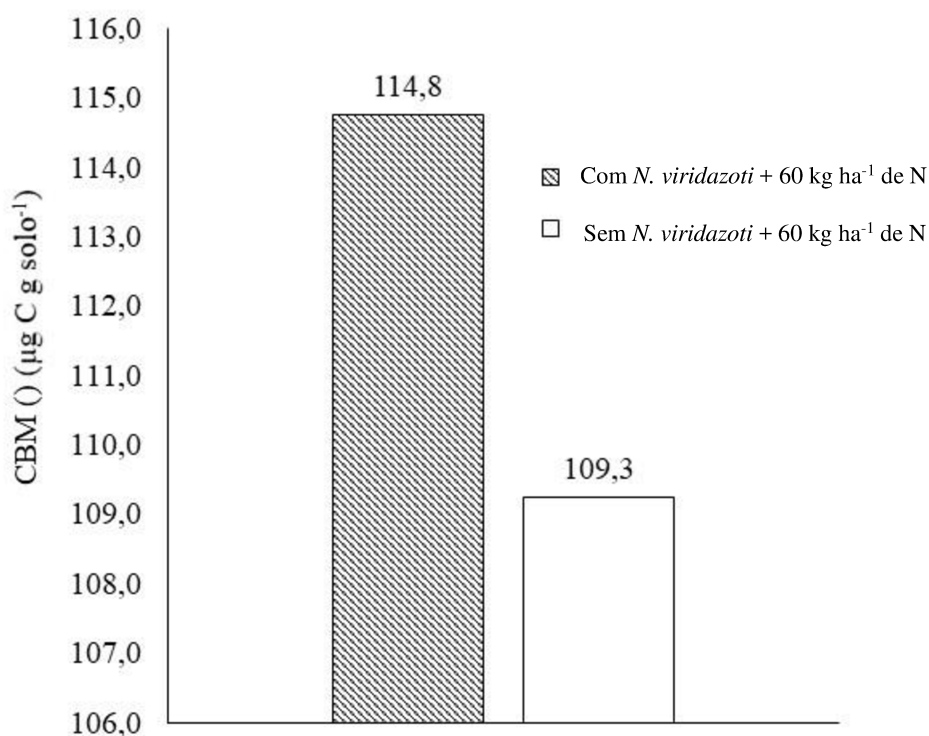


Figura 17. Carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta aos 500 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e 60 kg ha⁻¹ de N, via nitrato de amônio, na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Ao se comparar os valores observados neste experimento com as classes de interpretação de bioindicadores descritas por Mendes *et al.* (2018), observa-se que os valores da atividade da glicosidase, fosfatase ácida e da arilsulfatase são considerados baixos neste solo (< 90, 700 e 25 µg de p-nitrofenol kg de solo⁻¹ h⁻¹, respectivamente), bem como o carbono da biomassa microbiana (< 245 µg de C g de solo⁻¹).

Bigott *et al.* (2019), avaliando as comunidades microbianas em solos cultivados com cana-de-açúcar a curto prazo e a longo prazo, ou seja, em áreas de expansão e em áreas de reforma do canavial, observaram a diminuição da atividade enzimática do solo em áreas de reforma, onde o monocultivo da cana-de-açúcar está estabelecido. Dessa forma, os autores afirmam que o cultivo da cana-de-açúcar, a longo prazo, resulta na diminuição da atividade e diversidade microbiana do solo (Bigott *et al.*, 2019), o que pode explicar os baixos valores dos parâmetros da BioAS obtidos neste experimento.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto à atividade das enzimas beta-glicosidase e arilsulfatase nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP (Tabelas 19 e 20).

Tabela 19. Atividade da enzima beta-glicosidase na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N, na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (L ha ⁻¹)	Beta-glicosidase (µg p-NP h ⁻¹ g de solo ⁻¹)	
		Produto	
		Com	Sem
Itumbiara	0	70,9	60,6
	20	73,5	70,3
	40	79,5	74,7
	60	73,4	70,7
Serrana	0	83,7	60,6
	20	84,0	80,2
	40	77,8	74,7
	60	83,6	83,4
Média		78,3 a	71,9 a

CV: 24,8.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira, aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

Tabela 20. Atividade da enzima arilsulfatase na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	Arilsulfatase (µg p-NP h ⁻¹ g de solo ⁻¹)	
		Produto	
		Com	Sem
Itumbiara	0	41,1	31,9
	20	39,0	39,8
	40	38,1	37,9
	60	38,6	37,7
Serrana	0	41,1	31,9
	20	39,0	44,7
	40	36,9	43,2
	60	36,1	37,7
Média		38,7 a	38,1 a

CV: 23,4%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira, aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo), nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

Por outro lado, a maior atividade média da enzima fosfatase ácida foi obtida nos tratamentos que receberam o inoculante com *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio, independentemente do local e da dose de N, com acréscimos de 7% em relação aos tratamentos sem a bactéria (Tabela 21).

Tabela 21. Atividade da enzima fosfatase ácida na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N, na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA, nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	Fosfatase ácida (µg p-NP h ⁻¹ g de solo ⁻¹)	
		Produto	
		Com	Sem
Itumbiara	0	259,0	241,0
	20,0	287,0	264,0
	40,0	267,0	244,0
	60,0	256,0	251,0
Serrana	0	258,0	228,0
	20,0	280,0	264,0
	40,0	267,0	244,0
	60,0	251,0	241,0
Média		266,0 a	247,0 b

CV: 9,1%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

As fosfatases são enzimas sintetizadas por plantas e microrganismos (Nannipieri *et al.*, 2011), cujo aumento da atividade está relacionado ao processo de transformação do P orgânico em P solúvel (Moreira *et al.*, 2016). Filho e Vidor (2000) afirmam que os microrganismos solubilizadores de fosfatos, aplicados na forma de inoculantes, desempenham importante papel na disponibilização de formas inorgânicas de fosfatos (Ca-P, Al-P e Fe-P), aumentando o teor de fósforo na solução e, consequentemente, o crescimento e o rendimento das culturas.

Neste sentido, dentre os efeitos benéficos das bactérias diazotróficas, a exemplo do *Nitrospirillum mazonense*, destaca-se o potencial de solubilizar fosfatos inorgânicos para o solo através da secreção de ácidos orgânicos para converter fósforo insolúvel em formas disponíveis (ortofosfatos primários e secundários (Tahir *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2020). Diversos autores têm observado correlação positiva entre o uso de bactérias diazotróficas e a solubilização de fosfato inorgânico no cultivo da cana-de-açúcar (Patil, 2005; Santos *et al.*, 2012; Lira-Cadete *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2020). Dentre os ácidos orgânicos produzidos por estas bactérias, destacam-se, o ácido málico, ácido acético, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido glucônico e ácido 2-ceto-glucônico (Chen *et al.*, 2006; Gulati *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2009; Vazquez *et al.*, 2000).

Um dos principais mecanismos utilizados por bactérias dos gêneros *Azospirillum* e *Nitrospirillum* para solubilizar o fósforo é baseado na acidificação do solo por meio da liberação de compostos ácidos como ácido glucônico, ácido cítrico e ácido oxálico (Richardson *et al.* 2009; Vacheron *et al.*, 2015).

Ao se avaliar os valores de atividade enzimática total (somatório das três enzimas), o melhor resultado também foi obtido com a aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio, não observando interação com os locais ou as doses de N (Tabela 22).

Tabela 22. Atividade enzimática total (somatório das enzimas beta-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N, na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA, nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	Atividade enzimática total (µg p-NP h ⁻¹ g de solo ⁻¹)	
		Produto	
		Com	Sem
Itumbiara	0	371,0	334,0
	20	400,0	375,0
	40	385,0	356,0
	60	368,0	359,0
Serrana	0	383,0	320,0
	20	403,0	389,0
	40	382,0	361,0
	60	371,0	362,0
Média		383,0 a	357,0 b

CV: 10,3%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira, aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo), nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

A atividade das enzimas é considerada, por muitos autores, como indicadora na qualidade do solo (DICK *et al.*, 1996), as quais estão intimamente relacionadas às atividades microbianas do solo e fazem parte dos ciclos de nutrientes (especialmente C, N e P) (Fu *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2015).

Neste trabalho, o aumento da atividade enzimática pode estar associado ao efeito benéfico do *Nitrospirillum* na solubilização do fosfato, conforme mencionado anteriormente, mas também às transformações do N e aos hormônios promotores de

crescimento produzidos por essas bactérias. Zhang *et al.* (2018) afirmam que a liberação de exsudatos, através da interação da bactéria diazotrófica e as raízes da planta, resulta em altas concentrações de solutos na raiz e na promoção de crescimento das plantas, estimulando a atividade microbiana na rizosfera (Doornbos *et al.* 2012). Além disso, as bactérias diazotróficas promovem a atividade de amonificação na rizosfera das gramíneas, a exemplo da cana-de-açúcar, desempenhando um papel positivo na modificação da disponibilidade de N no solo (Gebler *et al.* 2005; CHEN *et al.* 2012) e, consequentemente, na atividade das enzimas que participam deste processo.

Com a análise de regressão, nota-se que maior atividade enzimática total nos experimentos conduzidos em Itumbiara – GO e Serrana – SP seria observada na dose de 32 kg há⁻¹ de N (Figura 18).

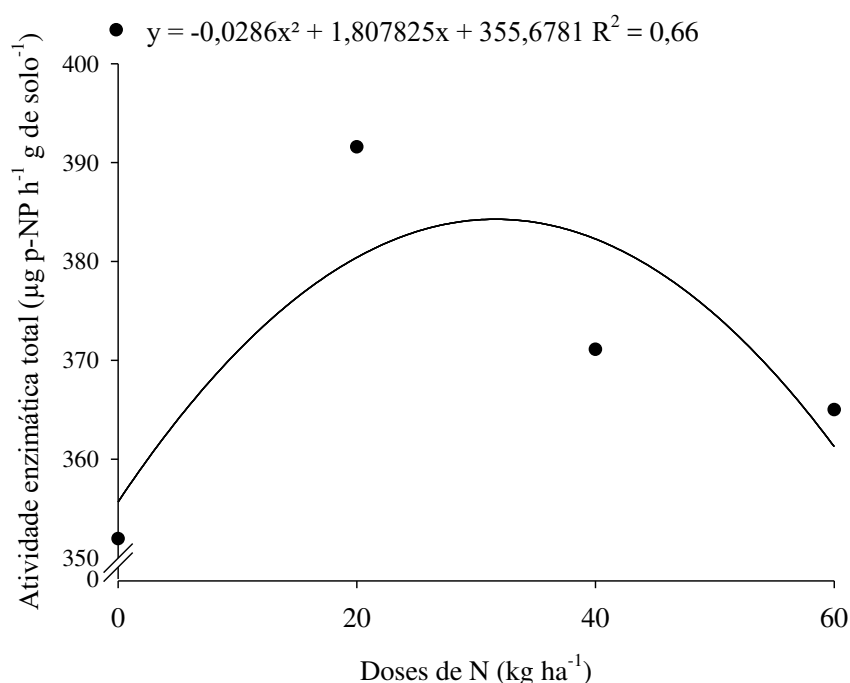


Figura 18. Atividade enzimática total (somatório das três enzimas) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana após a aplicação de doses de N na operação de quebra-lombo (médias dos tratamentos com e sem a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio), aos 332 dias após a aplicação, em Itumbiara – GO (variedade RB966928) e aos 322 dias após a aplicação em Serrana – SP (variedade RB867515) (médias das duas áreas)

Não foram observadas diferenças estatísticas quanto ao carbono da biomassa microbiana após a aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo (Tabela 23).

Tabela 23. Carbono da biomassa microbiana (CBM) na profundidade de 0 – 10 cm de solo cultivado com cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N, na operação de quebra-lombo aos 332 e 322 DAA, nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	CBM (µg C g de solo ⁻¹)	
		Produto	
		Com	Sem
Itumbiara	0	242,0	230,0
	20	259,0	218,0
	40	240,0	218,0
	60	241,0	234,0
Serrana	0	221,0	230,0
	20	259,0	249,0
	40	215,0	205,0
	60	241,0	250,0
Média		239,8 a	229,3 a

CV: 17,4%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

A determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) permite quantificar o carbono presente nos organismos, possibilitando estimar a massa microbiana viva total presente no solo. Assim, não foi possível confirmar o efeito da presença do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* e das doses de N neste parâmetro.

4.4 Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR)

Na Tabela 24 estão descritos os resultados de produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta no experimento de Itapagipe – MG e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 0,1 de significância.

Tabela 24. Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe – MG

Tratamento	Dose de N (kg ha ⁻¹)	TCH	TAH	ATR
		----- t ha ⁻¹ -----	-----	kg t ⁻¹
Com <i>N. viridazoti</i>	0	134,8 a	19,1 a	141,5 a
Com <i>N. viridazoti</i>	30	131,1 a	17,8 a	135,7 b
Com <i>N. viridazoti</i>	45	122,6 b	16,6 b	135,3 b
Com <i>N. viridazoti</i>	60	118,9 b	16,3 b	136,8 b
Sem <i>N. viridazoti</i>	60	116,3 b	15,5 b	132,9 c
Média		124,7	17,0	136,4

TCH: CV: 7,4%. TAH: CV: 7,4%. ATR: CV: 1,2%.

Médias seguidas por letras distintas na coluna são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação aos 59 dias após o plantio (quebra-lombo) (07/20), de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira.

Variedade: SP 95-5094.

As maiores produtividades foram obtidas com a aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio sem a adubação nitrogenada ou com a aplicação da menor dose de N na operação de quebra-lombo, com acréscimos de até 18,5 e 3,6 toneladas de colmos e de açúcar por hectare, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem a bactéria (Tabela 24).

Pela análise de contraste descrita na tabela 25, nota-se que a presença do inoculante contendo a bactéria diazotrófica (médias das 4 doses de N) resultou em maiores produtividades de colmos e de açúcar e em maior qualidade da matéria-prima em relação ao tratamento que recebeu somente a maior dose do fertilizante nitrogenado.

Tabela 25. Análise de contraste para avaliar o efeito aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* na produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação no sulco de plantio no experimento de Itapagipe – MG

Comparações	TCH	TAH	ATR
	----- t ha ⁻¹ -----	-----	kg t ⁻¹
Com <i>N. viridazoti</i> (4 doses de N) x Sem <i>N. viridazoti</i>	(126,9)* x (116,3)	(15,5)* x (17,4)	(132,9)* x (137,3)

* Significativo pelo teste de t Student a 0,1 de significância.

De modo geral, os ganhos observados com a adição da bactéria fixadora de N estão associados aos efeitos benéficos do *Nitrospirillum viridazoti* para a cultura da cana-de-açúcar, como a fixação biológica de N (Santi *et al.*, 2023), a produção de fito-hormônios

e, consequentemente, a promoção de crescimento (Bonassi *et al.*, 2024) e a solubilização de fosfatos (Vacheron *et al.*, 2015), conforme mencionado anteriormente.

Quanto à correlação da presença da bactéria e o fertilizante nitrogenado, Sica *et al.* (2020) observaram que em condições de campo a inoculação de bactérias, incluindo o *Nitrospirillum viridazoti*, pode aumentar a produtividade da cana-de-açúcar mesmo sem a adubação nitrogenada, assim como os resultados obtidos neste estudo. Outros trabalhos demonstraram resultados semelhantes, como, por exemplo, o trabalho desenvolvido por Oliveira *et al.* (2006), os quais observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas, sem a adubação nitrogenada, aumentou a produtividade de colmos da cana-de-açúcar por três anos consecutivos, apresentando resultados semelhantes aos obtidos nos tratamentos cuja adubação nitrogenada foi realizada anualmente.

Bons resultados também foram obtidos quando uma menor dose de N foi adicionada na operação do quebra-lombo (30 kg ha⁻¹ de N) (Tabela 24). Ai'shah *et al.* (2009) afirmam que uma pequena dose de N associada à inoculação com bactérias diazotróficas pode promover uma estimulação inicial da brotação, permitindo o estabelecimento da população microbiana nas raízes e estimulando a atividade da nitrogenase (Caliskan *et al.*, 2008). Dessa forma, os mesmos autores concluem que uma baixa dose inicial de N pode ser essencial para a obtenção de plantas jovens fisiologicamente ativas, promovendo, assim, uma melhor associação entre plantas e bactérias diazotróficas (AI'SHAH *et al.*, 2009).

Em contrapartida, a aplicação de elevadas doses de N, em associação com bactérias diazotróficas, pode reduzir o crescimento de plantas e a fixação de N₂ em gramíneas (Coelho *et al.*, 2009), resultado também observado neste estudo. Chen (2008) observou que elevadas doses de fertilizantes nitrogenados podem amolecer o tecido vegetal e reduzir a colonização microbiana das raízes das plantas. Dessa forma, ao se aplicar maiores doses de fertilizantes minerais, a exemplo dos nitrogenados, em combinação com inoculantes microbiológicos pode-se observar a redução das populações de diazotróficos, bem como a suscetibilidade da cultura ao ataque de doenças, acidificação ou alcalinização do solo, redução da fertilidade do solo e, eventualmente, danos irreversíveis ao sistema geral da planta (Vessey, 2003).

Também é importante ressaltar que a adição de elevadas doses de N em associação ao *Nitrospirillum viridazoti* pode reduzir a ação dessas bactérias pela maior quantidade de nutriente prontamente disponível para as plantas e microrganismos. Dessa forma, por se tratar de uma bactéria endofítica facultativa, observa-se a diminuição do efeito desta

bactéria na associação com as plantas, atuando com menor intensidade na promoção de crescimento da cana-de-açúcar. Em um estudo sobre a interação entre a adubação nitrogenada e a inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho, Skonieski *et al.* (2017) observaram que a aplicação de uma alta taxa de N pode comprometer o sucesso da inoculação do diazotrófico, principalmente em termos de FBN e promoção de crescimento.

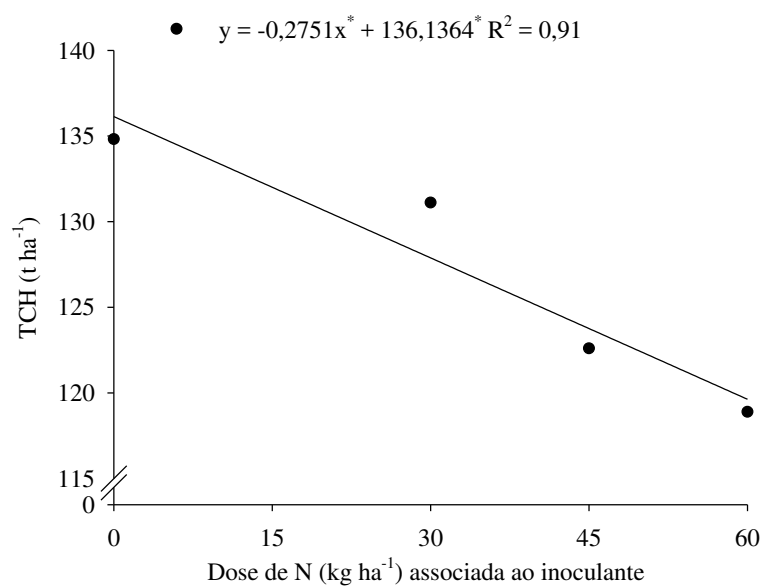
Os resultados obtidos quanto à qualidade da matéria-prima da cana-de-açúcar demonstram o efeito positivo do *Nitrospirillum viridazoti* em promover ganhos em açúcar total recuperável da cana-planta, com melhores resultados quando não há a aplicação de fertilizante nitrogenado (Tabela 24). Matoso *et al.* (2023) também obtiveram melhorias na qualidade da matéria-prima da cana-de-açúcar com o uso de bactérias diazotróficas, associando esses resultados à produção dos fito-hormônios e ao aumento do sistema radicular, que permite que a planta explore um maior volume de solo, absorvendo mais água e nutrientes. Os mesmos autores concluem que a aplicação de bactérias diazotróficas é capaz de promover mudanças na qualidade da cana-de-açúcar, entretanto, o sucesso da aplicação depende da adubação nitrogenada e do manejo aplicado à cultura, sendo que maiores doses de N podem reduzir os efeitos benéficos da bactéria (Matoso *et al.*, 2023).

De modo geral, os resultados obtidos no experimento conduzido em Itapagipe – MG demonstram a possibilidade de redução da dose de N no cultivo da cana-de-açúcar no ciclo da cana-planta, tornando o sistema mais sustentável. Este fato pode ser ainda mais importante tratando-se do RenovaBio, programa do Governo Federal Brasileiro o qual destina título financeiro equivalente a créditos de carbono, chamado CBIOS, para produtores de biocombustíveis que possam, através do manejo, diminuir a emissão de CO₂, através, por exemplo, da redução do uso de fertilizantes nitrogenados (Anp, 2019; GrassI; Pereira, 2019)

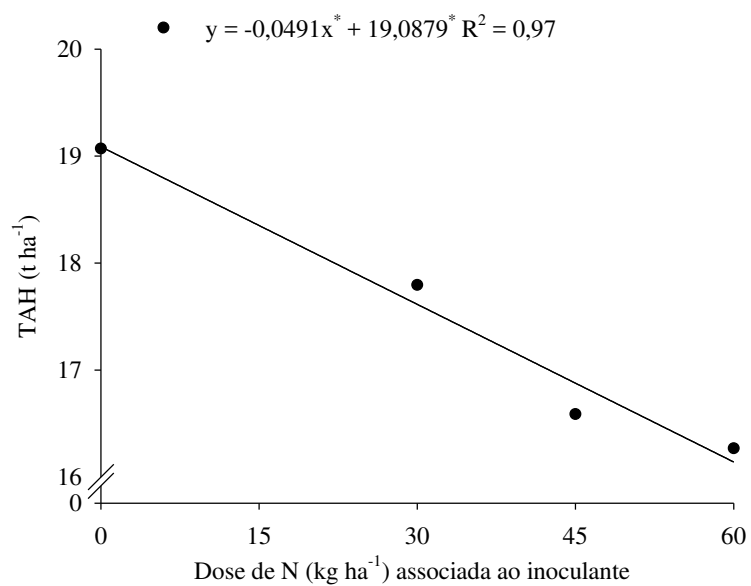
Observa-se na figura 18 que decréscimos lineares nos valores de TCH e TAH na área de Itapagipe – MG são obtidos com o aumento da dose de N no quebra-lombo em combinação com o inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio. Dessa forma, nota-se que, a cada 10 kg ha⁻¹ de N aplicados, decréscimos lineares de 3,0 e 0,5 toneladas de colmos e de açúcar por hectare, respectivamente, são observados (Figuras 18a e 18b).

Quanto ao ATR, modelo polinomial quadrático foi observado, sendo que a menor produtividade seria obtida com a aplicação 40 kg ha⁻¹ de N em combinação com o *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio (ponto mínimo da curva) (Figura 18c).

(a)



(b)



(c)

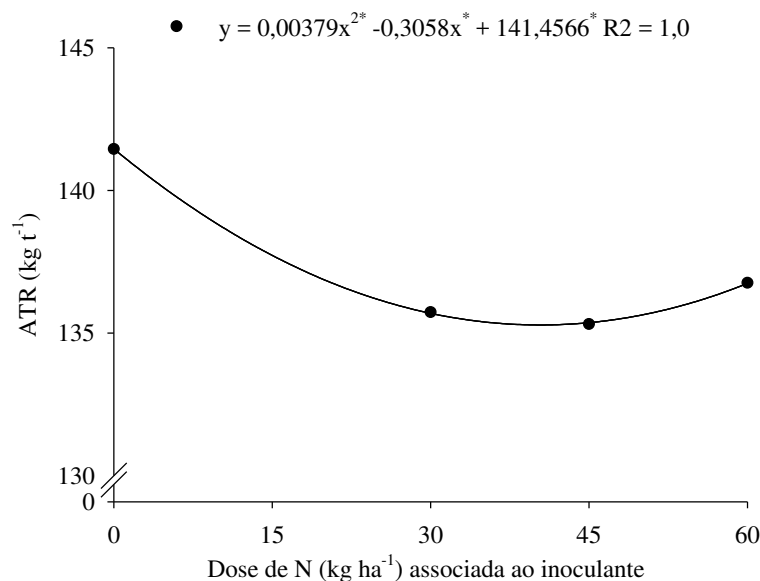


Figura 19. Produtividade de colmos (TCH), produtividade de açúcar (TAH) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta aos 232 dias após a aplicação de 1,0 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo no experimento de Itapagipe - MG

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos quanto à produtividade de colmos e de açúcar dos experimentos instalados em Itumbiara – GO e Serrana – SP (Tabelas 26 e 27).

Tabela 26. Produtividade de colmos (TCH) cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo, aos 361 e 420 DAA, nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	TCH (t ha ⁻¹)	
		Com	Sem
Itumbiara	0	147,7	140,4
	20	146,9	144,6
	40	175,6	147,2
	60	142,6	151,1
Serrana	0	189,7	168,4
	20	175,8	176,2
	40	175,1	160,9
	60	171,6	188,3
Média		165,9 a	159,5 a

CV: 18,4%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira, aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo), nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Tabela 27. Produtividade de açúcar (TAH) cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

Local	Doses de N (kg ha ⁻¹)	TAH (t ha ⁻¹)	
		Com	Sem
Itumbiara	0	19,3	18,6
	20	19,3	20,6
	40	23,5	20,4
	60	19,6	21,7
Serrana	0	25,5	21,9
	20	23,5	23,5
	40	23,3	21,1
	60	22,7	24,9
Média		22,1 a	21,6 a

CV: 18,8%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

Entretanto, ao se avaliar o experimento conduzido em Serrana – SP, nota-se que produtividades semelhantes são obtidas ao se comparar a aplicação da bactéria sem a adubação nitrogenada (190 toneladas de colmos por hectare e 25,5 toneladas de açúcar por hectare) com o tratamento cuja maior dose de N é aplicada na ausência do inoculante (188 toneladas de colmos por hectare e 24,9 toneladas de açúcar por hectare) (Tabelas 26 e 27). Tais resultados demonstram o efeito positivo deste produto independentemente do N, devido, principalmente, à baixa resposta à adubação nitrogenada nesta área. Este fato pode ser explicado pela rotação com cultura leguminosa, uma vez que, nesta área, foi realizado o plantio da soja antecedendo o plantio da cana. Dessa forma, a rotação da cana-de-açúcar com a cultura da soja pode reduzir a resposta do canavial à adubação nitrogenada devido à fixação biológica de N, promovida pela leguminosa e pela incorporação do N ao solo através da adubação verde (Ambrosano *et al.*, 2013; Bordonal *et al.*, 2018). Park *et al.* (2010) afirmam que, apesar da quantidade de N disponível para a cana-de-açúcar após a rotação com a cultura da soja depender dos processos do solo, como as taxas de imobilização e mineralização de N, é aceito que a dose de N, via fertilizante inorgânico, pode ser substancialmente reduzida, ou mesmo eliminada, após pousio com leguminosas.

Ainda para o experimento de Serrana-SP, ressalta-se que, quando não há adição de N, a aplicação do *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio resultou em ganhos de aproximadamente 20 toneladas de colmos por hectare e 3,5 toneladas de açúcar por hectare quando comparado ao tratamento sem inoculante (Tabelas 26 e 27). Por outro lado, os ganhos em produtividade diminuem à medida que a dose de N é aumentada. Esses resultados demonstram, conforme já mencionado, a maior ação da bactéria diazotrófica quando não há a aplicação de fertilizantes nitrogenados minerais. Em suma, pode-se afirmar que, na falta de resposta ou em condições de baixa resposta à adubação nitrogenada, é possível reduzir ou eliminar a dose de N via mineral no cultivo da cana-planta.

Diferentemente do experimento de Serrana – SP, observa-se resposta à adubação nitrogenada no experimento conduzido em Itumbiara – GO, com maiores valores brutos de TCH e TAH com a adição da bactéria associada à dose de 40 kg ha⁻¹ de N no quebra-lombo (Tabelas 26 e 27). Ressalta-se que, nesta área, a reforma do canavial foi realizada sem a adição de leguminosas como culturas de rotação, podendo-se explicar a maior resposta e necessidade de adubação nitrogenada neste experimento

Nesse contexto, a aplicação do *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio associado à dose de 40 kg ha⁻¹ de N resultou em ganhos de aproximadamente 28 toneladas de colmos por hectare e 3 toneladas de açúcar por hectare quando comparado ao tratamento com a mesma dose de N, sem a adição da bactéria (Tabelas 26 e 27). Por outro lado, quando a maior dose de N é utilizada (60 kg ha⁻¹ de N), o tratamento sem a adição do inoculante resultou em ganhos de 8 e 2 toneladas de colmos e de açúcar por hectare, respectivamente, quando comparado ao tratamento com a bactéria.

Assim como observado por outros autores e mencionado no experimento de Itapagipe – MG, a adição de menores doses de N em combinação com a bactéria podem ser benéfico no cultivo da cana-de-açúcar por promover um maior desenvolvimento inicial da cultura (Ai'shah *et al.*, 2009). Suman *et al.* (2008) também obtiveram melhores resultados no desenvolvimento da cana-de-açúcar quando menores doses de N foram aplicadas em combinação com bactérias diazotróficas, associando esses resultados ao maior desenvolvimento inicial e maior volume de raízes obtidos com a aplicação de uma baixa dose de N prontamente disponível.

A análise conjunta demonstrou diferenças estatísticas nos valores de ATR ao se associar a presença da bactéria nos locais avaliados (Tabela 28). Assim, observa-se que não há diferenças entre os locais avaliados quanto aos valores de ATR quando há a

inoculação da bactéria. Por outro lado, nos tratamentos sem a adição do inoculante, maior ATR é observado no experimento conduzido em Itumbiara – GO.

Tabela 28. Açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta após a aplicação de 1,2 L ha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo, aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

ATR (kg t ⁻¹)		Média
Produto	Local	
	Itumbiara	Serrana
Com	133,0 aA	133,0 aA
Sem	139,0 aA	132,0 bA
Média	136,0	132,5

CV: 4,7%.

Médias seguidas por letras distintas na linha são diferentes pelo teste de Tukey a 0,10 de significância.

N via nitrato de amônio: Aplicação de forma manual e sobre a linha de brotação da soqueira aos 89 e 91 dias após o plantio (quebra-lombo) nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente.

Variedade: RB966928 (Itumbiara – GO) e RB867515 (Serrana – SP).

Conforme mencionado anteriormente, este fato está relacionado à maior resposta à adubação nitrogenada no experimento de Itumbiara - GO, obtendo-se ganhos na qualidade da matéria-prima à medida em que se aumenta a dose de N, mesmo sem a adição da bactéria, devido, principalmente, ao cultivo de cana sobre cana, sem a adição de culturas de rotação na reforma do canavial. A adubação adequada com N, sem condições de deficiência ou excesso do nutriente, influencia, significativamente, na qualidade do caldo da cana-de-açúcar (Schultz *et al.*, 2015). Nesse sentido, Franco *et al.* (2010) também obtiveram incrementos na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada.

A análise de regressão confirma a resposta à adubação nitrogenada no experimento conduzido em Itumbiara – GO, obtendo-se acréscimos lineares de 1,2 kg de açúcar por tonelada de colmos a cada 10 kg há⁻¹ de N adicionados via nitrato de amônio na operação de quebra-lombo, independentemente da aplicação do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio (Figura 20).

(c)

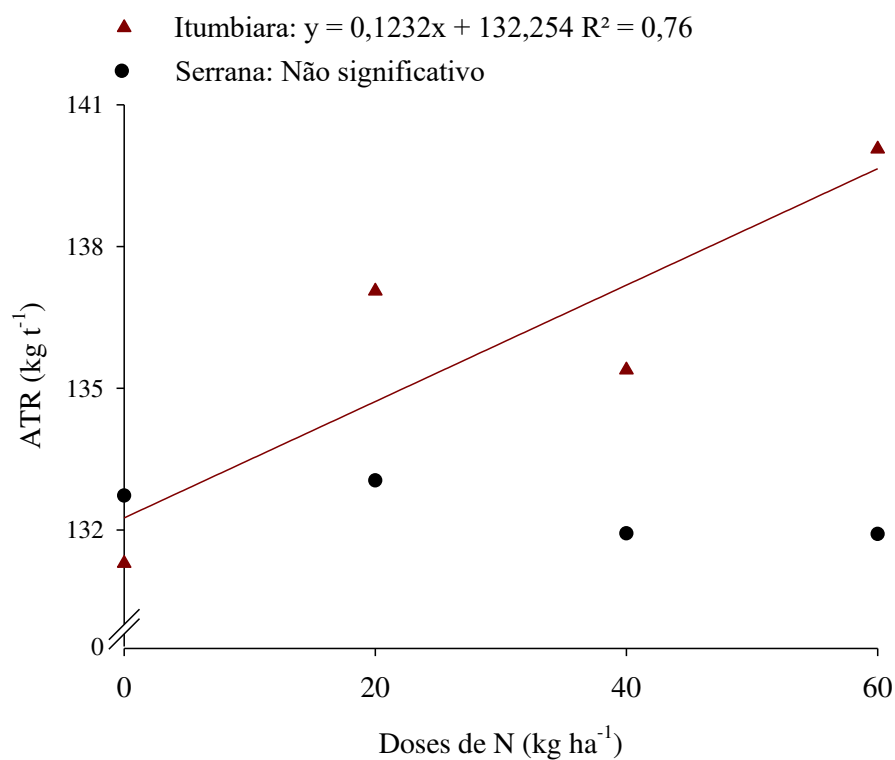


Figura 20. Açúcar total recuperável (ATR) da cana-planta após a aplicação de 1,2 háha⁻¹ do inoculante contendo *Nitrospirillum viridazoti* no sulco de plantio (médias dos tratamentos com e sem o inoculante) e diferentes doses de N na operação de quebra-lombo aos 361 e 420 DAA nos experimentos de Itumbiara – GO e Serrana – SP, respectivamente

5. CONCLUSÕES

A inoculação com *Nitrospirillum viridazoti* resulta em ganhos em produtividade e na qualidade da matéria-prima da cana-de-açúcar, com melhores resultados na ausência ou com menores doses de nitrogênio, bem como em áreas com baixa resposta à adubação nitrogenada. Dessa forma, quando há baixa resposta à adubação nitrogenada, é possível reduzir ou eliminar a adubação nitrogenada mineral com a inoculação com *Nitrospirillum viridazoti*.

Os efeitos benéficos da inoculação com *Nitrospirillum viridazoti* via solo também são observados ao se avaliar o perfilhamento da cana-planta, os teores foliares de N e os bioindicadores da saúde do solo, especialmente quanto à atividade da enzima fosfatase ácida.

REFERÊNCIAS

- AI'SHAH, O. N.; AMIR, H. G.; KENG, C. L.; OTHMAN, A.R.; Influence of various combinations of diazotrophs and chemical N fertilizer on plant growth and N₂ fixation capacity of oil palm seedlings (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Thai Journal of Agricultural Science**, v. 42, p. 139–149, 2009.
- AMBROSANO, E. J.; AZCÓN, R.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; UNGARO, G. R. M.; TERAMOTO, J. R. S. Crop rotation biomass and arbuscular mycorrhizal fungi effects on sugarcane yield. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, n.6, p.692-701, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000600011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/BTWqqJpDPz7NN4DtVxCYMQs/?lang=en>
- ANP - BRAZILIAN NATIONAL AGENCY OF PETROLEUM, NATURAL GAS AND BIOFUELS. **Renovacalc**, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/renovabio/renovacalc>. Acesso em: 7 jun. 2024.
- AUDE, M. I. S. Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 241-248, 1993. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781993000200022>
- ASSOCIAÇÃO DOS FORNECEDORES DE CANA DE GUARIBA (SOCICANA). **Catálogo de variedades IAC**, 2012. Disponível em: <http://socicana.com.br/2.0/wp-content/uploads/2012-10-31-08-38-CatalogodeVariedadesIAC.pdf>. Acesso em: 09 de setembro de 2024.
- BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; VIDEIRA, S. S.; BODDEY, L. H.; BALDANI, V. L. D. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. **Plant Soil**, v. 38, p. 413– 431, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>.
- BALOTA, E. L. **Enzimas e seu papel na qualidade do solo**. Tópicos em Ciência do Solo, v. 8, p. 189-249, 2013.
- BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. (Eds.). **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: Funep, 237p. 2006. BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. (Eds.). **Experimentação agrícola**. Jaboticabal: Funep, 237p. 2006.
- BIGOTT, A. F.; HOY, J. W.; FULTZ, L. M. Soil properties, microbial communities, and sugarcane yield in paired fields with short- or longterm sugarcane cultivation histories. **Applied Soil Ecology**, v. 142, p. 166–176, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.04.027>
- BONASSI, R. D. C.; VAZQUEZ, G. H. VENZKE FILHO, S. D. P.; D' ANDRÉA-KÜHL, M. S. C.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; SANCHES, A. C.; VANZELA, L. S.; LOUREIRO, E. S.; NAVARRETE, A. A. Inoculation effects of *Nitrospirillum viridazoti* and biofertilizer in sugarcane. **Ciência Rural**, v. 54(3), e20220628, 2024. <http://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220628>

BORDONAL, R. O.; CARVALHO, J. .L. N.; RATTAN, L.; FIGUEIREDO, E. B.; OLIVEIRA, B. G.; LA SCALA, N. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 38, 2018. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>

BRASIL. **Lei n. 13.576, de 26 de dezembro de 2017**. Dispõe sobre a Política Nacional de Biocombustíveis. 2017. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2015-2018/2017/lei/L13576.htm. Acesso em: 28 jul 2024.

CALISKAN, S.; OZKAYA, I.; CALISKAN, M. E.; ARSLAN, M. The effects of nitrogen and iron fertilization on growth, yield and fertilizer use efficiency of soybean in a Mediterranean-type soil. **Field Crops Research**, v. 108, p. 126-132, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.04.005>

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; CONTIN, T. L. M.; DIAS, F. L. F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R. B.; QUAGGIO, J. A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, v. 64(6), p. 676-680, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000400011>

CARVALHO, A. M.; DOLIVEIRA, A. D.; REIN, T. A. **Qual é o Impacto da Adubação Nitrogenada e Práticas Agrícolas na Emissão de N**. EMBRAPA. Planaltina: Circular técnica, 2021.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. "A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane." **Plant and Soil**, v. 108(1), p. 23-31, 1998. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>

CHAVES, V. A.; SANTOS, S. G. DOS; SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; REIS, V. M. Initial development of two sugarcane varieties inoculated with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 39, p. 1595-1602, 2015. <https://doi.org/10.1590/01000683rbcs20151144>

CHEN, Y. T.; BORKEN, W.; STANGE, C. F.; MATZNER, E. Dynamics of nitrogen and carbon mineralization in a fen soil following water table fluctuations. **Wetlands**, v. 32, p. 579–587, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13157-012-0295-7>

CHEN, Y.; REKHA, P.; ARUN, A.; SHEN, F.; LAI, W. A.; YOUNG, C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, p.33-41, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>

CHERUBIN, M. R.; LISBOA, I. P.; SILVA, A. G. B.; VARANDA, L. L.; BORDONAL, R. O.; CARVALHO, J. L. N.; OTTO, R.; PAVINATO, P. S.; SOLTANGHEISI, A.; CERRI, C. E. Sugarcane straw removal: implications to soil fertility and fertilizer demand in Brazil. **BioEnergy Research**, v.12, p. 888–900, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12155-019-10021-w>

COELHO, M. R.R.; MARRIEL, I. E.; JENKINS, S. N.; LANYON, C. V.; SELDIN, L.; O'DONNELL, A. Molecular detection and quantification of nifH sequences in the rhizosphere of sorghum (*Sorghum bicolor*) sown with two levels of nitrogen fertilizer. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 48-53, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Acompanhamento da safra brasileira cana-de-açúcar: safra 2023/24: 4º levantamento**. Brasília, DF: CONAB, 2024. (CONAB, v. 11, n. 4). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. Acesso em: 29 jun. 2024

CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de instruções**. 5. ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3116035/mod_resource/content/1/Manual%20do%20Consecana.pdf. Acesso em: 29 jun. 2024.

CRESPO, J. M.; BOIARDI, J. L.; LUNA, M. F. Mineral phosphate solubilization activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus* under P-limitation and plant root environment. **Scientia Agricola**, v. 2, p. 16–22, 2011. <https://doi.org/10.4236/as.2011.21003>

DESALEGN, B.; KEBEDE, E.; LEGESSE, H.; FITE, T. Sugarcane productivity and sugar yield improvement: Selecting variety, nitrogen fertilizer rate, and bioregulator as a first-line treatment. **Heliyon**, v. 9, e. 15520, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15520>

DICK, R. P. **Soil enzyme activities as indicators of soil quality**. In: DORAN, J. V.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). *Defining soil quality of a sustainable environment*. Madison: Soil Science Society of America, v.35, p. 107-1247, 1994.

DING, W.; CAI, Y.; CAI, Z.; YAGI, K.; ZHENG, X. Nitrous oxide emissions from an intensively cultivated maize-wheat rotation soil in the North China Plain. **Science of The Total Environment**, v. 373, p. 501-511, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.12.026>

DIOLA, V.; SANTOS, F. **Fisiologia**. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (Ed.) *Cana-de-açúcar: Bioenergia, açúcar e álcool: Tecnologias e perspectivas*. Viçosa: [S.n.], 2010. 577p.

DOORNBOS, R. F.; LOON, L. C.; BAKKER, P. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 32, p. 227–243, 2012. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>

DU, Y.; WANG, T.; WANG, C.; ANANE, P. S.; LIU, S.; PAZ-FERREIRO, J. Nitrogen fertilizer is a key factor affecting the soil chemical and microbial communities in a Mollisol. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 65, p. 510–521. <https://doi.org/10.1139/cjm2018-0683>

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro, 2009. 412 p.

EVANGELISTA, C. R.; PARTELLI, F. L.; FERREIRA, E. P. B.; CORRECHEL, V. Atividade enzimática do solo sob sistema de produção orgânica e convencional na cultura da cana-de-açúcar em Goiás. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 1251-62, 2012. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n4p1251>

FACCO, C. C.; AMARANTE, N. O.; OLIVEIRA, C. F.; GONZALEZ, J. A. B.; CÂMARA, P. H. S.; BUCH, R. R.; ALVES, V. S.; COSTA JUNIOR, E. S.; SILVA, V. R. MACHADO, E. V., DULTRA, B. R.; D'ÁVILA, F. L. D. **Explorando o papel das bactérias produtoras de acc desaminase no crescimento do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. In: Cultivando o futuro: Tendências e desafios nas ciências agrárias, 2024. <https://doi.org/10.22533/at.ed.70324010414>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.3 8, n. 2, 2014.

FONSECA, M. C.; BOSSOLANI, J. W.; DE OLIVEIRA, S. L.; MORETTI, L. G.; PORTUGAL, J. R.; SCUDELETTI, D.; DE OLIVEIRA, E. F.; CRUSCIOL, C. A. C. *Bacillus subtilis* Inoculation Improves Nutrient Uptake and Physiological Activity in Sugarcane under Drought Stress. **Microorganisms**, v. 10, p. 809. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040809>

FONSECA LÓPEZ, D.; VIVAS QUILA, N.; CUERVO MULET, R.; RODRÍGUEZ MOLANO, C. E. Contribution of forage grasses to biological nitrogen fixation and their response to diazotroph inoculation. Review. **Revista mexicana de ciencias pecuarias**, v. 15(2), p. 446-461, 2024.

FU, Q. L.; LIU, C.; DING, N. F.; LIN, Y. C.; GUO, B.; LUO, J. F.; WANG, H. L. Soil microbial communities and enzyme activities in a reclaimed coastal soil chronosequence under rice–barley cropping. **Journal of Soils and Sediments**, v. 12, p. 1134–1144, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11368-012-0544-7>

GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; RODRIGUES, W. L.; BOLETA, E. H. M.; SILVA, V. M.; TAVANTI, R. F. R.; FERNANDES, G. C.; BIAGINI, A. L. C.; ROSA, P. A. L.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation of *Azospirillum brasilense* associated with silicon as a liming source to improve nitrogen fertilization in wheat crops. **Scientific Reports**, v. 10, p. 6160, 2020

GALLO, J. R.; HIROCE, R.; ALVAREZ, R. Teores de nutrientes nas folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) cultivar CB 41/76. **Bragantia**, Campinas, v.33, p.25-31, 1974. <https://doi.org/10.1590/S0006-87051974000100021>

GEßLER, A.; JUNG, K.; GASCHE, R.; PAPEN, H.; HEIDENFELDER, A.; BORNER, E.; METZLER, B.; AUGUSTIN, S.; HILDEBRAND, E.; RENNENBER, H. Climate and forest management influence nitrogen balance of European beech forests: microbial N transformations and inorganic N net uptake capacity of mycorrhizal roots. **European Journal of Forest Research**, v. 124, p. 95–111, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10342-005-0055-9>

GÍRIO, L. A. DA S.; DIAS, F. L. F.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; SCHULTZ N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas prébrotadas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 50, n. 1, p. 33-43, 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2015000100004>

GRASSI, M. C. B.; PEREIRA, G. A. G. Energy-cane and RenovaBio: Brazilian vectors to boost the development of Biofuels. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 201-205, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.006>

GUALBERTO, C. A. C; SANTOS, G. A; KORNFORFER, G. H. **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar na região do Cerrado**. In: Nutrição e adubação de grandes culturas no Cerrado. Goiânia, Brasil: NRCO-SBCS, 2019. p. 553-573.

GUELF, D. **Fertilizantes nitrogenados estabilizados de liberação lenta ou controlada**. Piracicaba: IPNI, 2017. (Informações Agronômicas, 157).

GULATI, A.; SHARMA, N.; VYAS, P.; SOOD, S.; RAHI, P.; PATHANIA, V.; PRASAD, R. Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. **Archives of Microbiology**, v. 192, p. 975-983, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00203-010-0615-3>

JARDIM, T. M.; SCIVITTARO, W. B.; DA SILVA, A. S.; PARFITT, J. M. B.; TREPTOW, R. C. B.; BETTIN, H. C.; DA SILVEIRA, C. M. **Uso Combinado de Inoculantes de Bactérias Diazotróficas e Adubação Nitrogenada Mineral no Cultivo de Arroz Irrigado**. EMBRAPA. Pelotas: Circular técnica, 2018.

KORNDÖRFER, G.H. **Improving nutrient management in sugarcane cultivation**. In: ROTT, P. (Ed.). Achieving sustainable cultivation of sugarcane. Cambridge, UK: Burleigh Dodds Science Publishing, 2018. p. 131-160.

KUHAD, R. C.; SINGH, S.; LATA, A. S. Phosphate solubilising microorganisms. In: Singh A, Parmar N, Kuhad RC (eds). **Bioaugmentation, biostimulation and biocontrol, soil biology series**, v. 28. p. 65–84, 2011

KUMAR, N.; SOW, S.; RANA, L. et al. Trash Amended with *Trichoderma* Effects on Cane Yield, Soil Carbon Dynamics, and Enzymatic Activities under Plant–Ratoon System of Sugarcane in Calcareous Soil. **Sugar Tech**, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12355-024-01467-0>

LI, A. Role of Diazotrophic Bacteria in Promoting Sugarcane Growth and Yield. **Field Crop**, v. 7, 2024.

LIMA, E.; BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugarcane using a ^{15}N aided nitrogen balance. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p. 167-70, 1987. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90077-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90077-0)

LIN, S. Y.; HAMEED, A.; SHEN, F. T.; LIU, Y. C.; HSU, Y. H.; SHAHINA, M.; LAI, W. A.; YOUNG, C. C. Description of *Niveispirillum fermenti* gen. nov., sp. nov., isolated from a fermentor in Taiwan, transfer of *Azospirillum irakense* (1989) as *Niveispirillum irakense* comb. nov., and reclassification of *Azospirillum viridazoti* (1983) as *Nitrospirillum viridazoti* gen. nov. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 105, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0176-6>

LIRA-CADETE, L.; FARIAS, A. R. B.; RAMOS, A. P. S.; COSTA, D. P.; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Genetic variability of sugarcane-associated diazotrophic bacteria capable of inorganic phosphate solubilizing. **Bioscience Journal**. v.28. n.1., 2012.

LIU, Q.; ZHAO, X.; LIU, Y.; XIE, S.; XING, Y.; DAO, J.; WEI, B.; PENG, Y.; DUAN, W.; WANG, Z. Response of Sugarcane Rhizosphere Bacterial Community to Drought Stress. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.716196>

LOPES, V. R.; BESPALHOK FILHO, J. C.; FIGUEIREDO, G. G. O.; DE OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E. Interação entre famílias de cana-de-açúcar e bactérias promotoras do crescimento vegetal em dois ciclos de cultivo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40(2), p. 527-538, 2019. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n2p527>

LOPES, I. M.; PINHEIRO, E. F. M.; LIMA, E.; CEDDIA, M. B.; CAMPOS, D. V. B. de; ALVES, B. J. R. Emissões de N₂O em solos sob cultivo de cana-de-açúcar no Bioma Mata Atlântica: efeito dos sistemas de colheita e da adubação com vinhaça. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 5, p. 1930-1943, 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170113>

MAGALHAES, F. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; D6BEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 34, p. 355-357, 1983.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 638 p. 2006.

MANHÃES, C. M. C.; GARCIA, R. F.; FRANCELINO, F. M. A.; FRANCELINO, H. O.; COELHO, F. C. Fatores que afetam a brotação e o perfilhamento da cana-de-açúcar. **Vértices**, v. 17, n. 1, p. 163-181, 2015. <https://doi.org/10.5935/1809-2667.20150011>

MARTINS, D.S.; REIS, V. M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B. J.; URQUIAGA, S.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; BODDEY, R. M. Both the contribution of soil nitrogen and of biological N₂ fixation to sugarcane can increase with the inoculation of diazotrophic bacteria. **Plant Soil**, v. 454, p. 155-169, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04621-1>

MARTINS, M. R.; SANT'ANNA, S. A.; ZAMAN, M.; SANTOS, R. C.; MONTEIRO, R. C.; ALVES, B. J.; JANTALIA, C. P.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Strategies for the use of urease and nitrification inhibitors with urea: Impact on N₂O and NH₃ emissions, fertilizer-15N recovery and maize yield in a tropical soil. **Agriculture**,

Ecosystems & Environment, v. 247, p. 54–62.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.021>

MARTINS, D. S.; REIS, V. M.; SCHULTZ, N. Both the contribution of soil nitrogen and of biological N₂ fixation to sugarcane can increase with the inoculation of diazotrophic bacteria. **Plant Soil**, v. 454, p. 155–169, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04621-1>

MATOSO, E. S.; AVANCINI, A. R.; MACIEL, K. F. K.; ALVES, M. C.; SIMON, E. D. T.; DA SILVA, M. T.; ANJOS, S. D. Influência do uso de um mix de bactérias diazotróficas na biometria e no conteúdo de clorofila de plantas de cana-de-açúcar. **Brazilian Journal Of Development**, v. 6(2), p. 7261-7274, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n2-141>

MATOSO, E. S.; SILVA, S. D. DOS A.; AVANCINI, A. R. & CRUZ, N. D. Composição de cana-de-açúcar para alimentação animal em função da aplicação de bactérias diazotróficas. **Ciência Animal**, v. 33 (1), p. 86-98, 2023. <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/10490>, 2023

MATSUURA, M. I. S. F.; SCACHETTI, M. T.; CHAGAS, M. F.; SEABRA, J. E. A.; MOREIRA, M. M. R.; BONOMI, A.; BAYMA, G.; PICOLI, J. F.; MORANDI, M. A. B.; RAMOS, N. P.; CAVALETT, O.; NOVAES, R. M. L. 2018. **RenovaCalcMD: Método e ferramenta para a contabilidade da Intensidade de Carbono de Biocombustíveis no Programa RenovaBio**. Disponível em: http://www.anp.gov.br/images/Consultas_publicas/2018/n10/CP10-2018_Nota-Tecnica-Renova-Calc.pdf. Acesso em: 30 de julho de 2024.

MENDES, I. D. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. D. C. **Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo**. EMBRAPA. Planaltina: Circular técnica, 2018.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, BRASIL. **Matriz Energética Brasileira: Exercício 2016**. Ed. 2017. Brasil: 2017.

MISHRA, S.; NAILWAL, T. K.; PANT, R. C. In vitro study of role of ethylene during tillering in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 16, p. 255–263, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12355-013-0251-8>

MOREIRA, E. D. S.; MARRIEL, I. E.; DOS SANTOS, C. A.; SOUSA, J. D. C.; GONTIJO NETO, M. M.; LANA, A.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A. **Fosfatase ácida e alcalina em solo sob manejo do sistema integração lavoura pecuária e floresta**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31, 2016, Bento Gonçalves. Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar: anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016.

MYHRE, G.; SHINDELL, D.; BRÉON, F. M.; COLLINS, W.; FUGLESTVEDT, J.; HUANG, J.; KOCH, D.; LAMARQUE, J. F.; MENDOZA, B.; NAKAJIMA, T.; ROBOCK, A.; STEPHENS, G.; TAKEMURA, T.; ZHANG, H. **Anthropogenic and Natural Radiative Forcing**. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013.

NANNIPIERI, P.; GIAGNONI, L.; LANDI, L.; RENELLA, G. Role of phosphatase enzymes in soil. In: Bunemann E, Oberson A, Frossard E (eds) Phosphorus in action. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 215–243, 2011. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9

OLIVEIRA, F. M.; ASPIAZÚ, I.; KONDO, M. K.; BORGES, I. D.; PEGORARO, R. F.; VIANNA, E. J.; Crescimento e produção de variedades de cana-de-açúcar influenciadas por diferentes adubações e estresse hídrico. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 5, n. 1, p. 56, 2011. <http://dx.doi.org/10.0000/rtcab.v5i1.305>

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; URQUIAGA, S.; REIS, S. V. M.; BALDANI, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, n. 1/2, p. 23-32, 2006. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-0025-0>

OLIVEIRA, M. W.; FREIRE, F. M.; MACÊDO, G. A. R.; FERREIRA, J. J. **Nutrição mineral e adubação da cana-de-açúcar**. Informe Agropecuário, v.28, n.239, p.30- 43, 2007. Disponível em: https://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/downloads/unesp_jaboticabal/oliveira_cana_informeagropec.pdf. Acesso em 09 de setembro de 2024.

OLIVEIRA, R. P.; SCHULTZ, N.; MONTEIRO, R. C.; PEREIRA, W.; ARAÚJO, A. P.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Growth analysis of sugarcane inoculated with diazotrophic bacteria and nitrogen fertilization, **African Journal of Agricultural Research**, v. 11(30), p. 2786-2795, 2016.

OTTO, R. **Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados a mineralização do N do solo e a adubação nitrogenada**. 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Solo e Nutrição de Plantas) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012. <https://doi.org/10.11606/T.11.2012.tde-23032012-171851>

PANG, Z.; TAYYAB, M.; KONG, C.; LIU, Q.; LIU, Y.; HU, C.; HUANG, J.; WENG, P.; ISLAM, W.; LIN, W.; YUAN, Z. Continuous Sugarcane Planting Negatively Impacts Soil Microbial Community Structure, Soil Fertility, and Sugarcane Agronomic Parameters. **Microorganisms**, v. 9, 2008. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102008>.

PATIL, V. P. 2005 **Mineral Phosphate Solubilization And Molecular Diversity Of Azospirillum**. 2005. 66f. Dissertação (Mestrado Em Agricultura) – University Of Agricultural Sciences, Dharwad, 2005.

PARK, K. H.; LEE, C. Y.; SON, H. J. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant

growth-promoting activities. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, p.222- 228, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2009.02642.x>

PARK, S. E.; WEBSTER, T. J.; HORAN, H. L.; JAMES, A. T.; THORBURN, P. J. A legume rotation crop lessens the need for nitrogen fertiliser throughout the sugarcane cropping cycle. **Field Crops Research**, v. 119, p. 331–341, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.08.001>

PEI, H.; WANG, H.; WANG, L.; ZHENG, F.; DONG, C. H. **Regulatory function of ethylene in plant responses to drought, cold, and salt stresses**. In: PANDEY, G. K. (Ed.). Mechanism of plant hormone signaling under stress. London: John Wiley & Sons, 2017. p. 322-344. <https://doi.org/10.1002/9781118889022.ch13>

PEREIRA, V. H.; ROSA-MAGRI, M. M. Compatibilidade entre a bactéria diazotrófica *Nitrospirillum viridazoti* e vinhaça: alternativa para a nutrição de cana-de-açúcar. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**, v. 11(1), p. 8-8, 2021. <https://doi.org/10.4322/2359-6643.11204>

POSIT TEAM. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. Posit Software, PBC, Boston, MA, 2024. <http://www.posit.co/>

REDE INTERUNIVERSITÁRIA PARA O DESENVOLVIMENTO DO SETOR SUCROALCOOLEIRO (RIDESA). **45 anos de variedades RB**, Curitiba, 2015. 136 p. Disponível em: https://936ff074-bc31-4c95-865a-e84779eed5aa.filesusr.com/ugd/097ffc_96da199c42e04e64baa981fff181f245.pdf. Acesso em: 09 de abril de 2024.

REETZ, H. F. **Fertilizantes e o seu uso eficiente**. São Paulo: ANDA; 2017. (Lopes AS, tradutor). Disponível em: <https://www.ufla.br/dcom/wp-content/uploads/2018/03/Fertilizantes-e-seu-uso-eficiente-WEB-Word-Ouubro-2017x-1.pdf>. Acesso em: 09 abr 2024

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Life in grasses: Diazotrophic endophytes. **Trends Microbiology**, v. 6, p. 139–144, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01229-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01229-3)

REIS, V. M.; RIOS, F. A.; BRAZ, G. B. P.; CONSTANTIN, J.; HIRATA, E. S.; BIFFE, D. F. Agronomic performance of sugarcane inoculated with *Nitrospirillum viridazoti* (br11145). **Revista Caatinga**, v. 33, n. 4, p. 918-926, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n406rc>

RIBEIRO, N. V. S.; VIDAL, M. S., BARRIOS, S. C. L. ET AL. Genetic diversity and growth promoting characteristics of diazotrophic bacteria isolated from 20 genotypes of *Brachiaria* spp.. **Plant Soil**, v. 451, p. 187–205, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04263-y>

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M.; MCNEILL, A. M.; PRIGENT-COMBARET, C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion

by microorganisms. **Plant Soil**, v. 321, p. 305–339, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>

ROSA, P. A. L.; GALINDO, F. S.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; MORTINHO, E. S.; FERNANDES, G. C.; MAREGA, E. M. R.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with Plant Growth-Promoting Bacteria to Reduce Phosphate Fertilization Requirement and Enhance Technological Quality and Yield of Sugarcane. **Microorganisms**, v. 10, p. 192. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010192>

SANTOS, I. B.; LIMA, D. R. M.; BARBOSA, J.G.; OLIVEIRA, J.T.C.; FREIRE, F.J.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. **Bioscience Journal**, v.38, n.1, 2012.

SANTOS, S. G. dos; RIBEIRO, F. D.; FONSECA, C. S.; PEREIRA, W.; SANTOS, L. A.; REIS, V. M. Development and nitrate reductase activity of sugarcane inoculated with five diazotrophic strains. **Archives of Microbiology**, v. 199, p. 863-873, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1357-2>

SARANRAJ, P.; JAYAPRAKASH, A.; DEVI, V.; TAWAHA, A.; Y TAWAHA, R. Isolation and nitrogen fixing efficiency of *Gluconacetobacter diazotrophicus* associated with sugarcane: A review. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v, 78, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/788/1/012171>

SARAVANAN, V. S.; MADHAIYAN, M.; OSBORNE, J.; THANGARAJU, M.; SA, T. Ecological occurrence of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and nitrogen-fixing *Acetobacteraceae* members: their possible role in plant growth promotion. **Microbial Ecology**, v. 55, p. 130–140, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9258-6>

SARAVANAN, V. S.; MADHAIYAN, M.; THANGARAJU, M. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth-promoting bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Chemosphere**, v. 66, p.1794–1798, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.067>

SCHWAB, S.; TERRA, L. A.; BALDANI, J. I. Genomic characterization of *Nitrospirillum viridazoti* strain CBAmC, a nitrogen-fixing bacterium isolated from surface-sterilized sugarcane stems. **Molecular Biology & Functional Genomics**, v. 293, p. 997–1016, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00438-018-1439-0>

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SILVA, P.; BALDANI, J.; BODDEY, R.; ALVES, B.; URQUIAGA, S.; REIS, V. Yield of sugarcane varieties and their sugar quality grown in different soil types and inoculated with a diazotrophic bacteria consortium. **Plant Production Science**, v. 20(4), p. 366-374, 2017. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2017.1374869>

SCHULTZ, N.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. **Resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada: fontes nitrogenadas, formas de aplicação, épocas de aplicação e efeito varietal** (Documentos - INFOTECA-E). EMBRAPA. Seropédica, 2015.

SCUDELETTI, D.; CRUSCIOL, C. A. C.; BOSSOLANI, J. W.; MORETTI, L. G.; MOMESSO, L.; SERVÁZ TUBAÑA, B. et al. *Trichoderma asperellum* inoculation as a

tool for attenuating drought stress in sugarcane. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 570, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.645542>

SHUKLA, S.K.; JAISWAL, V.P.; SHARMA, L.; TIWARI, R.; PATHAK, A. D.; GAUR, A.; AWASTHI, S. K.; SRIVASTAVA, A. Trash management and *Trichoderma harzianum* influencing photosynthesis, soil carbon sequestration, and growth and yield of sugarcane ratoon in subtropical India. **European Journal of Agronomy**, v. 141: 126631, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126631>

SICA, P. S.; SHIRATA, E. S.; RIOS, F.A.; BIFFE, D. F.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; ESTRADA, K. R. F. S.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Impact of N-fixing bacterium *Nitrospirillum viridazoti* on quality and quantitative parameters of sugarcane under field condition. **Australian Journal Crop Science**, v. 14(12), p.1870-1875, 2020. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220628>

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2009. 627p.

SILVA, M. A.; CATO, S. C.; COSTA, A. G. F. Produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos. **Ciência Rural**, v.24, n.2, p.23-33, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000057>

SILVA, E. R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; ZOZ, T.; Vendruscolo, E.P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, v. 201, p. 325–335, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-01617-5>

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. London: Academic Press, 2008.

SINGH, P.; SINGH, R. K.; LI, H. B.; GUO, D. J.; SHARMA, A.; LAKSHMANAN, P., MALVIYA, M. K.; SONG, X. P.; SOLANKI, M. K.; VERMA, K. K.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Diazotrophic Bacteria *Pantoea dispersa* and *Enterobacter asburiae* Promote Sugarcane Growth by Inducing Nitrogen Uptake and Defense-Related Gene Expression. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.600417>

SINGH, P.; SINGH, R. K.; LI, H. B.; GUO, D. J.; SHARMA, A.; VERMA, K. K.; LI, Y. R. Nitrogen fixation and phytohormone stimulation of sugarcane plant through plant growth promoting diazotrophic *Pseudomonas*. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 1, 2023. <https://doi.org/10.1080/02648725.2023.2177814>

SINGH, R. K.; SINGH, P.; SHARMA, A.; GUO, D.-J.; UPADHYAY, S. K.; SONG, Q.-Q.; VERMA, K. K.; LI, D.-P.; MALVIYA, M. K.; SONG, X.-P. ET AL. Unraveling Nitrogen Fixing Potential of Endophytic Diazotrophs of Different *Saccharum* Species for Sustainable Sugarcane Growth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 6242, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms23116242>

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. N.; NÖRNBERG, J. L.; MEINERZ, G. R.; TONIN, T. J.; BERNHARD, P.; FRATA, M. T. Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and

silage quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n.9, p.722-730, 2017. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000900003>

SOBUCKI, L.; RAMOS, R. F.; BELLÉ, C.; ANTONIOLLI, Z. I. Manejo e qualidade biológica do solo: uma análise. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 3, 2019. <https://doi.org/10.29372/rab201904>

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 31, p. 425-448, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>

SUMAN, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; GAUR, A. Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. **Plant Growth Regulator**, v. 54, p. 1-11, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9219-6>

STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES INC. **SPSS statistics for Windows, version 17.0**. Chicago: SPSS Inc, 2008.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot statistics user's guide**, version 11.2 ed. Systat Software, Inc., San Jose, Costa Rica, 2009.

TAHIR, M.; MIRZA, M.; ZAHEER, A.; ROCHA DIMITROV, M.; SMIDT, H.; HAMEED, S. Isolation and identification of phosphate solubilizer *Azospirillum*, *Bacillus* and *Enterobacter* strains by 16S rRNA sequence analysis and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, v. 7, pp. 1284-1292, 2013.

TAKEDA, N.; FRIEDL, J.; ROWLINGS, D.; DE ROSA, D.; SCHEER, C.; GRACE, P. No sugar yield gains but larger fertiliser 15N loss with increasing N rates in an intensive sugarcane system. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 121, p. 99–113. <https://doi.org/10.1007/s10705-021-10167-0>

TAYYAB, M.; YANG, Z.; ZHANG, C.; ISLAM, W.; LIN, W.; ZHANG, H. Sugarcane monoculture drives microbial community composition, activity and abundance of agricultural-related microorganisms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 48080–48096, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14033-y>

TERRA, L. A. **Genômica Funcional da Bactéria fixadora de Nitrogênio *Nitrospirillum viridazoti* em Interação com o Fluido do Apoplasto de Cana-de-açúcar: Abordagens Transcriptômica e Proteômica**. 2018. 149 f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

TOMLINSON, K. W.; O'CONNOR, T G. Control of tiller recruitment in bunchgrasses: uniting physiology and ecology. **Functional Ecology**, v. 18, p. 489–496, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00873.x>

VACHERON, J.; RENOUD, S.; MULLER, D.; BABALOLA, O. O.; PRIGENT-COMBARET, C. **Alleviation of abiotic and biotic stresses in plants by *Azospirillum***.

In: Cassain FD et al (eds) Handbook for *Azospirillum*, Technical issues and protocol. Springer International Publishing, Basel, pp 333–365, 2015.

VANDE BROEK, A.; GYSEGOM, P.; ONA, O.; HENDRICKX, N.; PRINSEN, E.; VAN IMPE, J.; VANDERLEYDEN, J. Transcriptional analysis of the *Azospirillum brasilense* indole-3-pyruvate decarboxylase gene and identification of a cis-acting sequence involved in auxin responsive expression. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 18, p. 311–323, 2005. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0311>

VANDE BROEK, LAMBRECHT, M.; EGGERMONT, K.; VANDELEYDEN, J. Auxins upregulated expression on the indole-3- pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasilense*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 181, p.1338-1342, 1999. <https://doi.org/10.1128/jb.181.4.1338-1342.1999>

VAZQUEZ, P.; HOLGUIN, G.; PUENTE, M.; LOPEZ-CORTES, A.; BASHAN, Y. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, p. 460-468, 2000. <http://dx.doi.org/10.1007/s003740050024>

VIANA, R. S.; MOREIRA, B. R. A.; LISBOA, L. A. M.; SANDU JUNIOR, R.; NOGUEIRA, T. A. R.; FIGUEIREDO, P. A. M.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; RAMOS, S. B. Morphological changes in sugarcane crop induced by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. **Sugar Tech**, v. 22, p. 241–249, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00773-2>

URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: Nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of America Journal** v. 56, p. 105-114, 1992. <https://doi.org/10.2136/sssaj1992.03615995005600010017x>

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>

ZHANG, J.; HUSSAIN, S.; ZHAO, F.; ZHU, L.; CAO, X.; YU, S.; JIN, Q. Effects of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* on nitrogen transformation and enzyme activity in the rice rhizosphere. **Journal of Soils and Sediments**, v. 18, p. 1453–1465, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1861-7>

ZHANG, Y.; WANG, X. J.; CHEN, S. Y.; GUO, L. Y.; SONG, M. L.; GENH, H.; LI, C.; BAI, J. G. *Bacillus methylotrophicus* isolated from the cucumber rhizosphere degrades ferulic acid in soil and affects antioxidant and rhizosphere enzyme activities. **Plant Soil**, v. 392, p. 309–321, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2464-y>