UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PAULO MÁRCIO FARIA VILLELA

Interação da adubação nitrogenada e *Azospirillum* brasiliense em soqueira de cana-de-açúcar

PAULO MÁRCIO FARIA VILLELA

Interação da adubação nitrogenada e *Azospirillum* brasiliense em soqueira de cana-de-açúcar

"Versão corrigida"

Dissertação apresentada à faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências do programa de pós- graduação em Zootecnia.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – o autor

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Serviço de biblioteca e informação da Faculdade de zootecnia e engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP

FARIA VILLELA, PAULO MÁRCIO

FV735i Interação da adubação nitrogenada e *Azospirillum brasiliense* em soqueira de cana-de-açúcar / Paulo Márcio Faria Villela; Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique de Cerqueira Luz. – Pirassununga, 2018.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

 Saccharum spp 2. Biológicos 3. Azospirillum 4. Adubação nitrogenada. I. CERQUEIRA LUZ, PEDRO HENRIQUE, oriente. II. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais

Por todo o amor e compreensão

À minha família

Que sempre me incentivaram e estiveram ao meu lado em todos os momentos.

À minha esposa

Por estar sempre junto de mim.

Aos meus amigos

Por toda amizade e parceria nessa caminhada na pós-graduação e também nos momentos de lazer.

Aos professores e docentes

Que sempre estiveram disponíveis para me ajudar e por todo o aprendizado nesta jornada.

À faculdade

Pela infraestrutura e apoio

Aos trabalhadores do campo

Por todo o esforço, dedicação e amor por seu trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** pelo Dom da Vida, por me dar forças, animo, coragem, sabedoria, discernimento e humildade nesta trajetória.

Ao Professor Dr. **Pedro Henrique de Cerqueira Luz**Pela sua orientação, paciência, conselhos e por todo o aprendizado.

Aos professores Dr. **Valdo Herling** e Dr. **Rafael Otto**Pelos conselhos e incentivos.

Ao meu padrinho/amigo Ms. **Thiago Cardoso de Oliveira**Por todo o apoio, incentivo e ajuda desde o começo até o fim.

Ao meu amigo/irmão/padrinho **Antonio Malvestitti**Por todo o trabalho e parceria durante a graduação e a pós-graduação.

A toda Família Malvestitti

Que sempre estiveram do nosso lado ajudando e nos ensinando.

A minha esposa Isabela

Por estar sempre ao meu lado me incentivando em todos os momentos.

Aos meus pais Luís Otávio e Rosária

Por todo o amor, carinho e educação que foram fundamentais para que tudo acontecesse em minha vida.

Aos meus irmãos João Otávio, Cássio, Luísa, Gisela, Lívia, Dino José, Pedro Afonso, Veridiana, Estevão, Luís Henrique e José Tomas

Pela união, amor e companheirismo.

Aos meus sogros Edson e Rita

Pelo apoio e por estarem sempre na torcida e nas orações.

Aos meus amigos Tarcísio, Guilherme Henrique, Matheus Cardinal, Guilherme Pela, André Fonseca, André Braz, Matheus Doval, Ivan Degani

Que de forma indireta participaram desde processo.

As minhas amigas Flávia Degani, Gabriela Rinaldi, Cristiane Sbrile, Gabriela Murat, Larissa, Monique R., Monique B., Mariana Lima, Amanda Cardinal

Que de forma indireta também participaram desde processo.

Aos meus amigos **Fernando Zucchi, Dani, Filipe e Danilo**Pelo incentivo e parceria nestes anos.

A todos os docentes e amigos do FZEA-USP, **Jéssica**, **Paula**, **Paulo Toneti**, **Suellen** pela amizade e ajuda durante este ciclo.

A CAPES

Pela bolsa concedida para a pesquisa.

A Stoller

Pela estrutura e apoio durante os trabalhos.

Às Usinas FERRARI, IPIRANGA e SÃO JOÃO

Pela disponibilidade e ajuda no processo de campo.

E agradeço também a todos que de alguma forma fizeram parte deste processo tão importante de minha vida, muito obrigado!

"O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis."

(Fernando Pessoa)

RESUMO

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas no cenário nacional e tem grande importância nos fatores econômicos, sociais e ambientais. O nitrogênio é um macronutriente essencial para a planta e a adubação nitrogenada é um manejo de muita importância, mas ao mesmo tempo difícil de se trabalhar devido a suas formas de perdas no solo e na planta. A inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* em cana-de-açúcar pode ser considerada uma alternativa capaz de contribuir para a sustentabilidade do manejo da adubação nitrogenada e do seu melhor aproveitamento. O objetivo do trabalho foi de verificar se há benefícios da bactéria Azospirillum no manejo da adubação nitrogenada em soqueira de cultura da cana-deaçúcar, minimizar a adubação nitrogenada com o uso de inoculação da bactéria Azospirillum. O experimento foi realizado em Porto Ferreira - SP, o delineamento foi em blocos casualizados com 7 tratamentos (0 kg N/ha, 120 kg N/ha, 60 kg N/ha, 60 kg N/ha + 200 ml Azospirillum, 60 kg N/ha + 400 ml Azospirillum, 60 kg N/ha + 600 ml Azospirillum e 60 kg N/ha + 800 ml Azospirillum). Observamos que não houve respostas para a adubação nitrogenada e nem para a aplicação foliar de Azospirillum em soqueira de CTC 20, somente para as doses de Azospirillum apresentou resposta quadrática com a máxima produção de colmos e açúcar por unidade de área para 400 mL do inoculante, para os parâmetros tecnológicos não houve efeito da adubação nitrogenada e nem da inoculação com Azospirillum, a inoculação com Azospirillum e a adubação nitrogenada não implicaram em respostas nos teores de macro e micronutrientes em soqueira de CTC 20, a adubação nitrogenada e a inoculação não afetaram nos teores de clorofila da folha da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Saccharum spp, biológicos, FBN, adubação nitrogenada.

ABSTRACT

Sugarcane is one of the main crops on the national scene and has great importance in social, social and environmental factors. Nitrogen is an essential macronutrient for a plant and nitrogen fertilization is a very important management, but at the same time difficult to work due to its loss of soil and plant. Inoculation with the genus Azospirillum cana-of-coal may be an alternative capable of contributing to the sustainability of nitrogen fertilization and its better utilization. The objective of this work was to verify the advantages of the Azospirillum bacterium in the nitrogen fertilization in a sugar cane crop soya, in a nitrogen fertilization with the inoculation of the Azospirillum bacterium. The experiment was carried out in Porto Ferreira - SP, Brazil, in a randomized block design with 7 sessions (0 kg N / ha, 120 kg N / ha, 60 kg N / ha, 60 kg N / ha + 200 ml Azospirillum, 60 kg N / ha + 400 ml Azospirillum, 60 kg N / ha + 600 ml Azospirillum and 60 kg N / ha + 800 ml Azospirillum). Observations that were not necessary for nitrogen fertilization or for the Azospirillum foliar application in CTC 20 ratoon, only for the doses of Azospirillum, which were added to the nutrient solution of 400 mL of the inoculant, Nitrogenated Nitrogenated Nitrogenated Nitrogenated Nitrogenated Nitrogenated nitrogenous nitrogen in the nitrogenium nitrogen and nitrogliceric acid nitrogen nitrogen in the soil of nitrogliceric acid nitrogen and the inoculation nitrogen nitrogen chlorophyll of the leaf of the sugarcane.

Keywords: Saccharum spp, biological, FBN, nitrogen fertilization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Área produtiva de cana-de-açúcar na região centro-sul16
Figura 2 – Ciclo do nitrogênio no solo
Figura 3 – Localização da cidade de Porto Ferreira no Estado de São Paulo23
Figura 4 – Localização da área experimental
Figura 5 – Aplicação via pulverização foliar do inoculante Masterfix Gramineas ® a base de <i>Azospirillum brasiliense.</i> Porto Ferreira/SP, 2016
Figura 6 – Visão geral da área experimental. Porto Ferreira/SP, 201632
Figura 7 – Feixes de 10 colmos para a análise tecnológica. Porto Ferreira/SP, 2017 33
Figura 8 – Colheita de 10 metros lineares e pesagem dos colmos
Figura 9 – Medidas das variáveis biométricas. Porto Ferreira/SP, 201734
Figura 10 – Balanço hídrico climatológico no ciclo da cana-soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017
Figura 11 – Extrato do balanço hídrico no ciclo da cana- soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017
Figura 12 – Extrato detalhado do balanço hídrico no ciclo da cana- soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017
Figura 13 – Temperatura e Precipitação no ciclo da cana-soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017
Figura 14 – Regressão polinomial do diâmetro de colmos (cm) em função de diferentes doses de Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 201746
Figura 15 – Regressão polinomial da produtividade (TCH) em função de diferentes doses de Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Figura 16 – Regressão polinomial do teor de cálcio na folha (g kg-1) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Figura 17 – Regressão polinomial do teor de boro na folha (mg kg-1) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição dos tratamentos com diferentes doses de nitrogênio e inoculante. Porto Ferreira/SP, 201630
Tabela 2 – Caracterização química e física do solo da unidade experimental. Porto Ferreira/SP, 201631
Tabela 3 – Variáveis biométricas na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Tabela 4 – Produtividade na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Tabela 5 – Variáveis tecnológicas na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Tabela 6 – Teor de macronutrientes na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Tabela 7 – Teor de micronutrientes na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017
Tabela 8 – Índice de clorofila na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de <i>Azospirillum brasiliense</i> . Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. A importância econômica da cana-de-açúcar	15
2.2. O uso de nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar	16
2.3.Bactérias fixadoras de nitrogênio	22
2.4. A fixação biológica de nitrogênio na cana-de-açúcar	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1. Caracterização da área experimental, do clima, do solo e da planta	28
3.2. Delineamento experimental e tratamentos estudados	29
3.3. Instalação e condução do experimento	30
3.4. Variáveis analisadas	34
3.4.1. Teor foliar de nitrogênio	34
3.4.2. Índices de falhas	35
3.4.3. Índices biométricos	35
3.4.4. Colheita e avaliação da produção	35
3.4.5. Análises tecnológicas	35
3.5. Balanço hídrico climatológico	35
3.6. Análise Estatística	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1. Balanço Hídrico Climatológico no ciclo da cana-soca	36
4.2. Variáveis biométricas	41
4.3. Produtividade agrícola e industrial	47
4.4. Teor de nutrientes na folha	55
5. CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS RIRI IOCRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas no cenário nacional e tem grande importância nos fatores econômicos, sociais e ambientais. A produção de cana-de-açúcar da safra 2017/2018 foi superior a 630 milhões de toneladas numa área plantada de aproximadamente 9 milhões de hectares com produtividade média de 72,7 toneladas por hectare (CONAB, 2018). Esta produtividade é considerada muito baixa em relação ao potencial da cultura. Com isso, buscam-se novas tecnologias que sejam capazes de aumentar as produtividades e também a qualidade tecnológica da cultura da cana-de-açúcar, gerando maiores rendimentos e rentabilidades aos produtores e indústrias.

O nitrogênio é um nutriente essencial para a planta, pois é parte constituinte de todos os aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos e participa direta ou indiretamente de vários processos bioquímicos e também fornece energia necessária à produção de carboidratos e esqueletos carbônicos, o que se reflete diretamente no desenvolvimento e rendimento da cultura da cana-de-açúcar (MALAVOLTA et al., 1997).

A adubação nitrogenada é uma prática agrícola de muita importância, mas ao mesmo tempo difícil de se trabalhar, porque há grandes perdas de nitrogênio no solo por lixiviação, perdas gasosas (NH₃), erosão e a própria extração da cultura, além do seu custo elevado. Por estes fatores, há grande necessidade do uso de tecnologias que aumentam a eficiência do nitrogênio no solo, como adubos protegidos, parcelamento de adubações, fontes adequadas para o tipo de aplicação e fixação biológica de nitrogênio.

O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em gramíneas ocorre por meio de bactérias diazotróficas e a bactéria mais estudada e utilizada é a *Azospirillum* spp. que tem vida livre no solo, não tem associação simbiótica com as raízes da canade-açúcar mas fixam nitrogênio da atmosfera e disponibilizam no solo. O *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento em plantas de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da terra, que também, bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas, ou seja, agem em processos dentro da planta (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987; HUERGO et al., 2008).

A inoculação com bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar pode ser considerada uma alternativa capaz de contribuir para a sustentabilidade desse setor, uma vez que a atuação de mecanismos de promoção de crescimento e o suprimento

do N via fixação biológica de nitrogênio (FBN) permite ganhos de produtividade e reduzem a utilização de insumos de alto custo. Estima-se que a contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar no Brasil seja pelo menos 40 kg ha⁻¹ de N (URQUIAGA et al., 2012). Além da fixação biológica do nitrogênio, as bactérias diazotróficas fazem pontes na produção de reguladores de crescimento e isso também é um fator que influencia no crescimento de plantas (SPAEPEN et al., 2007; CASSÁN et al., 2014), obtendo maior desenvolvimento do sistema radicular, que torna a absorção de água e nutrientes mais eficiente.

O grande interesse na fixação biológica em *poaceaes* é devido a maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas em relação às leguminosas, pela maior efetividade fotossintética. As *poaceaes* apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das *fabaceaes* para extrair água e nutrientes do solo (DÖBEREINER, 1992).

Ainda que tenham estudos recentes na área de inoculação com bactérias diazotróficas buscando a fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar, não sabe-se ainda quais as quantidades necessárias para a cultura e o quanto da adubação nitrogenada esta prática irá diminuir. Neste sentido, o emprego de várias doses de bactéria e sua interação com a substituição parcial da adubação nitrogenada, possibilitará novos caminhos para incrementos na produtividade, redução de custos e qualidade da cultura da cana-de-açúcar.

HIPÓTESES

- 1) Com o uso da bactéria *Azospirillum* seria possível diminuir 50%* da adubação nitrogenada em soqueira de cana-de-açúcar.
- 2) Ajustar a dose da bactéria para a cultura da cana-de-açúcar soqueira para que com metade da dose de nitrogênio se iguale ou seja superior a adubação de 120 kg N/ha em cobertura.

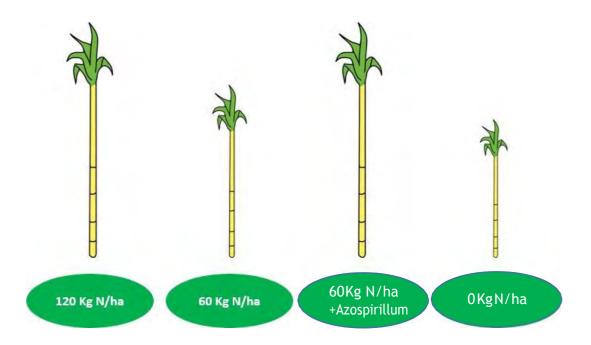


Imagem ilustrativa da hipótese. Fonte: Autoria própria.

*: é o mínimo necessário para o registro de produtos para este fim.

OBJETIVOS

- Maximizar a necessidade da adubação nitrogenada em cana-de-açúcar com o uso de inoculação da bacteria Azospirillum.
- 2) Ajustar a dose da bactéria para soqueira de cana-de-açúcar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A importância econômica da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar figura como uma das grandes alternativas para o setor de biocombustíveis brasileiro devido ao grande potencial na produção de etanol e demais subprodutos. Além da produção de etanol e açúcar, as usinas têm buscado operar com maior eficiência, inclusive com a geração de energia elétrica, auxiliando na redução dos custos e contribuindo para a sustentabilidade da atividade (CONAB, 2018).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo grande importância para o agronegócio brasileiro. O aumento da demanda mundial por etanol, oriundo de fontes renováveis, aliado às grandes áreas cultiváveis e condições edafoclimáticas favoráveis à cana-de-açúcar, tornaram o Brasil um país importante para a exportação dessa commoditie (CONAB, 2018).

A cana-de-açúcar possui grande importância social e econômica no Brasil, principalmente no sudeste brasileiro, que possui mais de 60% da área plantada com a cultura, sendo pouco mais de 50% no estado de São Paulo (CONAB, 2016). De acordo com Nastari (2015), ocupa a segunda posição dentro do valor da produção agrícola, respondendo pela geração de valor estimada em R\$ 58,8 bilhões em 2015. A produtividade média no estado de São Paulo foi de 77,5 t ha-1 no ano agrícola de 2016/2017, que equivale apenas 22% do potencial genético da cultura, e a produtividade média brasileira da safra 2016/2017, de 72,6 t ha-1, conclui-se que esta produtividade equivale a 20% do potencial biológico de produção da cana-de-açúcar (LANDELL et al., 2015; UNICA, 2017). Observa-se que o setor possui grande desafio de aumentar à produtividade, com o uso de novas tecnologias e manejos, promovendo a sustentabilidade da produção dos canaviais (LANDELL et al., 2015).

Para a safra 2018/19, estima-se a produção de cana-de-açúcar em 626 milhões de toneladas, redução de 1,2% em relação à safra 2017/2018. A área colhida está estimada em 8,61 milhões de hectares, queda de 1,3% se comparada com a safra anterior.

A produção de açúcar deverá atingir 35,5 milhões de toneladas, retração de 6,3% ao produzido na safra 2017/18, reflexo da maior produção mundial de açúcar. A produção de etanol será de 28,16 bilhões de litros, incremento de 1,4% nessa safra em razão da maior destinação do ATR produzido para etanol anidro. A produção de

etanol anidro, utilizado na mistura com a gasolina, deverá ter aumento de 7%, alcançando 11,9 bilhões de litros, influenciada pelo consumo de gasolina nos últimos anos. Já, a produção do etanol hidratado deverá ser de 16,3 bilhões de litros, redução de apenas 2,3% ou 380,4 milhões de litros (CONAB, 2018).

Na região sudeste a área colhida deverá ser inferior à safra passada, devido à devolução de terras arrendadas e rescisão de contratos com fornecedores. A expectativa é de manutenção dos patamares de produtividade em relação à safra anterior.

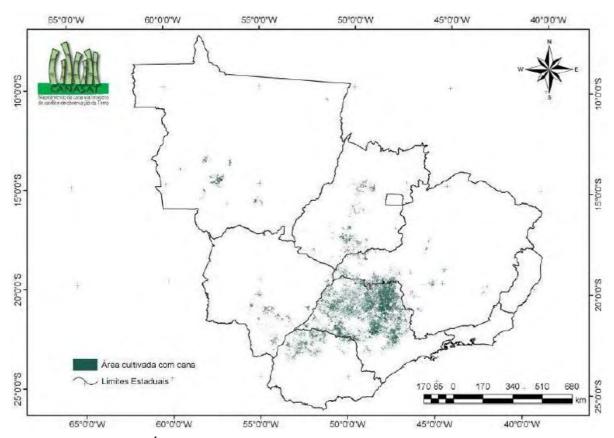


Figura 1 – Área produtiva de cana-de-açúcar na região centro-sul. (Fonte: Adaptado de MARIN, 2014; CANASAT, 2018).

2.2. O uso de nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar

O nitrogênio (N) é um importante nutriente para a planta, pois é constituinte de todos os aminoácidos, enzimas e participa direta ou indiretamente de vários processos bioquímicos, além de atuar na produção de carboidratos e esqueletos carbônicos, o que se reflete diretamente no desenvolvimento e rendimento da cultura da cana-de-açúcar (MALAVOLTA et al., 1997).

O N é, em geral, o elemento que as plantas demandam em maior quantidade. Porém, devido à multiplicidade de reações químicas e biológicas que ocorrem no sistema solo-planta-atmosfera, o N é o nutriente que apresenta maiores dificuldades de manejo na produção agrícola, sendo que o seu uso deve ser bem orientado, buscando-se tecnologias e práticas de manejo que aumentem a eficiência de utilização, tais como o parcelamento da adubação nitrogenada e formas de suprimento de N via fixação biológica (SCHULTZ, 2012).

O N está diretamente relacionado com a produtividade das culturas e encontra-se em solos brasileiros, predominantemente na forma orgânica (95% do N total do solo), complexado em restos vegetais parcialmente decompostos e nos húmus, que não são assimiláveis pela planta, e também nas frações inorgânicas como o nitrato e amônio, formas aproveitadas pelos vegetais, porém disponíveis em menor quantidade (NOVAIS et al, 2007; COSTA, 2014).

Esse elemento é componente de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos, compostos que são ligados diretamente a estrutura da planta, e quando este nutriente está em deficiência, causa rapidamente a inibição do crescimento vegetal, pouca produção de perfilhos, e consequentemente a planta fica com porte baixo e com os teores de proteína insuficientes para suprir a exigência nutricional do animal (TAIZ e ZEIGER, 2013; BOSA, 2014).

Na utilização da adubação nitrogenada deve-se considerar que o N é um nutriente dinâmico, que sofre transformações e pode ser facilmente perdido por lixiviação, volatilização na forma amoniacal (N-NH₃), desnitrificação e mobilização (RAMBO et al., 2004), demonstrando que o parcelamento do N é uma alternativa para tentar diminuir as perdas e melhorar o fornecimento do nutriente para a cultura (Figura 2).

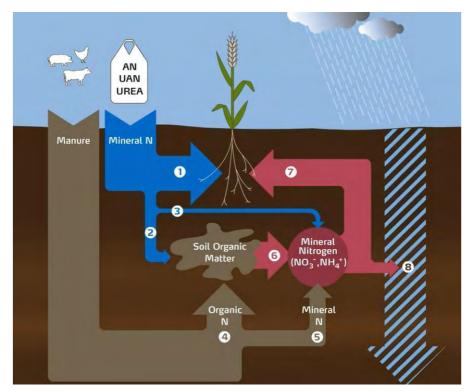


Figura 2 – Ciclo do nitrogênio no solo.

(1) Adição de N mineral ao sistema via fertilizante; (2) N imobilizado na matéria orgânica do solo (MOS); (3) N incorporado a fração mineral do solo; (4) N orgânico adicionado ao sistema imobilizado na MOS; (5) N orgânico mineralizado e incorporado a fração mineral do solo; (6) N sendo mobilizado da MOS para a fração mineral; (7) N da fração mineral do solo prontamente disponivel para absorção; (8) N lixiviado. (Fonte: YARA INTERNATIONAL, 2013).

O manejo dos fertilizantes nitrogenados devem ser realizados de maneira adequada para garantir o desenvolvimento e a produtividade da cultura, pois o excesso pode provocar perdas e a contaminação do ambiente (FERNANDES e LIBARDI, 2007) além de caracterizar gasto desnecessário. Assim, a dose, a época de aplicação e as condições do solo devem ser realizadas com o intuito de suprir a planta nas fases críticas, para reduzir as perdas de N e minimizar os custos de adubação.

Na cana-de-açúcar, o N é um nutriente extraído em grandes quantidades pela cultura, ficando atrás somente do potássio. A planta de cana exporta cerca de 0,7 a 1,4 kg de N por tonelada de colmos produzidos (KORNDÖRFER et al., 1997; COLETI et al. 2002; FRANCO, 2008). Sendo assim, conclui-se que a planta extrai mais de 200 kg ha⁻¹ de N para uma produção de 100 t colmo ha⁻¹ (TCH), dos quais 90 a 100 kg ha⁻¹ são exportados com os colmos colhidos (CANTARELLA et al., 2007).

Quanto a eficiência de uso do nitrogênio, observa-se baixa porcetagem de N sendo utilizado pela cultura, variando de 7 a 28% da adubação nitrogenada feita no plantio, em cana-planta (TRIVELIN et al., 2002; GAVA et al., 2003; VITTI, 2003;

FRANCO, 2008), porém com maiores respostas à adubação nitrogenada em canasoca (CANTARELLA et al., 2007).

De acordo com Leite (2011) a adubação nitrogenada figura entres as práticas de manejo mais estudadas na cultura da cana-de-açúcar. A quantidade de N a ser aplicada está embasada no histórico da área e na expectativa de produtividade, sendo importante a identificação da exigência nutricional nos diferentes estádios de desenvolvimento fenológicos, o que possibilita realizar adubações próximas aos períodos de maior necessidade da cultura.

A recomendação de adubação nitrogenada no plantio da cana-de-açúcar, de acordo com o Boletim 100 do Instituto Agronômico de Campinas (ESPIRONELO et al., 1996) é de 30 kg ha⁻¹ de N no sulco de plantio e de 30 a 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura, 30 a 60 dias após o plantio, e em cana-soca varia de 60 a 120 kg ha⁻¹ de N, em função da produtividade esperada.

Um fator que se deve atentar no manejo da adubação nitrogenada é a presença da palhada no sistema, onde observa-se que a mobilização e as perdas de N no solo reduzem a disponibilidade do nutriente para as culturas (CANTARELLA et al., 2007; ROSSETO et al., 2008), limitando a cana-de-açúcar de expressar seu potencial produtivo.

O nitrogênio da fertilização nitrogenada em doses crescentes até 175 kg ha⁻¹ resulta em aumento linear na produtividade de colmos de uma 2^a soca; esse efeito se estende para a 3^a soca (VITTI et al., 2007).

2.3. Bactérias fixadoras de nitrogênio

As bactérias do gênero *Azospirillum* são conhecidas como bactérias promotoras de crescimento de plantas e caracterizadas como bactérias de vida livre no solo, sendo, sob algumas condições, benéficas às plantas. (BASHAN; BASHAN, 2005).

As primeiras evidências de FBN na cana-de-açúcar foram embasadas pelos trabalhos de Dobereiner (1953), onde foi verificada a ocorrência de *Azotobacter choroococcum* em solos ácidos e nos anos seguintes a presença de *Beijerinckia fluminensis* associada à rizosfera de cana-de-açúcar (DOBEREINER; RUSCHEL, 1958).

Segundo Moreira e Siqueira (2006) os microrganismos diazotróficos possuem representantes de arquebactérias, cianobactérias, bactérias gram-positivas e gram-

negativas que apresentam grande diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. Os diazotróficos podem ser de vida livre, estarem associados a espécies vegetais ou, ainda, estabelecer simbiose com *fabaceaes*. Os estudos com bactérias diazotróficas são de grande importância, devido à contribuição destas para o fornecimento de nitrogênio a diversos ecossistemas, naturais ou manejados (MOREIRA et al., 2010).

Scudeletti (2016) relata que as primeiras observações feitas indicando interações dos microrganismos diazotróficos com plantas não leguminosas foi em 1925, sob o nome de *Spirillum lipoferum* e acreditava-se que o benefício da fixação de nitrogênio em plantas não leguminosas pudesse favorecer as plantas do mesmo modo em que ocorre nas leguminosas, conhecido como fixação biológica do nitrogênio (DÖBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

A reação de redução do N_2 a NH_3 é realizada por diversos grupos de bactérias, sendo alguns organismos pertencentes ao grupo *Archaea* que tem como característica a enzima nitrogenase, conhecidos como fixadores de N_2 ou diazotróficos (CANTARELLA, 2007; VITORINO, et al., 2012).

Schultz (2012) cita o desenvolvimento de um inoculante para cana-de-açúcar pela Embrapa Agrobiologia, sendo as bactérias constituintes do inoculante a *Azospirillum amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983); *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (Baldini et al., 1986); *Glucanocetobacter diazotrophicus* (CAVALCANTE; DOBEREINER, 1998) e *Burkholderia tropica* (REIS et al., 2004). Estas bactérias possuem características muito importantes, que levam a acreditar que sejam as principais responsáveis pelas altas taxas de FBN associadas à cultura de cana-de-açúcar (BALDANI et al., 2009).

Reis Junior et al. (2000) acreditam que as bactérias diazotróficas que vivem no interior das plantas de cana-de-açúcar sejam as principais responsáveis pela FBN, devido ao fato das bactérias obterem fotoassimilados e por se encontrarem num ambiente com baixa concentração de O₂, favorecendo o processo de fixação e assimilação do N.

Em experimentos conduzidos por Cojho et al. (1993), bactérias *G. diazotrophicus* transferiram 50% do N fixado para uma levedura amilolítica.

Sevilla et al. (2001), trabalhando com as estirpes selvagem e mutante da bactéria *G. diazotrophicus*, crescendo em atmosfera marcada com ¹⁵N, demonstraram significativa contribuição da FBN na nutrição de plantas de cana-de-açúcar, porém os

mecanismos envolvem a colonização das plantas pelas bactérias fixadoras de N₂, como o próprio processo de FBN, ainda não estão totalmente elucidados (Oliveira et al., 2009).

Segundo Reis e Olivares (2006), o processo de infecção e colonização de plantas por bactérias caracterizam-se pela adesão, penetração e multiplicação no interior das plantas. Schultz (2012) explica que as bactérias diazotróficas endofíticas penetram de forma passiva e infectam a planta hospedeira, sendo que essa infecção ocorre principalmente por aberturas naturais no sistema radicular e na parte aérea das plantas. O sistema radicular apresenta-se como a principal via de acesso dessas bactérias em *poaceaes*. Dentro dos tecidos radiculares, as bactérias diazotróficas colonizam os tecidos por espalhamento sistêmico passivo (via fluxo respiratório) e ativo (via movimento flagelar) e alcançam os tecidos aéreos da planta através do xilema. Além desses mecanismos, existe a possibilidade de infecção direta da parte aérea pela abertura estomática e, em menor frequência, por meio de tricomas (BALDANI et al., 2009).

Jaime (2000) concluiu que os mecanismos de associação entre bactérias diazotróficas e a cana-de-açúcar não foram totalmente esclarecido, pois essa associação envolve diversos gêneros bacterianos e mecanismos. Segundo Urquiaga et al. (1992) e Boddey et al. (2003), a interação bactéria-planta e a eficiência da FBN são dependentes do genótipo da planta.

O nitrogênio é o nutriente mineral que influência a FBN, sendo que vários trabalhos demonstram que a adubação nitrogenada em cana-de-açúcar pode diminuir a população de organismos diazotróficos com capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico (REIS JUNIOR et al., 2000), e a redução da população de bactérias pode variar de acordo com a fonte de nitrogênio aplicada (FRANCO; NEVES, 1992).

Oliveira et al. (2006), ao estudarem a aplicação do inoculante na cultura de cana-de-açúcar em campo associado a doses de N e com solo de baixa, média e alta fertilidade, mostraram que a eficiência do inoculante é dependente da fertilidade do solo, sendo os melhores resultados observados no Planossolo sem fertilização nitrogenada, ou seja, baixa fertilidade. Entretanto, há controvérsias sobre bactérias fixadoras e adubação nitrogenada, onde outros trabalhos mostraram a redução da população de bactérias, em áreas com elevada adubação nitrogenada (PERIN et al. 2004; MEDEIROS et al. 2006).

De acordo com Muthukumarasamy et al. (1999), considera-se a bactéria Herbaspirillum spp. como mais resistente à maiores doses de nitrogênio, quando comparada com *G. diazotrophicus*.

Reis Junior et al. (2000) concluem que não há relação direta entre a presença das bactérias diazotróficas e altas doses de N, uma vez que estas continuam a fixar o nitrogênio mesmo com concentrações altas de nitrato. Provavelmente, haja uma alteração fisiológica na planta em presença de altas doses de N e, posteriormente, afetando a associação com estes microrganismos.

Quando inoculadas, as bactérias do gênero *Azospirillum* spp. podem não alcançar a eficiência similar das simbioses rizóbios em *fabaceaes*, mas o N fixado para *poaceaes* está em torno de 25 a 50 kg N ha ano⁻¹ (MOREIRA et al., 2010).

Suman et al. (2008) concluíram que variedades de cana-de-açúcar inoculadas com maior número de bactérias diazotróficas *Azospirillum* e *G. diazotrophicus*, apresentaram maior potencial de FBN, porém, quando submetidas à metade da dose recomendada (50 kg ha⁻¹) de fertilizante nitrogenado, atingiram níveis de produtividade similares aos de plantas com a dose completa e também melhoria na eficiência do uso de N-fertilizante.

Reis et al. (2009) estimam que a economia pelo uso de organismos diazotróficos em lavouras de cana-de-açúcar brasileiras com a substituição de 50% da dose recomendada de N fertilizante, 60 kg N ha⁻¹, seria de 480.000 toneladas de N por ano.

Scudeletti (2016) relata que trabalhos realizados com cana-de-açúcar mostraram que a promoção do crescimento das plantas pode não ser, necessariamente, atribuído somente à FBN, mas também à produção de fitormônios pelas bactérias, estimulando o crescimento das raízes, auxiliando no desenvolvimento nos primeiros estádios de crescimento da planta, porém, causando efeito inibitório em altas concentrações, sugerindo que a inoculação com grande número de células bacterianas viáveis pode causar inibição, ao invés de estimular o crescimento das raízes.

Diversos mecanismos promovem o crescimento das plantas, como a FBN, a produção de hormônios de plantas, estimulando a ramificação da raiz, aumentando a biomassa da parte aérea e da raiz, aumentam a permeabilidade da raiz, melhoram a absorção de nutrientes em geral, e aumentam a resistência em condições adversas como seca, salinidade e compostos tóxicos (BASHAN; BASHAN, 2005).

Hungria et al. (2010), ao avaliar a inoculação com estirpes selecionadas de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* na melhoria do rendimento de milho e trigo no Brasil, comprovaram a absorção de macronutrientes e micronutrientes pelas plantas inoculadas, e aumento na eficiência do uso dos nutrientes disponíveis.

Portugal et al. (2012), utilizando doses de N e inoculação via foliar com *A. brasilense* em milho de Cerrado, observaram incremento de 868 kg ha⁻¹ na produtividade de grãos. Galindo (2015), verificou que o diâmetro do colmo de milho foi influenciado positivamente pela inoculação com *A. brasilense*, onde os tratamentos inoculados apresentaram maior diâmetro do colmo, quando comparados aos tratamentos sem inoculação.

Silva et al. (2010), no estudo sobre FBN em pastagens com diferentes intensidades de corte, observaram que a contribuição da FBN pelas bactérias diazotróficas nas pastagens variou de 10 a 42%. Guimarães (2011) avaliou o crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp e observou incremento de 11% na massa seca do colmo, quando a planta foi inoculada com uma outra estirpe (AZ17).

Reis Júnior et al. (2000) observaram que o uso de *A. brasilense* na culturada cana-de-açúcar promoveu incrementos na produtividade de colmos de forma similar à adubação com 120 kg ha⁻¹ de N, nos ciclos de cana-planta, primeira e segunda socas, em área de cultivos comerciais.

Shultz et al. (2012) concluíram que o uso de bactérias diazotróficas promoveram incremento no desenvolvimento e produtividade similar à adição de 120 kg ha⁻¹ de N fertilizante à variedade de cana-de-açúcar RB867515. Segundo Reis et al. (2009) os estudos de inoculação com o coquetel de bactérias diazotróficas, observaram em um dos ensaios, aumento significativo de produtividade na variedade RB867515.

2.4. A fixação biológica de nitrogênio na cana-de-açúcar

O grande interesse na fixação biológica de nitrogênio em *poaceaes* é devido a maior eficiencia no uso da água das mesmas, em relação às *fabaceaes*, pela maior efetividade fotossintética. As *poaceaes* apresentam um sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das *fabaceaes*, quanto a extração de água e nutrientes do solo; e por serem as *poaceaes* amplamente utilizadas na alimentação humana. Por isso, mesmo que apenas uma parte do nitrogênio pudesse ser fornecida

pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior àquela verificada com as leguminosas que podem ser autosuficientes em nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

Apesar do N ser o nutriente mais abundante dos elementos do ar atmosférico, os animais e as plantas não são capazes de metabolizá-lo na forma gasosa e retirá-lo diretamente do ar. A função de transformar o N existente, no ar atmosférico, em formas disponíveis para as plantas e animais são realizadas por bactérias fixadoras de N e por algumas algas azuis (cianobactérias) (EMBRAPA, 2007).

O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em *poaceaes* ocorre por meio de bactérias diazotróficas, sendo as bactérias mais estudadas e utilizadas as do gênero *Azospirillum*, que apresentam vida livre no solo, não possuindo associação simbiótica com as plantas, mas fixando nitrogênio da atmosfera e disponibilizando-o no solo. As *fabaceaes* possuem uma relação simbiótica com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, onde elas colonizam as raízes das plantas, fixam e disponibilizam o nitrogênio atmosférico em uma forma disponível para as plantas, permitindo a total substituição do fornecimento de N, por exemplo na soja, diminuindo grandemente o custo de produção (SCUDELETTI, 2016).

Portanto, muitos pesquisadores têm buscado alternativas que preconiza a melhor utilização no nitrogênio pelas plantas com menores custo e sem prejudicar o meio ambiente. Nesse sentido, Santos (2013) comenta que ao integrar o potencial genético das plantas forrageiras, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias diazotróficas, essa ligação pode trazer benefícios ao produtor, com menores perdas de N para o ambiente e melhor aproveitamento pelas plantas. Uma vez que, tais microrganismos são capazes de transformarem o nitrogênio atmosférico através do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) em amônia, composto que é absorvido pelas plantas através das raízes (SANTI et al., 2013).

O solo consiste em um ecossistema bastante diversificado no qual as raízes das plantas e os microrganismos do solo competem fortemente pelos nutrientes minerais, mas também podem formar associações ou simbioses para benefícios mútuos (TAIZ e ZEIGER, 2013). No caso de as bactérias capturarem o N₂ e transformar em amônia (NH₃), disponibiliza N para ser utilizado in situ por outros microrganismos e plantas, o que o torna menos propenso a perdas por lixiviação e volatilização e caracteriza um processo biológico que fornece esse elemento de forma sustentável (SANTOS, 2013).

Os benefícios esperados tanto para as associações quanto para as simbioses, em que as bactérias fornecem o nitrogênio fixado da atmosfera e as plantas disponibilizam carboidratos e outros nutrientes para esses microrganismos (SANTI et al., 2013). Além dessas vantagens, a FBN pode promover uma economia na produção de fertilizantes nitrogenados, uma vez que, para cada 1 tonelada de amônia produzida consome-se seis barris de petróleo, e o incremento de N no solo pode chegar de 25 a 50 kg ha ano-1 de N, podendo suprir 17% da demanda das culturas (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; SANTOS, 2013).

O interesse na utilização de bactérias que fazem a fixação biológica do nitrogênio, que são capazes de contribuir para a nutrição de plantas, tem aumentado e tende a aumentar nos próximos anos, devido ao alto valor financeiro investido anualmente com fertilizantes nitrogenados e em relação ao que se chama de Agricultura Sustentável, diminuindo custos de produção e utilizando produtos biológicos (HUNGRIA et al., 2010). Trabalhos realizados por entidades idôneas demonstraram que há incremento médio no rendimento de grãos, quando inoculados com *A. brasilense*, obtendo-se aumentos de 31 e 26% na produtividade de grãos para as culturas do trigo e milho, respectivamente, porém, com fornecimento de parte do nitrogênio requerido pela planta pelo fertilizante mineral (HUNGRIA, 2011).

Os principais gêneros encontrados associados as gramíneas, desde as primeiras pesquisas até o momento, são: *Azotobacter, Azospirillum, Beijerinckia* e *Herbaspirillum* (YAMADA et al., 2007; MOREIRA et al., 2010).

Quanto à sobrevivência destes microorganismos, sabe-se que a *Azospirillum* brasilense tem baixa capacidade de sobreviver por períodos prolongados de tempo na maioria dos solos, por isso a necessidade de inocular em todos os cultivos com gramíneas. As condições físico-químicas do solo e a ausência da planta hospedeira podem afetar diretamente a população da bactéria (BASHAN et al., 1995).

As características benéficas destas bactérias podem se resumir em: capacidade de penetrar na raiz das plantas, antagonismo a agentes patogênicos, associação com várias gramíneas e com não gramíneas (morango, tabaco, café entre outras, inclusive a soja), produção de hormônios promotores de crescimento e desenvolvimento, baixa sensibilidade às variações de temperatura e ocorrência em todos os tipos de solo e clima (ARAÚJO, 2008).

Além da extensão territorial que essas plantas ocupam, possuem maior aproveitamento de água e sistema radicular mais eficiente em relação à leguminosas

e, consequentemente, gera maior produção de fotoassimilados, que irá influenciar na taxa de assimilação do N atmosférico (BOSA, 2014). Segundo esse autor, a FBN em gramíneas pode ser uma alternativa viável para aumentar o incremento de nitrogênio nos sistemas de produção com menores custos, por estar substituindo parte dos fertilizantes nitrogenados por N proveniente da atmosfera. De acordo com Moreira e Siqueira (2006), cerca de 70% dos trabalhos realizados tiveram conclusões positivas com um incremento na produção de 5-30% quando as associações estavam ocorrendo em solos de baixa intensificação (baixa aplicação de fertilizantes).

Segundo Muñoz-Garcia et al. (1991), a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum*, promoveu aumento na matéria seca de raiz e de parte aérea de 54 a 86% e de 23 a 64% respectivamente.

Plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. tem a morfologia do sistema radicular alterados como o aumento do número de radicelas, do diâmetro médio das raízes laterais e de adventícias, o que possibilita uma maior superfície de contato com o solo e então uma exploração de maior volume de solo, e aumenta a superfície de absorção das raízes da planta (OKON e VANDERLEYDEN, 1997; BERGAMASCHI, 2006; QUADROS, 2009).

Bárbaro et al. (2008) também observaram que ao utilizar o *Azospirillum* brasilense, o efeito benéfico da associação entre os microrganismos, principalmente pela capacidade que as bactérias desse gênero têm de produzir fito hormônios que promovem maior desenvolvimento do sistema radicular e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo.

Barros Neto (2008), em um experimento realizado no Paraná, considerou que no cultivo de milho na presença de *Azospirillum brasilense* pode ocorrer a redução na dose de N em de 50 kg ha⁻¹, o que já torna o manejo da inoculação viável. Além disso, verificou incremento na produtividade na ordem de 793 kg ha⁻¹ pela prática de inoculação. Esses valores são altamente significativos, principalmente com o aumento no custo de produção, nos custos dos adubos, aumento do dólar e a crise financeira do país.

Barassi et al. (2008), ao avaliarem diversos trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum brasilense*, destacaram o aumento do teor de clorofila, que reflete diretamente na melhoria dos parâmetros fotossintéticos, condutância estomática, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do

apoplasto, maior elasticidade da parede celular, aumento na altura das plantas e na fitomassa.

O sucesso das bactérias diazotróficas como o *Azospirillum brasilense* em interagir com plantas hospedeiras depende da sua capacidade para sobreviver e persistir no solo, bem como colonizar a rizosfera. Esses microrganismos apresentam a capacidade de promover o crescimento de plantas por diferentes mecanismos, tais como: aumento na atividade da redutase do nitrato, quando crescem endofíticamente nas plantas; produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno; solubilização de fosfato; fixação biológica do nitrogênio (FBN); favorecem associações benéficas de plantas com micorrizas; e aumentam o número e o comprimento de pelos radiculares e laterais. Por outro lado, podem agir indiretamente no crescimento como indutor de resistência, protegendo a planta de fungos do solo ou de bactérias fitopatogênicas (ABBSI et al., 2011).

Apesar das restrições da FBN, a associação das plantas forrageiras com as bactérias diazotróficas pode contribuir com parte do suprimento de nitrogênio para as plantas (BRASIL et al., 2005). Mesmo que essa contribuição na nutrição vegetal não seja tão significativa como a simbiose com leguminosas, mas ao analisar a área ocupada pelas gramíneas e cereais passa a ser interessante esse incremento no sistema (MOREIRA et al., 2010).

Dartora et al. (2013) observaram que a inoculação com estirpes de A. brasilense proporcionou melhor desenvolvimento da gramínea em relação à testemunha em função da interação diferenciada das bactérias com a planta proporcionando incrementos no diâmetro basal do colmo, matéria seca de parte aérea e produtividade de grãos.

Saikia et al. (2007) concluiram que plantas inoculadas com *Azospirillum* brasilense apresentaram maior taxa de fotossíntese e maior condutância estomática, resultando em maior rendimento de sementes em comparação com às plantas não-inoculadas, assim como o teor de nutrientes nas sementes foi maior em plantas inoculadas. Piccinin et al. (2015) relatam que a inoculação da *Azospirillum brasilense* proporciona acréscimos no teor de proteínas das sementes de trigo.

Schultz et al. (2012) constataram que a inoculação com *Azospirillum* brasilense em cana-de-açúcar não houve respostas em comparação com a adubação nitrogenada, mas teve semelhança com a adubação de 120 kg ha⁻¹, o que já torna muito viável o manejo da inoculação com a bactéria, gerando grande economia.

Segundo Creus et al. (2004), a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* brasilense aumenta a resistência ao estresse hídrico em gramíneas.

Schultz et al. (2012) observaram também maior vigor nas plantas, confirmado pelo aumento na produtividade, no acúmulo de matéria seca e N total na parte aérea das plantas com inoculação, e afirmam estar associado aos efeitos promotores de crescimento permitidos pela bactéria, além da FBN, como produção de fitormônios, confirmados também por outros trabalhos (FUENTES RAMÍREZ et al., 1993; SUMAN et al., 2001; BASHAN et al., 2004).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área experimental, do clima, do solo e da planta

O experimento foi implantado e conduzido na cidade de Porto Ferreira, no estado de São Paulo, Brasil (21° 85' 12,26' N, 47° 40' 21,36' W), numa altitude de 675 m., na propriedade Fazenda Santa Lúcia, de um produtor fornecedor Aristeu Malvestitti. O clima corresponde ao tipo Cwa, clima tropical húmido com inverno seco e verão quente (KÖPPEN, 1948). O solo da área é um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico de textura média (EMBRAPA, 2013). A variedade de cana-de-açúcar utilizada foi do centro de tecnologia canavieira (CTC), a CTC 20, adaptada para solos de baixa fertilidade natural, com baixos teores de argila, apresentando uma rebrota uniforme e vigorosa. O experimento foi realizado em soqueira (cana soca), no terceiro corte da cultura.

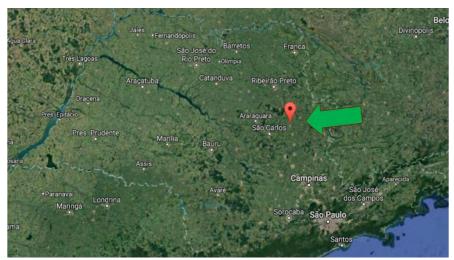


Figura 3 – Localização da cidade de Porto Ferreira no estado de São Paulo.



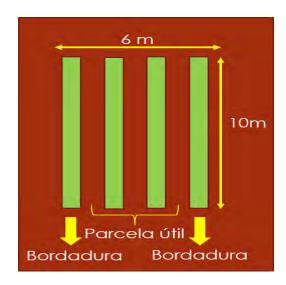
Figura 4 – Localização da área experimental.

3.2. Delineamento experimental e tratamentos estudados

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso (DBC), com 07 tratamentos repetidos 5 vezes, totalizando 35 parcelas. Os tratamentos foram compostos por diferentes doses de fertilizantes nitrogenados, 0, 60 e 120 kg ha⁻¹, e na dose de 60 kg ha⁻¹ associada a doses de inoculantes a base de *Azospirillum brasilenses*, sendo tratamentos de 0, 200, 400, 600 e 800 mL ha⁻¹. O inoculante a base de *Azospirillum brasilense* utilizado foi o Masterfix Gramíneas®, da Stoller com concentração mínima de 2x10⁸ UFC mL⁻¹. O N-fertilizante foi aplicado após o corte, utilizando-se a fonte nitrato de amônio (NH₄NO₃), e o inoculante foi aplicado via pulverização foliar, em condições de umidade relativa do ar acima de 50%, no início do período de chuvas, em que as plantas possuíam parte aérea suficiente para absorver o produto, no estágio fisiológico de 5 a 6 folhas totalmente desenvolvidas (V5 a V6).

Tabela 1 – Composição dos tratamentos com diferentes doses de nitrogênio e inoculante. Porto Ferreira/SP, 2016

Tratamento	Descrição
1 (Controle)	Controle (Sem Nitrogênio e Sem Inoculante)
2 (N120)	120 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio
3 (N60)	60 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio
4 (N60MG02)	60 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio + 200 mL ha ⁻¹ de Inoculante
5 (N60MG04)	60 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio + 400 mL ha ⁻¹ de Inoculante
6 (N60MG06)	60 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio + 600 mL ha ⁻¹ de Inoculante
7 (N60MG08)	60 kg ha ⁻¹ de Nitrogênio + 800 mL ha ⁻¹ de Inoculante



Parcela experimental.

3.3. Instalação e condução do experimento

A área já se encontrava cultivada com a cultura da cana-de-açúcar, sendo realizado o segundo corte mecanizado na data de 18/09/2016. A partir daí realizou-se a instalação do experimento, com o estaqueamento da área. Após algumas chuvas e o início da rebrota da cana-soca, realizou-se a adubação de cobertura, no dia 27/10/2016, sendo que todas as parcelas receberam a adubação de 150 kg ha⁻¹ de potássio (K₂O), inclusive o controle, na fonte cloreto de potássio, e as adubações nitrogenadas, variando de acordo com os tratamentos entre 60 a 120 kg ha⁻¹, na fonte NH₄NO₃. A adubação mineral foi realizada com base na análise de solo (tabela 2) e recomendada segundo o Boletim 100 (ESPIRONELO et al., 1996).

Tabela 2 – Caracterização química e física do solo da unidade experimental. Porto Ferreira/SP, 2016

Camada	рН	P (res)	S	K (res)	Ca	Mg	Al	H + Al	В	Cu	Fe	Mn	Zn
cm	CaCl ₂	mg dm ⁻³ (ppm)			mmolc dm ⁻³					mg dr	n ⁻³ (ppm)		
0 a 20 cm	5,7	16,0	4,0	1,1	35,0	7,0	0,0	22,0	0,4	3,0	29,0	2,3	0,8
20 a 40 cm	5,5	9,0	-	1,2	33,0	6,0	0,0	24,0	-	-	-	-	-
	M.O.	CT	SB	Т	V	m	Ca/T	Mg/T	K/T	H+AI/T			
	g	kg ⁻¹	-1 mmolo		lc dm ⁻³			%					
0 a 20 cm	14,0	83,0	43	65	66	0	54	11	2	34			
20 a 40 cm	15,0	88,0	40	64	63	0	52	9	2	37			
	Areia	Silte	<u>Argila</u>	Classificação									
		g kg ⁻¹											
0 a 40 cm	638	115	247	Média Arenosa									
	000	113											

A aplicação do *Azospirillum brasiliense* foi realizada 70 dias após o corte, no dia 29/11/2016, via o inoculante Masterfix Gramineas®, variando entre 200 a 800 mL ha⁻¹ de inoculante, de acordo com os tratamentos estudados.

As avaliações de índices biométricos foram realizadas em 13/12/2016 e a contagem de falhas em 20/02/2017. Também foi realizada uma amostragem e análise foliar no máximo crescimento da planta, sendo coletada a folha +3, no dia 09/03/2017.

A colheita foi realizada aos 296 dias após o último corte, no dia 11/07/2017, no momento em que a usina iria colher a área mecanicamente. Para o cálculo de produtividade procedeu-se com a colheita manual. Foram pesados 10 metros lineares de cada parcela, além de medida a altura e o diâmetro de 10 plantas e a contagem de colmos em 10 metros lineares. Para a análise tecnológica, foram separados feixes de 10 colmos de cana por parcela e encaminhados para o laboratório de análises tecnológicas da Usina Ferrari.



Figura 5 – Aplicação via pulverização foliar do inoculante Masterfix Gramineas ® a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP, 2016



Figura 6 – Visão geral da área experimental. Porto Ferreira/SP, 2016



Figura 7 – Feixes de 10 colmos para a análise tecnológica. Porto Ferreira/SP, 2017



Figura 8 – Colheita de 10 metros lineares e pesagem dos colmos. Porto Ferreira/SP, 2017



Figura 9 – Medidas do diâmetro de colmos. Porto Ferreira/SP, 2017

3.4. Variáveis analisadas

3.4.1. Teor foliar de nitrogênio

Para a determinação do teor de nitrogênio na folha no ciclo da cultura coletouse e analisou-se uma amostra de tecido foliar. Coletou-se a folha +3, sendo 30 folhas por parcela, no momento em que a planta atingiu seu maior desenvolvimento vegetativo (Março/2017). No laboratório, as folhas foram pesadas em balança analítica, secas em estufa ventilada a 65 °C até atingirem massa constante, sendo novamente pesadas para determinação da umidade do material. Posterior a secagem do material, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey e posteriormente analisadas quimicamente, determinando a concentração de nitrogênio, de acordo com o metodo de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). As análises foram realizadas no Laboratório de Solos e Tecidos Vegetais do Setor de Ciências Agrárias do departamento de zootecnia da FZEA/USP.

3.4.2. Índices de falhas

Foi realizada a contagem de falhas no canavial, no decorrer das avaliações no experimento, seguindo-se a metodologia estabelecida por Stolf (1986).

3.4.3. Índices biométricos

Para análise dos padrões de crescimento da cana-de-açúcar foram realizadas medições de variáveis biométricas, de biomassa e de rendimento da cana-de-açúcar, de acordo Marafon (2012) e Martins e Landell (1995). Foi contabilizado o número de colmos em 10 metros de linha e foram colhidos 10 colmos por parcela, aleatoriamente, medindo-se o diâmetro e a altura dos colmos.

3.4.4. Colheita e avaliação da produção

A produtividade da cana-soca foi calculada a campo, em toneladas de colmo por hectare (TCH), sendo realizado o corte manual e a pesagem de 10 metros lineares da parcela útil, sem despalha a fogo.

3.4.5. Análises tecnológicas

Para a realização da análise tecnológica foram colhidos e enviados para o laboratório 10 colmos por parcela, sendo determinados e calculados os atributos tecnológicos Brix, Pureza, Fibra, Pol da cana (Pc), Açúcares redutores (AR) e Açucar total recuperável (ATR), de acordo com Fernandes (2003).

3.5. Balanço hídrico climatológico

Elaborou-se o balanço hídrico e climatológico do ciclo da cana-soca, na safra 2016/2017, utilizando-se dos dados de precipitação, de temperatura e de evapotranspiração coletados pela estação meteorológica automática da FZEA/USP, em Pirassununga/SP, e de planilha eletrônica (ROLIM; SENTELHAS; BARBIERI, 1998).

3.6. Indice de Clorofila Foliar

Na pré-colheita 05/04/2017 realizou-se a estimativa do teor médio de clorofila foliar, por meio de clorofilômetro portátil "SPAD-502" (Minolta Corp., Ramsey, NJ, EUA), as leituras correspondem ao teor de pigmento na folha, e seu valor é equivalente a quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de

comprimento de onda, nas quais a absorção de clorofila é diferente (MALAVOLTA et al., 1997), chamadas de Índice de Clorofila Foliar(ICF). Cada medição foi realizada no limbo foliar da folha +1, obtendo-se três medições por planta, em 10 plantas por parcela.

3.7. Análise Estatística

Os valores das variáveis estudadas foram submetidos à análise de variância utilizando o teste F (p < 0,05). Para as causas de variação significativas, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey (p < 0,05). As análises estatísticas foram realizadas pelo software Sisvar (FERREIRA, 2000).

Quanto ao estudo das doses de inoculante aplicadas, aplicou-se análise de regressão polinomial.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Balanço Hídrico Climatológico no ciclo da cana-soca

A colheita da cana-soca de 2º corte ocorreu no mês de setembro do ano de 2016, época que o tempo ainda estava seco e sem a ocorrência de chuvas. No ano de 2016 observa-se que as chuvas demoraram para se firmar, mantendo uma frequência pluviométrica somente no mês de novembro (figura 10, 11 e 12).

A implantação do experimento foi realizada no final do mês seguinte, em outubro 2016 (figura 11), onde já se encontrava a planta de cana rebrotada e com folhas verdes, devido a chuvas isoladas que ocorreram durante este mês, totalizando 85,5 mm de pluviosidade, mas isso não foi o suficiente para que se tivesse um excedente de água no solo. Então foi realizada a adubação de cobertura, com Nitrato de Amônio e Cloreto de Potássio, e logo após este manejo coincidiu-se com o começo das chuvas e que possibilitou bom crescimento e desenvolvimento inicial de todas as parcelas.

Para a aplicação do inoculante era preciso que as plantas tivessem área foliar para a absorção do produto e ter umidade relativa do ar acima de 50%, este manejo foi realizado no final de novembro de 2016 aproximadamente 30 dias após a adubação de cobertura. Período este que acumulou 288 mm, representando 9,6 mm por dia de média. Neste período foi conveniente observar que as temperaturas altas e incidência direta de radiação permitiram também que as perdas por evapotranspiração fossem grandes, sendo que a evapotranspiração potencial da cultura (ETPc) neste mesmo

período foi de 183 mm, uma média de 6,1 mm por dia, e a evapotranspiração real da cultura (ETRc) foi de 178 mm, média de 5,9 mm por dia, embora tenha se obtido excedente hídrico no referente mês.

No mês de novembro 2016 (figura 10, 11 e 12) observou os maiores índices de evapotranspiração, notou-se que no segundo decêndio havia excedente de 38,7 mm e no último decêndio sem excedente, isso aconteceu por causa das grandes perdas que a planta teve devido aos dias muito quentes, temperaturas médias elevadas e grande radiação solar e que não atrapalhou a cultura da cana-de-açúcar por conta do solo não ficar em déficit hídrico e as chuvas voltarem rapidamente no decorrer de 10 dias. Neste período acumulou 40 mm, média de 4 mm por dia, a evapotranspiração potencial da cultura (ETPc) neste mesmo período foi de 47,5 mm, uma média de 4,75 mm por dia, e a evapotranspiração real da cultura (ETRc) foi de 47,2 mm, média de 4,72 mm por dia. Período em que a planta estava em crescimento vegetativo inicial, produzindo novas folhas e com o metabolismo acelerado, e que só não teve déficit hídrico neste espaço de tempo, pois no primeiro decêndio de dezembro acumulou mais de 90 mm e então voltou a ficar com excedente com aproximadamente 40 mm.

No final do mês de dezembro de 2016 e início do mês janeiro de 2017 houve diminuição nos índices pluviométricas e aumento de evapotranspiração devido à época, onde se têm a entrada do verão e por isso houve 10 dias em que não ocorreu excedente e nem déficit hídricos neste período. Voltando normalmente no segundo decêndio de janeiro com chuvas expressivas de 188 mm nestes dez dias, atingindo o maior excedente do ciclo anual de 2016/2017.

Os períodos de máximo excedentes foram no segundo decêndio de janeiro de 2017 com 128,4 mm e no primeiro decêndio de março de 2017 com 82,2 mm, período este que foi muito importante para as plantas que estavam encerrando seu crescimento vegetativo e puderam desenvolver seus colmos. Neste período devido ao máximo crescimento da planta de cana-de-açúcar foi feita a amostragem para avaliar os teores de nutrientes foliares.

No mês de fevereiro de 2017 aconteceu um fenômeno atípico, onde se teve um déficit hídrico no segundo decêndio, em que as plantas estavam em pleno desenvolvimento vegetativo e desenvolvimento de colmos, isso causou um certo estresse nas plantas. Mas em março as chuvas voltaram e obteve-se excedentes

novamente, onde as plantas atingiram seu máximo tamanho vegetativo e começaram a engrossar os colmos.

Em março observou-se a diminuição nas chuvas e a queda de excedentes de 82,2 mm para 18,1 mm, uma fase normal da época do ano, quando tem a troca de estação com a entrada do outono.

No mês de maio de 2017 apesar das chuvas escassas obteve-se um excedente hídrico, devido as menores perdas da planta e temperaturas médias mais amenas, obtendo um excedente de 42,7 mm. Neste mês o acumulo foi de 117,2 mm, uma média de 3,9 mm por dia, a evapotranspiração potencial da cultura (ETPc) neste mesmo período foi de 50,46 mm, uma média de 1,6 mm por dia, e a evapotranspiração real da cultura (ETRc) também foi de 50,46 mm, média de 1,6 mm por dia, ou seja, não ocorreu falta de água na cana-de-açúcar.

Em junho diminuem consideravelmente as chuvas e temos a entrada do inverno, já no primeiro decêndio observou-se que não há excedente e nem déficit hídricos e já nos próximos dez dias observou-se o déficit hídrico, onde é necessário para a planta de cana-de-açúcar acumular açúcares no colmo. E então a colheita foi realizada no dia 11 de julho de 2017 e para um ciclo de quase 300 dias teve bons resultados.

Durante todo o ciclo, a precipitação acumulada foi de 1302 mm, aproximadamente uma média de 4,3 mm por dia. A evapotranspiração potencial da cultura (ETPc) neste mesmo período foi de 790 mm, uma média de 2,6 mm por dia, e a evapotranspiração real da cultura (ETRc) foi de 716 mm, média de 2,4 mm por dia. Valor acumulado de 1302 mm está dentro das necessidade para a cultura da canade-açúcar. Landell et al. (2014) descreveram como regime hídrico anual mínimo para a cultura 1.200 mm, concentrados na primavera e verão e Inman-Bamber e Smith (2005) apontaram que a partir de 1.000 mm de pluviosidade anual, bem distribuídos, já são suficientes para a obtenção de altas produtividades.

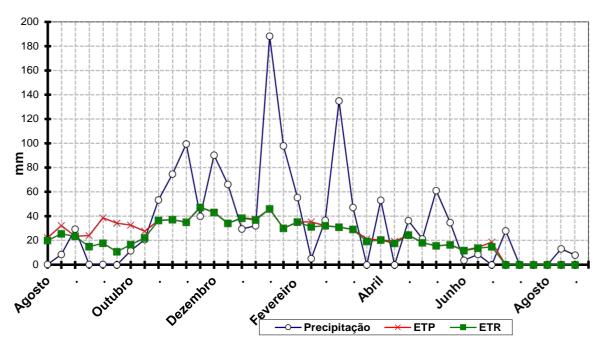


Figura 10 – Balanço hídrico climatológico no ciclo da cana-soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017. ETP: Evapotranspiração potencial; ETR: Evapotranspiração real.

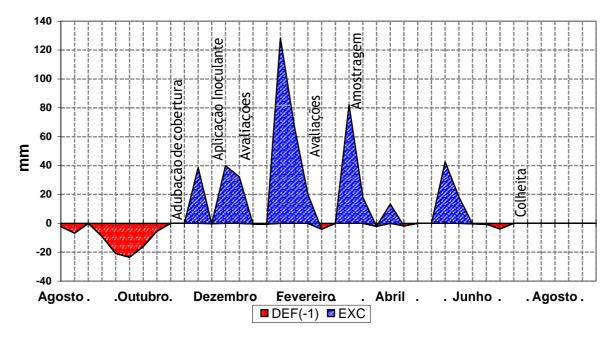


Figura 11 – Extrato do balanço hídrico no ciclo da cana- soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017.

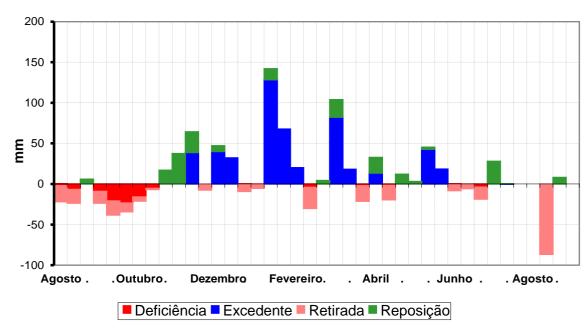


Figura 12 – Extrato detalhado do balanço hídrico no ciclo da cana- soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017.

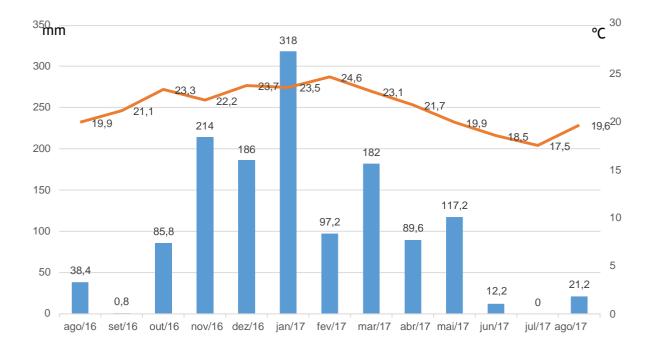


Figura 13 – Temperatura e Precipitação no ciclo da cana-soca em Porto Ferreira/SP. Período de agosto 2016 a agosto 2017.

4.2. Variáveis biométricas

Analisando-se as variáveis biométricas, em relação aos tratamentos estudados, observou-se diferença estatística no número de colmos por metro, e não foram observadas diferenças significativas nas variáveis altura e diâmetro de colmo. Os resultados são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Variáveis biométricas na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Tratamento	Colmos	Altura	Diâmetro
Tratamento	n°metro ⁻¹	cm planta⁻¹	cm planta ⁻¹
Controle	13,54 ab	239,64 a	2,66 a
N60	12,63 b	237,34 a	2,69 a
N120	14,13 ab	244,82 a	2,63 a
N60MG02	13,89 ab	240,44 a	2,61 a
N60MG04	13,56 ab	244,64 a	2,58 a
N60MG06	13,25 ab	233,12 a	2,54 a
N60MG08	14,47 a	248,60 a	2,59 a
Média	13,63	241,22	2,61
C.V. (%)	5,4	4,3	4,2

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

O tratamento que apresentou a maior número de colmos por metro linear foi o N60MG08, no qual foram aplicados 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio e 800 mL ha⁻¹ do inoculante a base de *Azospirillum brasilense*, com um número de 14,47 colmos. Porém, estatisticamente, este tratamento não diferiu dos demais, apenas do N60, sendo este uma dose de 60 kg ha⁻¹ de nitrogênio, que apresentou 12,63 colmos por metro.

De acordo com Landell et al. (2005) e Landell e Silva (1995) as variáveis biométricas mais importantes na determinação da produtividade na cana-de-açúcar são o diâmetro, a altura dos colmos, o número de colmos por área e a densidade do colmo, sendo estes parâmetros biométricos considerados como componentes da produtividade. Todos esses componentes são determinados por caracteres genéticos, porém, sujeitos à influência ambiental (SKINNER, 1967).

Segundo Oliveira (2016), a análise biométrica consiste num método de avaliar o desenvolvimento vegetativo da cultura, tornando-se importante ferramenta na comparação de variedades, em manejos varietais e em processos de seleção e

melhoramento genético e o número de colmos por metro é tão importante que tornase o componente que mais afeta a produtividade de cana (MACHADO, 1987).

Costa (2014) estudando aplicações combinadas de doses de fertilizantes nitrogenados associadas ao uso de inoculante a base de *Azospirillum brasilense* e diferentes formas de aplicação, observou que os tratamentos que receberam a aplicação do inoculante no corte da soqueira ou via foliar foram superiores aos que não receberam o inoculante, porém as respostas ao inoculante aplicado via folha não diferiram das respostas sem aplicação de inoculante, observando aumento de 3% no stand final nas plantas que foram inoculadas em relação ao stand não inoculado.

Matsumoto et al. (2011), avaliando diferentes estirpes de *Azospirillum brasilense* inoculados em cana-de-açúcar, observaram que as estirpes de *A. brasilense* influenciaram de maneira significativa o aumento no número de perfilhos e o crescimento da cana-de-açúcar. No primeiro corte, em cinco das dez cultivares estuda pelos autores, observou-se incremento na produção de massa seca e em duas dessas variedades houve incremento no número de perfilhos. Na soqueira, sete variedades apresentaram incremento significativo na massa seca e nove em aumento no número de perfilhos. Os autores inferiram que tais resultados viabilizam o uso de inoculante contendo *A. brasilense* como promotor do crescimento da cana-de-açúcar, permitindo também a substituição parcial de fertilizante nitrogenado.

A fase de brotação é de grande importancia para definição do estande da cultura, influenciando na formação de perfilhos. Chaves et al. (2015) estudando o desenvolvimento inicial de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas concluiram que a inoculação individual de *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica* aumentou o índice de velocidade de brotação nas variedades RB867515 e IACSP95-5000.

Todas as estirpes de bactérias diazotróficas produziram reguladores de crescimento da classe dos indoles, o que modificou o índice de velocidade de brotação nas duas variedades de cana testadas, porém nem todas garantiram um aumento significativo da massa seca da parte aérea da cana-de-açúcar, sendo a inoculação mista e a individual de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Herbaspirillum seropedicae* as que promoveram aumento da massa seca da parte aérea na IACSP95-5000 (CHAVES et al., 2015).

Girio et al. (2015) analisaram os efeitos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento sobre a formação de mudas pré- brotadas de cana- de- açúcar,

associadas à aplicação de nitrogênio e concluiram que a inoculação da cana-de-açúcar com bactérias promotoras do crescimento tem efeito fisiológico sobre o crescimento de plantas, quando encontrou aumento de 12% no perfilhamento. Os autores relataram que a inoculação associada ao fornecimento de N favorece o crescimento inicial da parte aérea até os 180 dias após o transplantio, aumentando o perfilhamento, a altura, o diâmetro e a produção das matérias secas de colmos, palha e total das plantas, porém a utilização do inoculante não aumentou a massa seca das raízes, mas promoveu o incremento no comprimento radicular.

Guimarães (2016) avaliou em seu trabalho o desenvolvimento, a produção e a qualidade tecnológica da cultivar IACSP95-5000, em reposta à aplicação de bactérias fixadoras de nitrogênio e os efeitos da adubação nitrogenada e concluiu que na cana-soca não houve interação significativa entre o manejo de aplicação de inoculantes e a adubação nitrogenada, porém a aplicação de nitrogênio na cana-soca promoveu aumento significativo de 18,5% na produção de perfilhos industrializáveis.

Suman et al. (2013) observaram que o inoculante composto de cinco espécies de bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*), associado a diferentes doses de nitrogênio (0, 75 e 150 kg ha-1), promoveu incremento no número de perfilhos e maximizou a eficiência de utilização do N proveniente do fertilizante mineral em todos os níveis de adubação, entretanto o melhor resultado foi observado na dose de 75 kg ha-1 de N associado ao inoculante.

Oliver (2014), estudando o efeito da inoculação de bactérias associado a diferentes doses de fertilizantes, concluiu que o uso do inoculante aplicado de forma injetada e foliar, e os níveis de adubação, não influenciaram significativamente no número de perfilhos por metro na variedade RB92579. Já, Prado Jr (2008) observou aumento no número de perfilhos para a variedade RB72454, inoculada com a bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*, estirpe BR11281, por pulverização no momento do corte da linha de plantio.

Pereira (2011) observou que o número de perfilhos não diferiu estatisticamente do tratamento controle, sendo que em alguns casos, a inoculação promoveu a redução desse parâmetro.

Machado (1987) ressalta que o número máximo de perfilhos e o número máximo de colmos que atingem a maturidade são influenciados pelos fatores

variedade, radiação solar, temperatura, umidade, nutrientes e densidade de plantio. O padrão de perfilhamento pode ser dividido em três fases: uma primeira fase inicial, em que o perfilhamento é intenso e atinge um número máximo ao redor de três a cinco meses após o plantio; uma segunda fase intermediária onde há morte acentuada dos perfilhos, principalmente aqueles menos desenvolvidos; e uma terceira fase final onde o número de perfilhos permanece estável sobrevivendo até a colheita.

Esse padrão de perfilhamento parece ser característico para diversas variedades e independente das condições hídricas (MACHADO, 1987). A mortalidade dos colmos coincide com o período em que o IAF aumenta rapidamente sugerindo que, além da competição por água e nutrientes, o sombreamento é um dos fatores mais importantes na determinação deste comportamento (MACHADO et al, 1982).

De acordo com Trivelim (2000), as maiores limintações à produtividade na cana-de-açúcar não se relacionam com a radiação solar, a temperatura e a disponibilidade hídrica, mas sim a disponibilidade e a adequada quantidade de nutrientes minerais no solo, com destaque para o nitrogênio.

A altura e o diâmetro dos colmos não foram alterados pelo uso do Inoculante a base *A. brasilense* ou das doses de N estudadas. Oliveira (2016) não observou diferença significativa nem na altura e nem no diâmetro dos colmos em função de diferentes doses de N.

No trabalho de Galindo (2015), o diâmetro do colmo de milho foi influenciado positivamente pela inoculação com *A. brasilense*, onde os tratamentos inoculados apresentaram maior diâmetro do colmo quando comparados aos tratamentos sem inoculação, divergindo do encontrado por Kappes et al. (2013), que não observaram diferenças significativas no diâmetro do colmo, para tratamentos com inoculação. O aumento do diâmetro do colmo com inoculação é uma característica desejável, pois quanto maior o diâmetro maior também será a capacidade de armazenamento de fotoassimilados, favorecendo assim o enchimento dos grãos (CRUZ et al., 2008; LANA et al., 2009).

Dartora et al. (2013) trabalhando com adubação nitrogenada associada a inoculação com bactérias diazotróficas em milho, concluíram que a inoculação combinada das estirpes de *A. brasilense* e *H. seropedicae* proporcionou melhor desenvolvimento do milho em relação ao controle em função da interação diferenciada

das bactérias com a planta, proporcionando incrementos no diâmetro basal do colmo, massa seca de parte aérea e produtividade de grãos.

Scudeletti (2016) encontrou influência da inoculação com *A. brasilense* nos parâmetros altura de plantas e comprimento médio de entrenós, aumentando o comprimento dos entrenós e, consequentemente, proporcionando maior altura de plantas. Olivares et al. (1996) apontam que o uso de bactérias estimula o crescimento vegetal através da produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberelinas e etileno. A autora não observou influência da inoculação, do modo de aplicação e nem da interação desses fatores sob o diâmetro, o número de colmos e entrenós, mas obteve diferença significativa na produtividade no tratamento em que foi feita a pulverização foliar, sendo 21% mais produtivo quando comparado com o controle.

Entre as variáveis biométricas estudadas, Landell e Silva (1995) relataram que o diâmetro de colmos é a que apresenta a menor variação, e é dependente das características do genótipo, do número de perfilhos, do espaçamento entre linhas, da área foliar e das condições ambientais.

Guimarães (2016) constatou que a adubação nitrogenada não promoveu efeito significativo na média da estatura dos colmos, resultando em valores similares em ambos os ciclos da cana-de-acúcar.

Segundo Barbosa et al. (2002), o comprimento de colmos é uma variável importante, pois, existe correlação positiva entre o comprimento e a produtividade, ou seja, cultivares com maior estatura teriam a tendência de maior produção de massa por colmo, consequentemente, maior produtividade.

Quanto ao diâmetro dos colmos, observou-se comportamento peculiar, com diminuição do diâmetro dos colmos a medida que se aumentou o fornecimento de N, seja ele via ferilizante mineral ou inoculação (Figura 14).

Regressão polinomial do diâmetro de colmos (cm) em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*: 0 ml ha⁻¹, 200 ml ha⁻¹, 400 ml ha⁻¹, 600 ml ha⁻¹ e 800 ml ha⁻¹, observou-se queda no diâmetro de plantas de acordo com que se aumentam as doses do inoculante (Figura 14).

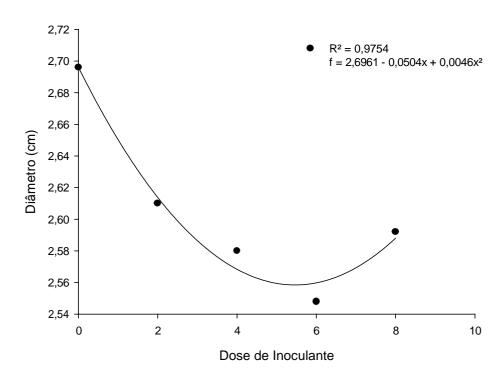


Figura 14 – Regressão polinomial do diâmetro de colmos (cm) em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Sugere-se que em condições de maior disponibilidade de N observou-se uma maior quantidade de colmos por metro, resultando em maior população de plantas por hectare, competindo pelos fatores de crescimento (MACHADO, 1987). Entre as diferentes competições observadas, a competição pela radiação solar figura entre as mais acirradas, pois a produtividade das culturas está relacionada principalmente com a quantidade de radiação interceptada e absorvida pelo dossel foliar (BERNARDES; BELARDO, 2015).

A maneira com que a planta encontra para competir pela busca de radiação é o aumento de sua altura, alongando seu colmo, e a medida que se alonga o colmo, observa-se a diminuição em seu diâmetro. Oliveira (2016) observou este comportamento ao estudar diferentes densidades de plantio e doses de N, sendo que as maiores densidades de plantio promoveram uma redução do diâmetro dos colmos, porém as doses de N não influenciaram o diâmetro dos colmos.

O mesmo comportamento foi relatado por Galvani et al. (1997), onde devido ao aumento populacional, observa-se diminuição no diâmetro do colmo, implicando-

se em colmos mais leves, sem, contudo, haver variação significativa em seu comprimento.

O aumento da dose de *A. brasiliense* permitiu aumento do número de colmo por área, resultando em colmos mais fino, porém sem comprometer a produtividade.

4.3. Produtividade agrícola e industrial

Quanto a produtividade agrícola e industrial, pela análise de variância, não foi observada influência das doses de N mineral ou associadas ao inoculante (Tabelas 4 e 5). Porém, quando analisadas somente as doses de inoculante por regressão polinomial, observou-se significativos coeficientes de determinação para produtividade de colmos por hectare ($R^2 = 0.92$) e rendimento em toneladas de açúcar por hectare ($R^2 = 0.94$).

A produtividade média observada foi de 98,42 toneladas de colmos por hectare (TCH), o rendimento médio foi de 142,71 kg de açúcar por tonelada de cana (ATR) e a quantidade média de açúcar produzida foi de 14,05 toneladas de açúcar por hectare (TAH) (Tabela 4).

Tabela 4 – Produtividade na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Tratamanta	TCH	ATR	TAH	
Tratamento	t ha ⁻¹	kg t¹	t ha ⁻¹	
Controle	97,73 a	140,66 a	13,74 a	
N60	93,88 a	142,57 a	13,41 a	
N120	89,02 a	142,29 a	12,67 a	
N60MG02	102,13 a	139,85 a	14,32 a	
N60MG04	105,34 a	145,29 a	15,27 a	
N60MG06	101,67 a	145,52 a	14,81 a	
N60MG08	99,18 a	142,79 a	14,13 a	
Média	98,42	142,71	14,05	
C.V. (%)	10,6	4,7	12,0	

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey. TCH = toneladas de colmo por hectare; ATR = açúcar total recuperável; TAH = toneladas de açúcar por hectare.

Guimarães (2016) não observou resposta da cana-soca inoculada à massa fresca e à massa seca, sendo que em alguns tratamentos, quando comparados com

a média do tratamento controle, observou-se um decréscimo na produção quando inoculadas com as bactérias diazotróficas. No entanto, observou acréscimos na massa seca e na massa fresca quando avaliado com e sem o nitrogênio, onde obteve resultados superiores na aplicação do N, em cana-soca acréscimo de 15% na massa fresca e 11% na massa seca.

Casos de diminuição da produção de biomassa em plantas inoculadas não são raros. Oliveira et al. (2002), trabalhando com inoculação das bactérias *Burkholderia* e *Azospirillum* na variedade SP70-1143, relataram redução significativa de biomassa em relação ao tratamento controle.

Pereira (2011) observou também redução da produtividade na variedade CTC-15, questionando possível efeito negativo da inoculação nesta variedade, porém salienta que a resposta à inoculação não se deve somente a relação planta/bactéria, mas a diversos fatores do ambiente de cultivo. Porém, encontrou resultados positivos na SP80-3280, onde a inoculação na ausência de adubação nitrogenada promoveu acúmulo de nitrogênio e aumento de açúcar. Resultados de redução de produtividade também foram encontrados por Oliveira et al (2006).

De acordo com Spaepen et al. (2007), o excesso de reguladores de crescimento produzidos por bactérias diazotróficas pode inibir o crescimento da canade-açúcar, sendo assim, a inoculação com bactérias do gênero *Burkholderia* pode causar estresse hormonal que com o tempo torna-se prejudicial ao crescimento da planta.

Chaves (2014), estudando os efeitos das bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plantas da variedade IACSP95-5000, observou que a produção de massa seca da parte aérea foi significativamente superior em resposta as inoculações mistas e individual das bactérias *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Herbaspirillum seropedicae*.

Marques Junior et al. (2008) observaram aumento significativo de massa seca da parte aérea após 45 dias de cultivo de minirebolos da variedade RB72454 inoculados com *H. seropedicae*. Oliveira et al. (2002) inocularam plantas com a bactéria *G. diazotrophicus* e obtiveram incremento significativo de biomassa após 45 dias de cultivo.

Costa (2014) observou diferença significativa para produção e aumento de estande em função do uso de inoculante, corroborando com o encontrado por Oliveira

et al. (2003), quando foi observado aumento da produtividade nas cultivares RB867515 e RB72454 decorrentes de FBN.

Pereira (2011), estudando a produtividade e qualidade tecnológica da canade-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas, não encontrou diferença significativa para produtividade entre os tratamentos inoculados e não inoculados, porém quando desdobrados os dados, a inoculação promoveu aumento significativo de produtividade na variedade RB72454, com incremento de 12,8 TCH, sendo esta variedade responsiva à inoculação e associação com bactérias fixadoras, entre elas o *A. amazonense*.

Pereira (2011) não encontrou resposta significativa para produtividade, indicando haver certa especificidade entre a variedade e o inócuo, hipótese corroborada por Reis et al. (2006), que ressaltaram que a resposta a inoculação depende do genótipo da cana-de-açúcar.

Estes resultados são evidências de que a inoculação de uma única estirpe de cana-de-açúcar pode ser suficiente para a obtenção de incrementos significativos de biomassa (GUIMARÃES, 2016).

Urquiaga et al. (1992) e posteriormente Boddey et al. (2001) encontraram evidências de que a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) contribui como aporte à nutrição nitrogenada em várias variedades de cana-de-açúcar, entre elas a RB72454. Urquiaga et al. (2012) relataram acúmulos superiores a 100 kg de N ha⁻¹ promovidos pela FBN.

Baldani et al. (2002) relatam que a RB72454 chegou a ser a variedade mais plantada do país, devido a sua estabilidade e adaptabilidade em diversos ambientes de produção, principalmente em solos de baixa fertilidade, o que pode ter contribuído de forma indireta para maior associação com bactérias diazotróficas.

Diferentemente do relatado para a variedade RB72454 até o momento, Schultz (2012), avaliando a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas e da adubação nitrogenada em duas variedades de cana-de-açúcar, observou que o acúmulo de massa seca da parte aérea da variedade RB72454, na cana-planta e segunda soca, não sofreu influência dos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada. Já, para a variedade RB867515, diferença significativa foi observada na segunda soqueira, com aumento de 48,8 e 64,1% na massa seca das plantas, nos tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada, equivalente a 120 kg ha⁻¹, respectivamente.

Suman et al. (2005) estudaram o efeito da inoculação de estirpes de *G. diazotrophicus* associadas a três doses de nitrogênio, na variedade CoSe 92423, e observaram que na menor dose de nitrogênio testada todos os sete isolados apresentaram efeito positivo significativo na produção de massa seca, enquanto que na maior dose de N apenas três isolados aumentaram significativamente a massa seca total da cana-de-açúcar, concluindo que além da interação planta-bactéria, a dose de nitrogênio aplicada afeta a resposta a inoculação.

Gírio (2014) em um ensaio em casa de vegetação, com duração de 50 dias, constatou ganho de 106,7% na massa seca da parte aérea da planta de cana-deaçúcar, quando inoculada com bactérias diazotróficas.

Muthukumarasamy et al. (2006), relataram que a inoculação combinada das bactérias *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* sp. promoveu o aumento da biomassa seca da variedade Co86032, num período de 45 dias após a inoculação em solo de textura média, aumentando significativamente o acúmulo da parte aérea. Oliveira et al. (2002) observaram significativo aumento de produção de massa seca aos 200 dias após o plantio da cana-de-açúcar ao inocular uma mistura contendo duas estirpes de *G diazotrophicus* e *Azospirillum* sp.

Scudeletti (2016), estudando métodos de inoculação de *A. brasilense* em campo, conclui que a produtividade de colmos por hectare foi maior quando as plantas de cana-de-açúcar foram inoculadas com *A. brasilense*, aumentando em 21,5% comparada com as plantas não inoculadas.

Ainda, de acordo com Scudeletti (2016), diversos gêneros de bactérias têm mostrado efetiva contribuição na cultura da cana-de-açúcar, seja pela capacidade de fixar N ou por outros benefícios promotores de crescimento. No entanto, o melhor resultado para a produtividade de colmos por hectare foi encontrado na inoculação via foliar. Portugal et al. (2012), utilizando doses crescentes de N (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹) e inoculação via foliar com *A. brasilense* em milho de safra verão, obtiveram aumento de 14,75% nas plantas inoculadas.

Scudeletti (2016) conclui que estudos específicos com a bactéria *A. brasilense* na cultura da cana-de-açúcar ainda são escassos, porém como observado na cultura do milho, pode-se ocorrer incrementos de 7 a 15% na produtividade (LANA et al., 2012). Segundo Reis (2006) esses resultados podem ser melhorados e aumentados com a seleção de genótipos eficientes para associação com as bactérias, aumentar o

conhecimento sobre os fatores bióticos e abióticos envolvidos no processo de associação e quais alterações ocorrem nas plantas e nas bactérias.

Isolando-se as doses de inoculante, analisou-se por meio de regressão polinomial o comportamento da produtividade, em toneladas de colmo por hectare.

Regressão polinomial da produtividade (TCH) em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*: 0 ml ha⁻¹, 200 ml ha⁻¹, 400 ml ha⁻¹, 600 ml ha⁻¹ e 800 ml ha⁻¹, observou-se que forma um parábola e que na dose de 400 ml ha⁻¹ obteve-se a maior protutividade (Figura 15).

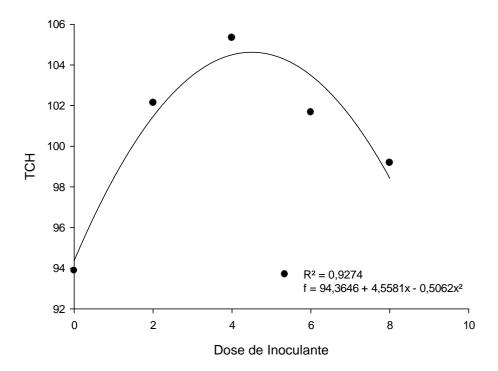


Figura 15 – Regressão polinomial da produtividade (toneladas de colmos por hectare) em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

A curva de resposta da produtividade apresentou-se em forma de parábola, numa função polinomial de segundo grau. Observou-se que a produtividade aumentou até a dose aplicada de 400 mL ha⁻¹ de inoculante a base de *A. brasiliense*, tendo como ponto de inflexão a dose de 450 mL ha⁻¹. A partir desta dosagem, a produtividade apresentou resposta decrescente, porém ainda maior do que a produtividade na dose 0.

Em seu trabalho, Costa (2014) encontrou resposta apenas para as doses de nitrogênio, não observando significância para os tratamentos inoculados.

Segundo Vitti et al. (2008) a cana-soca responde mais e com maior frequência à adubação nitrogenada, quando comparada a cana-planta. Nos estadios iniciais de brotação da soqueira ocorre maior compactação do solo. A baixa temperatura e umidade favorecem menor atividade microbiana e menor imobilização do N. Fora a decomposição de matéria orgânica de alta relação carbono nitrogênio, em um período de grande exigência pela cultura faz com a adição de N solo seja acompanhada de uma rápida resposta da soqueira em crescimento e produtividade.

Analisando-se alguns fatores, Pereira (2011) produziu um raciocínio que explicou com grande lógica a ausência de resposta à inoculação quando comparada a adubação mineral. O ensaio foi instalado a campo no final do mês de outubro, sendo que a adubação ocorreu num período de alta pluviosidade, facilitando a disponibilidade e absorção do fertilizante aplicado. Além disso, a fonte fertilizante utilizado foi o nitrato de amônio, que apresenta maior eficiência num ambiente a colheita sem queima, não apresentando perdas por volatilização (CANTARELLA et al., 1999), além da variedade utilizada, que é indicada para ambiente de média e alta produtividades. Esses fatores contribuíram para maior resposta a adubação mineral. De acordo com Pereira (2011), a inoculação com bactérias diazotróficas é favorecida e surte maiores efeitos em produtividade em solos de baixa fertilidade natural.

Os atributos tecnológicos estudados foram o teor de Fibra (%), o teor de Brix (%), o teor de Pol (%), os Açúcares Redutores (AR %), e o Açúcar Total Recuperável (ATR), não sendo observados significância da influência da inoculação com *A. brasiliense* nas variáveis estudadas (Tabela 4 e 5). Os teores médios dos atributos tecnológicos foram de 11,53% de fibra, 18,73% de Brix, 14,36% de Pol e 0,56% de açúcares redutores.

Tabela 5 – Variáveis tecnológicas na colheita da cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Trotomonto	Fibra	Brix	Pol	AR
Tratamento	%	° Brix	%	%
Controle	11,84 a	18,62 a	14,12 a	0,58 a
N60	11,49 a	18,73 a	14,36 a	0,55 a
N120	12,04 a	18,75 a	14,34 a	0,54 a
N60MG02	11,52 a	18,29 a	14,07 a	0,55 a
N60MG04	11,38 a	18,87 a	14,63 a	0,53 a

N60MG06	11,18 a	19,09 a	14,64 a	0,58 a
N60MG08	11,25 a	18,74 a	14,35 a	0,58 a
Média	11,53	18,73	14,36	0,56
C.V. (%)	5,8	3,4	4,7	7,8

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

A ausência de resposta para os parâmetros tecnológicos em relação à adubação nitrogenada também foi observada em diversos trabalhos conduzidos por Azeredo et al. (1986), Orlando Filho et al. (1999), Trivelin et al. (2002), Korndörfer et al. (2002), Franco (2008).

Scudeletti (2016), também, não observou influência da inoculação, dos modos de aplicação, bem como a interação entre os fatores nos atributos tecnológicos. Oliver (2014) e Schultz (2012), também, apresentaram os mesmos resultados. Segundo Bashan et al. (2004), esses parâmetros são pouco influenciados pela inoculação com bactérias diazotróficas, visto que, estas bactérias são conhecidas por promoverem a síntese de substâncias promotoras do crescimento.

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

Divergindo da maioria dos resultados encontrados na literatura, Pereira (2011) encontrou respostas significativas para a influência da inoculação nos atributos tecnológicos, em algumas das variedades por ele estudadas, porém não foram observados incrementos no ATR e TAH. Em algumas variedades foi observado o aumento no teor de Brix e redução no teor de fibras, comportamento esperado quando se aumenta o Brix da planta.

De acordo com Fernandes (2003) ocorre uma relação antagônica entre os teores de fibra e Brix, pois os colmos são constituídos de caldo e sólidos insolúveis em água, as fibras, de modo que quanto maior a quantidade de caldo, menor a quantidade de fibras.

Segundo Oliveira (2016) a porcentagem da fibra da cana reflete na eficiência da extração do caldo, onde, quanto mais alto o teor de fibra, menor será a eficiência de extração. Por outro lado, deve-se considerar que variedades de cana com baixos teores de fibra são mais susceptíveis a danos mecânicos que possam ocorrer no corte e transporte, favorecendo a contaminação e as perdas na indústria. Quando a cana possui baixo teor de fibra ela torna-se mais susceptível ao acamamento e a quebra por ação do vento, o que a faz perder mais açúcar na água de lavagem.

Guimarães (2016) relatou que o manejo de aplicação de inoculantes na canaplanta apresentou redução nos valores percentuais de Brix, de Pol e de ATR, quando comparados com a média do controle, porém, esses resultados não foram significativos. Desta maneira, pode-se perceber que os manejos de inoculação com bactérias não apresentaram respostas para cana planta. A adubação nitrogenada seguiu a mesma tendência, não apresentando efeitos significativos nos parâmetros analisados.

Guimarães (2016) também não observou influência do inoculante sobre o teor de sólidos solúveis na presença do nitrogênio, porém, a aplicação do inoculante via corte de soqueira, quando realizada na ausência do N fertilizante, reduziu a quantidade de sólidos solúveis (Brix) em 13,3%, comparada com o controle.

Ainda, nos resultados do trabalho de Guimarães (2016), os manejos de aplicação de inoculantes quando associados à adubação nitrogenada, não influenciaram no teor de sacarose (Pol) e açúcar total recuperável (ATR) da cana soca. Os parâmetros Pol e ATR apresentaram redução de 19,5 e 16,9%, respectivamente, em comparação com o controle, quando a aplicação do inoculante via corte na soqueira foi realizada na ausência de nitrogênio. De modo geral, a adubação nitrogenada não promoveu aumento dos parâmetros Pol e ATR, com exceção do inoculante aplicada via corte de soqueira, onde, o uso do N ocasionou o incremento de 21,2 e 17,6%, respectivamente. A adubação nitrogenada quando associada ao inoculante aplicado via pulverização foliar, promoveu redução de 15,5 e 13,5 % nos teores de Pol e ATR, respectivamente.

Da mesma maneira como se procedeu com a produtividade, analisou-se por meio de regressão polinomial para o rendimento de açúcar por hectare, o qual apresentou os resultados de comportamento semelhante a produtividade.

Em seu trabalho Scudeletti (2016) observou que a produtividade de açúcar por hectare aumentou com a inoculação, sendo esse aumento de 15,3%, quando

comparado às plantas de cana-de-açúcar não inoculadas. Os resultados do trabalho da autora reforçam a hipótese de que a inoculação não influencia as vias de síntese de açúcares, mas sim a TAH (SCHULTZ, 2012), em função de maior produtividade de colmos.

4.4. Teor de nutrientes na folha

Os teores foliares de macro e micronutrientes foram analisados para os diferentes tratamentos e são apresentados nas tabelas 6 e 7. Os teores de macronutrientes não apresentaram diferença significativa entre si, sob influência dos tratamentos estudados, exceto o potássio (K). O teor médio foliar do nitrogênio (N) foi de 15,65 g kg⁻¹, o fósforo (P) foi de 1,19 g kg⁻¹, o de K 14,32 g kg⁻¹, o de cálcio (Ca) de 4,73 g kg⁻¹, o de magnésio (Mg) de 1,94 g kg⁻¹ e o de enxofre (S) de 4,50 g kg⁻¹.

Da mesma forma, os teores de micronutrientes não apresentaram diferença significativa entre si para os tratamentos estudados. O teor médio foliar do boro (B) foi de 19,97 mg kg⁻¹, o de cobre (Cu) de 8,90 mg kg⁻¹, o de ferro (Fe) de 98,39 mg kg⁻¹, o de manganês (Mn) de 56,01 mg kg⁻¹ e o de zinco (Zn) de 42,31 mg kg⁻¹.

Tabela 6 – Teor de macronutrientes na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Tratamento	N	Р	K	Ca	Mg	S
Hatamento			g kg	y ⁻¹		
Controle	15,42 a	1,20 a	14,62 ab	4,46 a	2,04 a	4,36 a
N60	15,52 a	1,20 a	14,42 ab	4,64 a	1,96 a	4,40 a
N120	15,62 a	1,24 a	15,80 a	4,84 a	1,90 a	4,58 a
N60MG02	15,62 a	1,12 a	13,64 b	4,76 a	1,96 a	4,62 a
N60MG04	15,90 a	1,20 a	13,86 b	4,84 a	1,92 a	4,48 a
N60MG06	15,50 a	1,22 a	14,04 b	4,78 a	1,98 a	4,48 a
N60MG08	16,00 a	1,18 a	13,84 b	4,80 a	1,88 a	4,62 a
Média	15,65	1,19	14,32	4,73	1,94	4,50
C.V. (%)	4,8	9,3	5,5	10,5	11,7	6,0

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

De acordo com o método calculado conforme Khiari et al. (2001) e determinado pela concentração do nutriente com índice igual a zero ± 2/3, de acordo com Urano et al. (2007), os teores de nitrogênio então dentro do intervalo adequado

para a cultura que é de 12,6-16,5 g/kg, os teores de fósforo estão abaixo dos valores adequados que são de 1,5-2,2 g/kg, os valores de potássio estão acima dos teores adequados para a cultura que são de 7,6-12,0 g/kg, os teores de cálcio estão no limite adequado de 3,3-4,8 g/kg, os de magnésio também estão no intervalo correto de 1,6-3,2 g/kg e os teores de enxofre estão acima do ideal que é de 1,3-1,8 g/kg.

Costa (2014) encontrou diferença estatística para o teor foliar de N, K e S, sendo que os tratamentos que receberam inoculação apresentaram maiores teores destes nutrientes comparados aos tratamentos não inoculados.

Prado Junior (2008), avaliando a influência da inoculação da bactéria *G. diazotrophicus* e de fontes nitrogenadas, no sulco de plantio, no comportamento de duas variedades de cana-de-açúcar, não encontrou diferenças entre os tratamentos estudados, não aumentando o teor de nitrogênio nas folhas +1, aos 8 meses de plantio, enquanto Muthukumarasamy et al. (1999) observaram aumento significativo no conteúdo de N nas folhas de cana.

Estas diferentes respostas quanto ao teor de N nas plantas demonstram haver controvérsias quanto à técnica utilizada na análise foliar, sendo que nem sempre a análise da folha diagnóstico representa o potencial de absorção do nutriente (ORLANDO FILHO et al., 2001).

Oliveira et al. (2002, 2006), avaliando o efeito da inoculação de misturas de bactérias em duas variedades de cana-de-açúcar, SP813250 e SP701143, verificaram o efeito da inoculação na fixação biológica de nitrogênio, resultando num incremento de 30% no acúmulo de N nas plantas inoculadas com a mistura de cinco bactérias diferentes.

Guimarães (2016) não observou influência da aplicação de inoculante sobre os teores de N e o acúmulo de N total na parte aérea da cana-soca, para o teor de N foliar da cana-planta. Em se tratando da adubação nitrogenada, esta também não proporcionou resultados significativos sobre o acumulo de N em ambos os ciclos, entretanto, apresentou resposta significativa quanto ao teor de N na folha.

Vale et al. (2011) realizaram um ensaio com solução nutritiva onde omitiram os nutrientes e avaliaram os teores dos mesmos em plantas de cana-de-açúcar. Nas avaliações, os autores observaram que na solução completa o teor de N na parte aérea foi de 22,9 g kg⁻¹, porém, quando se omitiu o N da solução, o seu teor na planta foi reduzido para 6,8 g kg⁻¹.

Gírio (2014), tendo o estudo acima como referência, confirmou em um novo ensaio que a cana-de-açúcar apresentava, inicialmente, teores de N próximos aos encontrados por Vale et al. (2011), na faixa de teores adequados, de 18 a 25 g kg⁻¹.

Com o crescimento da planta ao longo do tempo, provavelmente o N absorvido sofreu efeito de diluição, chegando a teores de N inferiores aos mencionados por Vale et al (2011), porém dentro da faixa considerada adequada. Este efeito de diluição foi relatado por Oliveira (2016), que observou maiores teores no início do desenvolvimento da cana-de-açúcar e menores teores no final do ciclo, porém não diferindo em função de diferentes doses de N.

Oliveira (2011) observou decréscimo da concentração de N na parte aérea durante o ciclo de crescimento da cana-de-açúcar, sem que houvesse diferença nos valores entre os tratamentos estudados. As maiores concentrações na fase inicial de crescimento das plantas foram encontradas no solo LVAe, com valor de 13,2 g kg⁻¹ para produção de MS de 2,24 t ha⁻¹. No final do ciclo, as menores concentrações foram constatadas nos solos LVe, com valor de 2,7 g kg⁻¹, na massa de MS de 63,9 t ha⁻¹.

Greenwood et al. (1991) concluíram que a diluição do N nos tecidos da parte aérea ocorrida com o aumento da fitomossa está ligada ao fato do N não estar envolvido apenas em processos metabólicos, associados ao crescimento e a fotossíntese, mas também por compor parte dos tecidos estruturais e de armazenagem, que contém baixas concentrações de N e aumentam a sua proporção durante o ciclo de desenvolvimento da cultura.

Analisando esta situação e associando ao crescimento e desenvolvimento de poaceaes em geral, explica-se a diminuição dos teores no decorrer do ciclo da canade-açúcar com os estudos de Lameire et al. (1992) e de Marino et al. (2004), quando os autores relatam que nos estádios iniciais de crescimento das plantas, o desenvolvimento foliar e a taxa elevada de fotossíntese requerem maiores quantidade de N, e maior disponibilidade do nutriente no solo, eleva sua concentração nos tecidos. Posteriormente, durante o ciclo da planta, a relação existente entre as folhas e colmo decresce, sendo concomitante o incremento de celulose e lignina nas células dos tecidos mais velhos do caule, como também a redução simultânea da concentração de proteínas, o que resulta na diminuição da concentração de N.

Complementando a linha de raciocínio, Justes et al. (1994) relataram que os processos de senescência e queda das folhas velhas ocorrem no decorrer do desenvolvimento da planta e promovem a remobilização do N para outros pontos de

crescimento, reduzindo assim, a necessidade de N para a produção de massa seca da parte aérea nos estádios mais avançados de crescimento.

Gastal e Lemaire (2002) relatam que o teor de N nos tecidos vegetais resulta da interação de diversos fatores, entre eles, da disponibilidade natural do nutriente no solo e a da adubação nitrogenada, que podem apresentar-se em níveis de concentrações variando de deficientes, excessivo ou até mesmos tóxicos. Desta forma, sugere-se que para condições de adequado suprimento de N, a produção de biomassa torna-se um fator determinante da quantidade de N absorvida, contudo, a relação entre o aumento na concentração de N nos tecidos da parte aérea com a biomassa produzida é considerada não linear, ou seja, a absorção excessiva de N promove aumento de sua concentração nos tecidos, porém sem incrementos significativos na produtividade, resultando até mesmo na sua queda.

De acordo com Ohyama et al. (2014) a cana-de-açúcar acumula entre 100 e 200 kg ha⁻¹ de N anualmente, sendo que a fertilização nitrogenada geralmente garante o acúmulo de 60 kg ha⁻¹ de N na cana-planta e 120 kg ha⁻¹ de N na cana-soca. Esses dados indicam que a planta de cana extrai mais de 200 kg ha⁻¹ de N para uma produção de 100 t ha⁻¹ de colmos, dos quais 90 a 100 kg ha⁻¹ são exportados com a colheita (CANTARELLA et al., 2007).

A eficiência de uso dos fertilizantes nitrogenados em cana-de-açúcar, em porcentagem de N contido no fertilizante aplicado que é recuperado pela cultura é relativamente baixo, variando de 7 a 28% (TRIVELIN et al., 2002; GAVA et al., 2003; VITTI, 2003; FRANCO, 2008).

Urquiaga et al. (1992), num estudo visando a seleção de variedades comerciais de cana-de-açúcar com potencial para fixação biológica de nitrogênio, evidenciaram o acúmulo de 265 kg N ha⁻¹ na variedade RB72454, superior em relação às outras cultivares estudadas. Com este trabalho ficou demonstrada a existência de grande variação de comportamento quanto à eficiência para FBN.

Leal (2011), avaliando o efeito da aplicação de inoculante misto associado à adubação nitrogenada no crescimento da variedade RB835089, observou que a adubação nitrogenada na dose de 120 kg ha⁻¹ de N resultou num incremento de 45,3% no acúmulo de N total da parte aérea, enquanto que a aplicação do inoculante na ausência de nitrogênio resultou num aumento de 100% do N total acumulado.

Schultz (2012), estudando o efeito de inoculação com cinco estirpes de bactérias e da adubação nitrogenada, em duas variedades de cana- de- açúcar, não

observou resultados significativos para o acúmulo de N total em função da inoculação e da adubação nitrogenada, na variedade RB72454. Porém, na segunda soqueira da variedade RB867515, foi observada diferença significativa, apresentando um incremento de 75,2 e 118,8% no N total.

Galindo et al. (2015) estudando o efeito de épocas de aplicação foliar de *A. brasilense* nos teores de nutrientes do trigo irrigado concluíram que a inoculação com *A. brasilense* via foliar não foi eficiente na fixação de N e nem para estimular a produção de fitohormônios e o crescimento das raízes.

Galindo et al. (2015), observaram que os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg, S B, Cu, Fe, Mn e Zn, assim como o índice de clorofila foliar do trigo irrigado, não foram influenciados pela época de aplicação do *A. brasilense* via foliar.

Souza et al. (2013), analisando os teores de nutrientes foliares do milho em função da adubação nitrogenada e da inoculação com *Azospirillum* spp., relataram o aumento dos teores nutricionais foliares de N, P e K, bem como o índice de clorofila em função da inoculação das sementes de milho. Já, a adubação nitrogenada em cobertura elevou de forma linear os teores de K foliares no milho irrigado no cerrado.

Analisando-se os micronutrientes, não foi observada diferença significativa em nenhum dos micronutrientes analisados, em função das doses de N e de Inoculante (tabela 7).

Tabela 7 – Teor de micronutrientes na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Tratamento	В	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg/kg				
Controle	18,01 a	8,96 a	82,80 a	55,28 a	41,32 a
N60	19,69 a	8,80 a	85,92 a	59,52 a	43,14 a
N120	18,92 a	8,86 a	89,48 a	53,32 a	43,00 a
N60MG02	19,63 a	8,90 a	78,50 a	59,90 a	41,12 a
N60MG04	20,49 a	8,86 a	162,76 a	54,50 a	42,32 a
N60MG06	21,13 a	9,10 a	95,98 a	58,42 a	42,80 a
N60MG08	21,94 a	8,82 a	93,32 a	51,14 a	42,50 a
Média	19,97	8,90	98,39	56,01	42,31
C.V. (%)	15,3	7,8	68,9	13,6	6,5

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

De acordo com Raij et al., (1996), os teores de boro podem variar de 10-30 mg/kg, os teores de cobre variam de 6-15 mg/kg, os de ferro de 40-250 mg/kg, os valores de manganês de 25-250 mg/kg e os teores de zinco de 10-50 mg/kg, o que se conclui que os teores de micronutrientes estão todos dentro dos parâmetros necessários para a cultura.

Costa (2014), não encontrou diferenças estatísticas para o teor dos micronutrientes B, Cu, Fe, Mn e Zn, em relação à inoculação, porém encontrou diferença em relação a dose de N, onde as variáveis se comportaram de maneira diferente, sendo que Fe, Mn e Zn foram influenciadas pela dose de N, seguindo uma dispersão linear, onde quanto maior a dose de N menores foram os teores destes micronutrientes.

Miranda et al (2015), estudando micronutrientes aplicados via folha em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e doses de nitrogênio no cerrado, não observaram interação entre doses de nitrogênio e de *A. brasilense*. A inoculação com A. brasilense em milho não promoveu diferenças significativas nos teores foliares de micronutrientes. O aumento das doses de N resulta em maiores teores foliares de zinco e cobre.

Segundo dados de FRANCO et al. (2008) para a produção de 100 toneladas de colmos de cana-de-açúcar, são necessárias as seguintes quantidades de micronutrientes: de 5300 g de Fe, 1500 g de Mn, 220 g de Zn, 130 g de B, 60 g de Cu e 1,6 g de Mo, para a variedade SP 81-3250.

Em seu trabalho, Scudeletti (2016) encontrou significância para os resultados dos teores foliares de N e K na cana-de-açúcar, em decorrência da inoculação ou não com *A. brasilense*. Os maiores teores foram observados nas plantas não inoculadas, com teores de nitrogênio e potássio de 17,1 e 9,0 g kg⁻¹, respectivamente, valores estes 8,9 e 10,2% superiores aos valores constatados nas plantas inoculadas e de maneira geral, os teores de foliares de P, Ca e Mg encontraram-se dentro da faixa considerada adequada (AMBROSANO et al., 1997), além de observar que os teores de N, K e S encontraram-se abaixo da faixa considerada adequada.

Gomez-Alvarez (1974) explica que o fato das amostras foliares serem colhidas no estádio de maior desenvolvimento da cultura, onde a taxa de crescimento relativa de matéria seca foi superior à taxa de absorção do nutriente, causa a dissolução dos nutrientes em virtude do crescimento das plantas, chamado efeito de diluição.

Foi avaliado o índice de clorofila da cana-de-açúcar, sendo este quantificado pelo índice ICF, visando observar alguma correlação existente nos resultados do teor de nitrogênio presente nas análises foliares com o índice de clorofila obtido a partir de um leitor optico de refletância (Tabela 8).

O índice de clorofila (ICF) das folhas da variedade cana-de-açúcar estudadas não diferiram estatisticamente, não sendo observado influência da adubação mineral e ou das doses de inoculante no comportamento desta variável. O índice de clorofila médio foi de 36,97 ICF (tabela 8).

Tabela 8 – Índice de clorofila na cana-soca em função de diferentes doses de nitrogênio e Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Tratamento	Clorofila ICF		
Controle	38,84 a		
N60	35,92 a		
N120	37,02 a		
N60MG02	37,86 a		
N60MG04	36,74 a		
N60MG06	36,86 a		
N60MG08	35,60 a		
Média	36,97		
C.V. (%)	4,3		

Médias seguidas de uma mesma letra indicam que não houve diferença significativa, ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Quanto ao índice de clorofila foliar (ICF), a ausência de efeito da inoculação e do modo de aplicação assemelham-se aos resultados encontrados por Portugal et al. (2012) e Müller et al (2012). Explicando-se esse comportamento, no caso desses trabalhos as plantas absorveram quantidade excessiva de N e esse acumulou-se na forma de nitrato, dessa maneira, o N não se associa à molécula de clorofila, sendo assim, não é detectado pelo medidor de clorofila (DWYER et al.,1995).

Scudeletti (2016) observou que apesar das diferenças encontradas nos teores de N, esta não se correlacionou com o ICF, confirmando a hipótese de que possa ter ocorrido efeito diluição, visto que, este índice é altamente correlacionado com o teor

de clorofila das folhas, que pode ser um indicativo de deficiência de N (GUIMARÃES et al., 1999).

Observando o efeito apenas das doses de inoculante no comportamento do ICF, gerou-se uma curva de resposta regida por uma função polinomial de segundo grau (figura 19), de maneira que o ICF aumentou até uma dose aproximada de 400 mL ha⁻¹, e passando a regredir a partir desta dosagem.

Isolando-se as doses de inoculante estudadas, observou-se comportamento significativo para os nutrientes Ca, B e Mn, em relação ao aumento da dose de inoculante, regidos também por uma função polinomial de segundo grau.

Regressão polinomial do teor de cálcio na folha (g kg-1) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*: 0 ml ha⁻¹, 200 ml ha⁻¹, 400 ml ha⁻¹, 600 ml ha⁻¹ e 800 ml ha⁻¹, onde observamos o pico de Ca entre 400 e 600 ml ha⁻¹ (Figura 16).

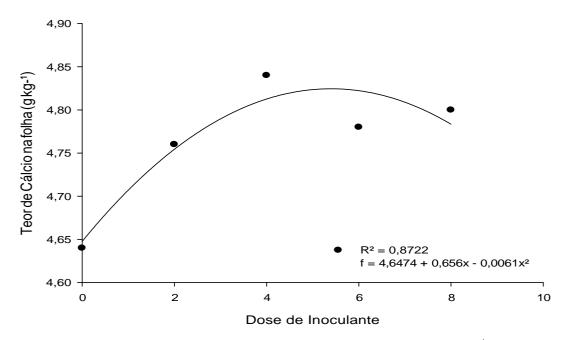


Figura 16 – Regressão polinomial do teor de cálcio na folha (g kg⁻¹) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*. Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

Regressão polinomial do teor de boro na folha (mg kg-1) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*: 0 ml ha⁻¹, 200 ml ha⁻¹, 400 ml ha⁻¹, 600 ml ha⁻¹ e 800 ml ha⁻¹, onde observamos praticamente

uma linear nos teores de Boro, conforme se aumenta a dose do inoculante aumentase também os teores de Boro na folha (Figura 17).

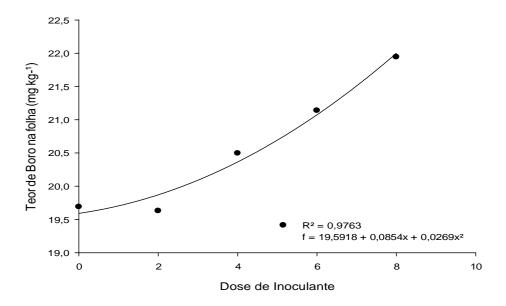


Figura 17 – Regressão polinomial do teor de boro na folha (mg kg-1) da cana-soca em função de diferentes doses de Inoculante a base de *Azospirillum brasiliense*.

Porto Ferreira/SP. Período de junho 2016 a junho 2017.

De acordo com Yamada & Lopes (1998), o boro é um elemento com baixa mobilidade dentro das plantas, o que é comprovado pelo maior acúmulo em folhas mais velhas, quando comparado com folhas mais jovens. Sendo assim a deficiência de boro começa sempre pelas folhas mais novas, pois sua translocação das partes mais velhas da planta para tecidos meristemáticos (raízes ou extremidades da parte aérea) é dificultada devido a imobilidade dentro da planta.

O pH do solo é um fator de grande importância a se considerar, pois afeta a disponibilidade de micronutrientes no solo, de acordo com Lopes (1999) a disponibilidade do boro é maior quando o pH do solo se encontra na faixa de 5,0 a 7,0, e que condições de baixa umidade no solo podem interferir negativamente no aproveitamento do nutriente pelas plantas, e por isso o teor de B também é alterado pela época de amostragem e o tipo de solo.

5. CONCLUSÕES

Não houve respostas para a adubação nitrogenada nem para a aplicação foliar de *Azospirillum* em soqueira da variedade CTC 20.

A aplicação isolada de *Azospirillum* via foliar na soqueira de CTC 20 apresentou resposta quadrática com a máxima produção de colmos e açúcar por unidade de área para 400 ml do inoculante por hectare.

Para os parâmetros tecnológicos não houve efeito da adubação nitrogenada e nem da inoculação com *Azospirillum*.

A adubação nitrogenada e a inoculação não afetaram nos teores de clorofila da folha da cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS

ABBASI, M. K.; SHARIF, S.; KAZMI, M.; SULTAN, T.; ASLAM, M. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on improving growth, yield and nutrient uptake of plants. **Plant Biosyst**,145:159–68, 2011.

AMBROSANO, E.J.; TANAKA, R.T.; MASCARENHAS, H.A.A.; RAIJ, B. van; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ, B. van; CANTARELA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2.ed.rev. Campinas: IAC, 1997. p.189-203. (Boletim técnico, 100)

ARAÚJO, S.C; Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho. Piracicaba: IPNI – International Plant Nutrition Institute Brazil. 32p. (IPNI. **Informações Agronômicas**, 122). 2008.

AZEREDO, D.F.; BOLSANELLO, J.; WEBWE, H.; VIEIRA, J.R. Nitrogênio em canaplanta - doses e fracionamento. STAB. **Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 4, p. 25-29, 1986.

BALDANI, J. I. et al. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane - reasons for success in Brazil. Functional **Plant Biology**, v. 29, n. 4, p. 417-423, 2002.

BALDANI, J.I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M. & DÖBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [Pseudomonas] rubrisubalbicans a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF Group1) as *Herbaspirillum* Species 3. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 46:802-810, 1996.

BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R. dos S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; NOGUEIRA E.M.; ARAÚJO, J.L.S.; BALDOTTO, L.E.B.; SOARES, L.H.B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, T.L.G. de; ALVES, B.J.R.; JAMES, E.K.; JANTALIA, C.P.; FERREIRA, P.C.G.; VIDAL, M.S.; BODDEY, R.M. Fixação biológica de nitrogênio em plantas da família da *Poaceae* (antiga gramineae). **Tópicos em Ciência do Solo**, v.6, p.204-271, 2009.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiologia, p.49-59, 2008.

BÁRBARO, I.M; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho? Artigo em Hypertexto, 2008.

BARBOSA, M. H. P.; BASTOS, I. T.; SILVEIRA, L. C. I.; OLIVEIRA, M. W. Análise de causa e efeito para produção de colmos e seus componentes na seleção de famílias

- de canade-açúcar. In: 8º CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 2002, Recife Pernambuco. **Anais...**, p.366-370, 2002.
- BARROS NETO, C.R. Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum* brasiliense no rendimento de grãos de milho. 2008. 29p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) Universidade Estadual de Ponta Grossa UEPG, Ponta Grossa, PR, 2008.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.
- BASHAN, Y.; PUENTE, E.; RODRÍGUEZ-MENDONZA, N. N.; HOLGUIN, G.; TOLEDO, G.; FERRERA-CERRATO, R. AND PEDRIN, S. Soil parameters which affect the survival of *Azospirillum brasilense*. In: Fendrik, I.; Del Gallo, M.; Vanderleyden, J. and Zamaroczy, M. (Eds.). *Azospirillum* and related microorganisms. Germany: Springer Verlag. pp. 441-450, 1995.
- BERGAMASCHI, C. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo. 2006. 71p Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2006.
- BERNARDES, M. S.; BELARDO, G. C. Espaçamentos de plantio: Espaçamentos para a cultura da cana-de-açúcar. In: BELARDO, G. C.; CASSIA, M. T.; SILVA, R. P. **Processos agrícolas e mecanização da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: Editora SBEA, 2015. p. 243-258.
- BODDEY, R. M.; PLIDORO, J. C.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of 15N natural abudance technique for the quantification of the contribution of N2 fixation to sugar cane and others grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.28, p. 889-895, 2001.
- BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; REIS, V.M. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v.252, p.139-149, 2003.
- BRASIL, M. da S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a Gramíneas forrageiras do pantanal sulmatogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.179-190, 2005.
- CANASAT. **Cane Mapping via Earth Observation Satellite Images** (Mapeamento de cana via imagens de satelite de observação da Terra). Tables. Available from. http://150.163.3.3/canasat/tabelas.php. 2015.
- CANTARELLA, H.; ROSSETO, R.; BARBOSA, W.; PENNA, M.J. & RESENDE, L.C.L. Perdas de nitrogênio por volatilização da amônia e resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada, em sistema de colheita de cana sem queima prévia. CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 7., Londrina, 1999. **Anais.** Álcool Subpr., Londrina, 1999. p.82-87.

- CANTARELLA, H.; TRIVELLIN, P. C. O.; VITTI, A. C. Nitrogênio e enxofre na cultura da cana-de-açúcar. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira.** Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2007. p. 355-413.
- CASSÁN F, VANDERLEYDEN J, SPAEPEN S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plantbacteria-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. **Journal Plant Growth Regul**. 2014;33:440-59.
- CAVALCANTE, V.A.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v.108, p.23-31, 1988.
- CHAVES, V. A.; SANTOS, S. G.; SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; REIS, V. M. Desenvolvimento inicial de duas variedades de canade-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, p. 1595-1602, 2015.
- COJHO, E.H.; REIS, V.M.; SCHENBREG, A.C.G.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Acetobacter diazotrophicus* with an amylolytic yeast in nitrogen-free batch culture. FEMS **Microbiology Letters**, v.106, p.341-346, 1993.
- COLETI, J. T. Técnica cultural de plantio. In: PARANHOS, S. B. (Cood.). **Cana-de-açúcar**: cultivo e utilização. Campinas, Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 284-332.
- CONAB. **Acomp. safra bras. cana**, v. 3 Safra 2016/17, n. 1 Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-66, abril 2016
- CONAB. **Acomp. safra bras. cana**, v. 5 Safra 2018/19, n. 1 Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-62, maio 2018.
- COSTA, E. M. et al. Resposta de duas cultivares de feijão-caupi à inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 489-494, 2014.
- COSTA, H. T. Efeito do uso inoculante e da adubação nitrogenada em soqueira de cana-de-açúcar. 2014. 69 p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- CREUS, C.M.; SUELDO, R.J.; BARASSI, C.A. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. **Review Canadian Journal of Botanic**, v.2, p.273-281, 2004.
- CRUZ, S. C. S.; PEREIRA, F. R. S.; SANTOS, J. R.; ALBUQUERQUE, A. W.; PEREIRA, R. G. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio direto, no Estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 1, p. 62-68, 2008.
- DARTORA, J.; GUIMARÄES, V. F.; MARINI, D. & SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e Herbaspirillum seropedicae na

cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agícola e Ambiental,** 17:1023-1029, 2013.

DOBBELAERE S; VANDERLEYDEN J; OKON Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. CRC Critical **Review in Plant Science**, 22:107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v.13, p.1-13, 1992.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. Agronomic implications. In: DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. (Eds.). **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. Madison**: Science Tech. Publishers. Berlin: Springer-Verlag, 1987. p.107-113.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A.P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, Lisboa, v.1, p.261-272, 1958.

DWYER, L.M., ANDERSON, A.M., et al. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.75, n.1, p.179-182, 1995.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. rev. ampl. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353 p.

ESPIRONELLO, A.; van RAIJ, B.; PENATTI, C. P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J. L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETTO, R. Cana-de-açúcar. In: van RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C.

Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2. ed. rev. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. p. 237-239.

FERNANDES, A. C. Calculos na agroindústria de cana-de-açucar. 2. ed. Piracicaba: STAB, 2003. 240 p.

FERNANDES, F.C.S.; LIBARDI, P.L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **R. Bras. Milho Sorgo**, 6:285-296, 2007.

FERREIRA, D. F. **Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas.** Lavras: UFLA, 2000. 69 p.

FRANCO A. A.; NEVES, M. C. P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (ed.). **Microbiologia do solo**. Campinas, 1992.

FRANCO, H. C. J. **Eficiência agronômica da adubação nitrogenada de cana- planta.** 2008. 127 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

- GALINDO, F.S. **Desempenho agronômico do milho e do trigo em função da inoculação com Azospirillum brasilense e doses e fontes de nitrogênio.** 2015. 150f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista UNESP, Ilha Solteira, 2015.
- GALINDO, F.S.; LUDKIEWICZ, M.Z.; BELLOTE, J.L.M.; SANTINI, J.M.K.; ALVES, C.A.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M. Efeito de épocas de aplicação foliar de *Azospirillum* brasilense nos teores de nutrientes do trigo irrigado. **Tecnologia e Ciencia agropecuária**, v.9 (2): 37-42, 2015.
- GALVANI, E.; BARBIERI, V.; PEREIRA, A. B. Efeitos de diferentes espaçamentos entre sulcos na produtividade agrícola da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 1/2, p. 62-68, 1997.
- GASTAL, F.; LAMAIRE, G. N uptake and distribution in crops: na agronomical and ecophysiological perspective. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 370, p. 789-799, 2002.
- GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, M. W. Recuperação do nitrogênio (15N) da uréia e da palhada por soqueira de cana-de-açúcar (Saccharum spp.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 621-630, 2003.
- GÍRIO, L. A. da S. **Eficiência agronômica de bactérias diazotróficas na cultura da canade-açúcar (Saccharum spp.)**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP. 2014.
- 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**, v.50, p.33-43, 2015.
- GOMEZ-ALVAREZ, F., 1974. Correlacion entre algunos niveles de nutrientes em la hoja de la cana de azucar. **Rev. Fac. Agron**. 7(4): 5-12
- GREENWOOD, D. J.; GASTAL, F.; LEMAIRE, G.; DRAYCOTT, A.; MILLARD, P.; NEETESON, J. J. Growth rate and %N on field grown crops: theory and experiments. **Annals of Botany**. Oxford, v. 67, p. 181-190, 1991.
- GUIMARÃES, D. S. N. **Bactérias fixadoras de nitrogênio no desenvolvimento, produção e qualidade da cana de açúcar.** 2016. 38 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.
- GUIMARÃES, S. L.; SILVA, E. M. B.; KROTH, B. E.; MOREIRA, J. C. F.; REZENDE, D.. Crescimento e desenvolvimento inicial de Brachiaria decumbens inoculada com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer Goiânia, vol.7, N.13; 2011.
- HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS,M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA,F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I.

- **Azospirillum sp.:** cellphysiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiologia, Argentina, 2008. p.17-35.
- HUNGRIA, M. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro/Mariangela Hungria, Rubens José Campo, lêda Carvalho Mendes. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, 2007. 80p.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com** *Azospirillum* **brasiliense:** inovação em rendimento a baixo custo/Mariangela Hungria. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos n.395. Embrapa Soja, ISSN 1516-781X). 2011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum* brasilense and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v.331, p.413-425, 2010.
- INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, p. 185-202, 2005.
- JUSTES, E.; MARY, B. J.; MEYNARD, M. J.; MACHET, M.; THELIER-HUCHE, L. Determination of critical nitrogen dilution curve for winter wheat crops. **Annals of Botany**, Oxford, v. 74, p. 397-340, 1994.
- KAPPES, C; ARF, O; ANDRADE, J. A. C. Produtividade do milho em condições de diferentes manejos do solo e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 37:1310-1321, 2013.
- KÖPPEN, W. **Climatologia:** con um estúdio de los climas de la Tierra. México, DF: Fondo de Cultura Economica, 1948. 478 p.
- KORNDÖRFER, G. H.; COLOMBO, C.; CHIMELLO, M. A.; LEONE, P. L. C. Desempenho de variedades de Cana-de-Açúcar cultivadas com e sem Nitrogênio. STAB **Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 20, p. 28-31, 2002.
- KORNDÖRFER, G. H.; VALLE, M. R.; MARTINS, M.; TRIVELIN, P. C. O. Aproveitamento do nitrogênio da ureia pela cana-planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 23-26, 1997.
- LANA, M. DO C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. H. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v.59, p.399-405, 2012.
- LANA, M.C.; WOYTICHOSKI JÚNIOR, P.P.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; ÁVILA, M.R.; ALBRECHT, L.P. Arranjo espacial e adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v.31, n.3, p.433-438, 2009.
- LANDELL, M. G. A.; BERRO, C. D.; SILVA, C. D.; XAVIER, M. A. Manejo varietal em cana-de-açúcar: aspectos teóricos e aplicações de conceitos. In: BELARDO, G. C.; CASSIA, M. T.; SILVA, R. P. **Processos agrícolas e mecanização da cana-de-açúcar.** Jaboticabal: Editora SBEA, 2015. p. 273-288.

- LANDELL, M. G. A.; CAMPANA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; VASCONCELOS, A. C. M.; XAVIER, M. A.; BIDOIA, M. A. P.; PRADO, H.; SILVA, M. A.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; SANTOS, A. S.; PERECIN, D.; ROSSETTO, R.; SILVA, D. N.; MARTINS, A. L. M.; GALLO, P. B.; KANTHACK, R. A. D.; CAVICHIOLI, J. C.; VEIGA FILHO, A. A.; ANJOS, I. A.; AZANIA, C. A. M.; PINTO, L. R.; SOUZA, L. C. Variedades de cana-de-açúcar para o Centro-Sul do Brasil: 15a liberação do Programa Cana IAC (1959-2005). Campinas: IAC, 2005. 37 p. (Boletim Técnico, 197). 2005.
- LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. Manual do experimentador: melhoramento da canade-açúcar. In: INSTITUTO AGRONÔMICO. **Metodologia de Experimentação:** ensaios de competição em cana-de-açúcar. Pindorama: Instituto Agronômico, 1995. p. 3-9. 1995.
- LANDELL, M. G. A.; XAVIER, M. A.; GARCIA, J. C.; PRADO, H.; AZANIA, C. A. M.; SCARPARI, M. S.; ANJOS, I. A.; SILVA, D. N.; BIDÓIA, M. A. P.; BRANCALIÃO, S. R.; ROSSETTO, R.; VITTI, A. C. Cana-de-açúcar. In: AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. 7. ed. Campinas: IAC, 2014. p. 106-113. (Boletim, 200).
- LEAL, L. T. Resposta de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul. 2011. 72f. (Mestrado em Agronomia Área de Concentração em Biodinâmica e Manejo do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.
- LEITE, J. M. Acúmulo de fitomassa e de macronutrientes da cana-de-açúcar relacionadas ao uso de fontes de nitrogênio. 2011. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- LEMAIRE, G.; KHAITY, M.; ONILLON, B.; ALLIRAND, J. M.; CHARTIER, M.; GOSSE, G. Dynamics of accumulation and partitioning of N in leaves, stems and roots of lucerne (*Medicago sativa* L.) in a dense canopy. **Annals of Botany**, Oxford, v. 70, p. 429-435, 1992.
- LOPES, A.S. Micronutrientes: filosofia de aplicação e eficiencia agornômica. São Paulo: Associação Nacional para difusão de Adubos, 70p. 1999.
- MACHADO, E. C. Fisiologia de produção de cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Coord.). **Cana-de-açúcar:** cultivo e utilização. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 56-87.
- MAGALHÃES, F.M.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **An. Academia Bras**. Ci., 55:417-430, 1983.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

- MARAFON, A. C. **Análise quantitativa de crescimento em cana-de-açúcar:** uma introdução ao procedimento prático. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 29 p. (Documentos, 168).
- MARIN, F.R. Eficiência de produção de cana-de-açúcar brasileira: estado atual e cenários futuros baseados em simulações multimodelos. 2014. 262p. Tese (LivreDocência) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ, Piracicaba.
- MARINO, M. A.; MAZZANTI, A.; ASSUERO, S. G.; GASTAL, F.; ECHEVERRIA, H. E.; ANDRADE, F. Nitrogen dilution curves and nitrogen use efficiency during winter-spring growth of annual ryegrass. **Agronomy Journal**, Madison, v. 96, p. 601-607, 2004.
- MARQUES JÚNIOR, R.B.; CANELLAS, L.P.; SILVA, L.G. da; OLIVARES, F.L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1121-1128, 2008.
- MARTINS, A. L. M.; LANDELL, M. G. A. Conceitos e critérios para avaliação experimental em cana-de-açúcar utilizados no Programa Cana IAC. Pindorama: Instituto Agronômico, 1995. p. 2-14.
- MEDEIROS, A.F.A.; POLIDORO, J.C.; REIS, V.M. Nitrogen source effect on Gluconacetobacter diazotrophicus colonization of sugarcane (Saccharum spp.). **Plant Soil**, 279:141-152, 2006.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A. & CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v.1, n.2, p.74-99, 2010
- MOTOMIYA, A. V. A.; MOLIN, J. P.; MOTOMIYA, W. R.; BAIO, F. H. R. Mapeamento do índice de vegetação da diferença normalizada em lavoura de algodão. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, p. 112-118, 2012.
- MÜLLER, T. M.; BAZZANEZI, A. N.; VIDAL, V.; TUROK, J. D. N.; RODRIGUES, J. D.; SANDINI, I. E. Inoculação de *Azospirillum brasilense* no Tratamento de Sementes e Sulco de Semeadura na Cultura do Milho. In: XXIX Congresso Brasileiro de Milho e Sorgo, 2012. Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Anais do Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012.
- MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crescimiento del maiz por cepas productoras de siderófos de *Azospirillum y Pseudomonas* fluorescentes. In: CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO Y I ENCUENTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE FIJACION DE NITROGENO, 3., 1991. Cuernavaca. **Anais...** Cuernvaca, México, p.61. 1991.

- MUTHUKUMARASAMY, R. et al. N fertilizer saving by inoculation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* sp. in micropropagated sugarcane plants. **Microbiological Research**, v. 161, n. 3, p. 238-245, 2006.
- MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Diazotrophic Associations in sugarcane cultivation in south India. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 76, p. 171–178, 1999.
- NASTARI, P. Perspectivas para o setor canavieiro: análise e perspectivas do setor para o Brasil. In: BELARDO, G. C.; CASSIA, M. T.; SILVA, R. P. **Processos agrícolas e mecanização da cana-de-açúcar.** Jaboticabal: Editora SBEA, 2015. p. 31-34.
- NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017p.
- OHYAMA, T.; MOMOSE, A.; OHTAKE, N.; SUEYOSHI, K.; SATO, T.; NAKANISHI, Y.; ASSIS JUNIOR, C. A.; RUAMSUNGSRI, S.; ANDO, S. Nitrogen fixation in sugarcane. In: OHYAMA, T. (Ed.). **Advances in biology and ecology of nitrogen fixation,** InTech, n. 3, p. 49-70, 2014.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.
- OLIVARES, F.L.; BALDANI, V.L.D.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. **Biol. Fertil. Soils**, 21:197-200, 1996.
- OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; BALDANI J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.284, n.1-2, p.23-32, 2006.
- OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophitic N2 -fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, p. 205-215, 2002.
- OLIVEIRA, A.L.M.; CANUTO, E. de L.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p.59-61, 2003.
- OLIVEIRA, E. C. A. **Balanço nutricional da cana-de-açúcar relacionado à adubação nitrogenada.** 2011. 213 p. Tese (Doutorado em Ciências) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- OLIVEIRA, T. C. Densidade de plantio e manejo da adubação em cana-planta proveniente de mudas pré-brotadas. 2016. 126 p. Dissertação (Mestrado) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

- OLIVER, R. Interação entre bactérias diazotróficas e doses de n-fertilizante na cultura da cana-de-açúcar. 2014. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Agricultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.
- ORLANDO FILHO, J.; RODELLA, A. A.; BELTRAME, J. A.; LAVORENTI, N. A. Doses, fontes e formas de aplicação de nitrogênio em cana-de-açúcar. STAB, **Açúcar, Álcool e Subprodutos,** Piracicaba, v. 17, p. 39-41, 1999.
- ORLANDO FILHO, J.; ROSSETTO, R.; CASAGRANDE, A. A. Micronutrientes para a cana-de-açúcar. In: FERREIRA, M. E. et al. (Ed.). **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** São Paulo: Ed. Legis Summa, v. 1, p. 355-373, 2001.
- PEREIRA, W. **Produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas.** 2011. 70 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.
- PERIN, A.; SANTOS, R.H.S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J.G.M. & CECON, P.R. Produção de fitommassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesq. Agropec. Bras.,** 39:35-40, 2004.
- PICCININ, G.G. et al. Inoculação das sementes de trigo com *Azospirillum* brasilense associada à aplicação de biorregulador. **Informativo Abrates**, Maringá, PR, vol.25, nº1. 2015.
- PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; LONGUI, W. V.; GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.; GONZAGA, A. R.; TEIXEIRA, D. S. Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Resumos...** Campinas: IAC/ABMS, 2012. p. 1413-1419.
- PRADO JUNIOR, J. P. Q. Qualidade e produtividade de cana-de-açúcar inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico. 2008, 58f. Dissertação (Mestrando em Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agronômico, Campinas SP, f. 58, Jan. 2008.
- QUADROS, P. D. Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- RAIJ, B.van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. & FURLANI, A.M.C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, 1996. 285p.
- RAMBO, L. et al. Parâmetros de plantas para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1637-1645, 2004.

- REIS JÚNIOR, F. B., SILVA, L. G. da, REIS, V. M., DÖBEREINER, J., Ocorrência de Bactérias Diazotróficas em diferentes Genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.5, p. 985-994, 2000.
- REIS, V. M. et al. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, cap. 6, p. 153-174. 2006.
- REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews Plant Science**, v. 19, p. 227-247, 2000.
- REIS, V. M.; OLIVARES, F. L. **Vias de Penetração e Infecção de Plantas por Bactérias.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. 34 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 216), 2006.
- REIS, V. M.;ESTRADA-DE LOS SANTOS, P.;TENORIO-SALGADO, S.; VOGEL, J.; STOFFELS,M.; GUYON, S.; MAVINGUI, P.; BALDANI, V. L.D.; SCHMID, M.; BALDANI, J. I.; BALANDREAU,J.; HARTMANN, A.;CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 2155-2162, 2004.
- REIS, V.M.; PEREIRA, W.; HIPÓLITO, G. de S. **Métodos de inoculação de bactérias diazotróficas em cana-planta para fins de determinação de eficiência agronômica.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 4p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado técnico, 118). 2009.
- ROLIM, G. S.; SENTELHAS, P.C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 6, p. 133-137, 1998.
- ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F.; VITTI, A. C.; CANTARELLA, H.; LANDELL, M. G. A. Manejo conservacionista e reciclagem de nutrientes em cana-de-açúcar tendo em vista a colheita mecânica. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 124, p. 8-13, 2008.
- SAIKIA, S. P.; JAIN, V.; KHETARPAL, S.; ARAVIND, S. Dinitrogen fixation activity of *Azospirillum* brasilense in maize (*Zea mays*). **Current Science**, v. 93, n. 9, 2007.
- SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. **Annals of Botany**, v.111, p.743-767, 2013.
- SANTOS, S.L. Estudo comparativo dos métodos contínuo e semicontínuo de determinação da taxa de consumo de oxigênio. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2013.
- SCHULTZ N, MORAIS RF, SILVA JA, BAPTISTA RB, OLIVEIRA RP, LEITE JM, PEREIRA W, CARNEIRO JÚNIOR JB, ALVES BJR, BALDANI JI, BODDEY RM,

- URQUIAGA S, REIS VM. Avaliação agronômica de duas variedades de cana-deaçúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesq. Agropec. Bras.** 47:261-8., 2012.
- SCHULTZ, N. Fixação Biológica de nitrogênio associada à cultura de cana de açúcar: eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas. 2012. 119f. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.
- SCUDELETTI, D. **Modos de inoculação de Azospirillum brasilense em cana-de-açúcar.** Botucatu, 2016, 42 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2016.
- SEVILLA, M.; BURRIS, R. H.; GUNAPALA, N.; KENNEDY, C. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and 15N in corporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* wild-type and Nif mutants strains. **Molecular Plant Microbe Interactions**, 4, p. 358-366, 2001.
- SILVA, L.L.G.G, ALVES, G.C., RIBEIRO, J.R.A., URQUIAGA, S., SOUTO, S.M., FIGUEIREDO, M.V.B., BURITY, H.A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Arch. Zootec.** v.59, p. 21-30. 2010
- SKINNER, J. C. Grading varieties for selection. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 12., 1965, San Juan. **Proceedings...** Amsterdam: International Society of Sugar Cane Technologists, p. 938-949. 1967.
- SPAEPEN S, VERSÉES W, GOCKE D, POHL M, STEYAERT J, VANDERLEYDEN J. Characterization of phenylpyruvate decarboxylase, involved in auxin production of *Azospirillum brasilense*. **J Bacteriol** 189: 7626–7633, 2007.
- SUMAN, A.; GAUR, A.; SHRIVASTAVA, A.K.; YADAV, R.L. Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Plant Growth Regulation**, v. 47, p. 155-162, 2005.
- SUMAN, A.; SHASANY, A.K.; SINGH, M.; SHAHI, H.N.; GAUR, A.; KHANUJA, S.P.S. Molecular assessment of diversity among endophytic diazotrophs isolated from subtropical Indian sugarcane. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.17, p.39-45, 2001.
- SUMAN, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; GAUR, A.; SINGH, P.; SINGH, J.; YADAV, R. L. Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. **Plant Growth Regulation**, v.54, p.1-11, 2008.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 954 p. 2013.
- TRIVELIN, P. C. O. **Utilização do nitrogênio pela cana-de-açúcar: três casos estudados com o uso do traçador 15N.** 2000. 143 p. Tese (Livre Docência) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

- TRIVELIN, P. C. O.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, M. W.; GAVA, G. J. C.; SARRIÉS G. A. Utilização de nitrogênio e produtividade da cana-de-açúcar (cana-planta) em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 636-646, 2002.
- ÚNICA. UNIÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA DE SÃO PAULO. Estatísticas. São Paulo, 2017. Disponível em: http://www.unica.com.br/unicadata/.
- URANO, E.O.M.; KURIHARA, C.H.; MAEDA, S. VITORINO, A.C.T.; GONÇALVES, M.C. & MARCHETTI, M.E. Determinação de teores ótimos de nutrientes em soja pelos métodos chance matemática, sistema integrado de diagnose e recomendação e diagnose da composição nutricional. R. Bras. Ci. Solo, 31:63-72, 2007.
- URQUIAGA S, XAVIER R, MORAIS RF, BATISTA R, SCHULTZ N, LEITE JM, RESENDE A, ALVES BJR, BODDEY RM. Evidence from field nitrogen balance and 15N natural abundance data of the contribution of biological N2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant Soil.** 356:5-21, 2012.
- 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.
- VALE, D. W. et al. Omissão de macronutrientes na nutrição e no crescimento da canade-açúcar cultivada em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 2, p. 189-196. 2011.
- VITORINO, R; VITORINO, R.; GARCIA, J. C.; AZANIA, C. A.; SILVA, D. M.; BELUCI, L. R. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de canadeaçúcar, variedade RB867515. **Anais...** 6º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, Jaguariúna/SP, 2012.
- VITTI, A. C. Adubação nitrogenada da cana-de-açúcar (soqueira) colhida mecanicamente sem a queima prévia: manejo e efeito na produtividade. 2003. 114 p. Tese (Doutorado em Ciências) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.42, n.2, p.249-256, fev. 2007.
- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E.; OTTO, R.; TRIVELIN, M.O.; TOVAJAR, J.G. Mineralização da palhada e crescimento de raízes de cana-de-açúcar relacionados com a adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p.2757-2762, 2008.
- YAMADA, T.; LOPES, A.S. Balanço de nutrientes na agricultura brasileira. Informações Agronômicas, n.84,p.1-8, 1998.