UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

HUGO TELLES COSTA

**Efeito do uso de inoculante e da adubação nitrogenada em
soqueira de cana-de-açúcar**

Pirassununga/SP

2014

HUGO TELLES COSTA

**Efeito do uso de inoculante e da adubação nitrogenada 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 Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique de Cerqueira Luz

Pirassununga/SP

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

C837e Costa, Hugo Telles
Efeito do uso de inoculante e da adubação nitrogenada
em soqueira de cana-de-açúcar / Hugo Telles Costa. --
Pirassununga, 2014.
69 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique de Cerqueira
Luz.

1. Ajifer 2. Teores foliares 3. Qualidade tecnológica
4. Formas de aplicação 5. Bactérias diazotróficas.
I. Título.

Dedicatória

À minha família, meus pais Pedro Costa e Jussara Telles, aos meus avós João Telles, Nauria Telles e Amelia Costa, minha namorada Thaysa Silva e minha sogra Suely Silva, que sempre me incentivaram e apoiaram, foram fundamentais para que eu conquistasse mais essa vitória.

Aos meus amigos e colegas das agrárias e do laboratório de solos da FZEA que me ajudaram muito, na execução deste trabalho.

Agradecimentos

A Deus,

que esteve ao meu lado em todo momento, me fortalecendo e animando diante das situações difíceis que passei durante esta etapa.

Ao professor Dr. Pedro Henrique de Cerqueira Luz,

por sua orientação e compreensão, me auxiliando a desenvolver meu trabalho.

Aos professores Dr. Valdo Rodrigues Herling e Dr. Fabrício Rossi

pelos conselhos, momentos de descontração e apoio diante das adversidades encontradas.

À equipe do Laboratório de Solos da FZEA,

técnico do laboratório Marcos, funcionários e estagiários, Lorena, Robson, Natalia e Diego pela oportunidade de trabalharmos em conjunto e pela dedicação ao trabalho empenhada.

Aos meus amigos e colegas, Leonardo, Liliane, Fernanda, Mario, Jessica, Tiago, Cesar, Celso, Gabriela, Vanessa, João, Cristian, Adriana, Adja, Volnei, Rafael, Lucas, Flávia, Tiara e tantos outros que não estou citando agora, pelo companheirismo, amizade e dedicação de cada um.

Aos funcionários das Agrárias, Manoel, Paulo pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

*Tu que habitas sob a proteção do Altíssimo, que moras à sombra do Onipotente,
dize ao Senhor: Sois meu refúgio e minha cidadela, meu Deus, em que eu confio.*

É ele quem te livrará do laço do caçador, e da peste perniciosa.

Ele te cobrirá com suas plumas, sob suas asas encontrarás refúgio.

Sua fidelidade te será um escudo de proteção.

*Tu não temerás os terrores noturnos, nem a flecha que voa à luz do dia,
nem a peste que se propaga nas trevas, nem o mal que grassa ao meio-dia.
Caíam mil homens à tua esquerda e dez mil à tua direita, tu não serás atingido.
Porém verás com teus próprios olhos, contemplarás o castigo dos pecadores,
porque o Senhor é teu refúgio.*

Escolheste, por asilo, o Altíssimo.

*Nenhum mal te atingirá, nenhum flagelo chegará à tua tenda,
porque aos seus anjos ele mandou que te guardem em todos os teus caminhos.*

Eles te sustentarão em suas mãos, para que não tropeces em alguma pedra.

Sobre serpente e víbora andarás, calcarás aos pés o leão e o dragão.

Pois que se uniu a mim, eu o livrarei; e o protegerei, pois conhece o meu nome.

Quando me invocar, eu o atenderei; na tribulação estarei com ele.

Hei de livrá-lo e o cobrirei de glória.

Será favorecido de longos dias, e mostrar-lhe-ei a minha salvação.

RESUMO

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

O presente trabalho foi desenvolvido a campo, conduzido no período de novembro de 2011 a julho de 2012, em canavial comercial da região de Pirassununga – SP, cultivado com a variedade de cana-de-açúcar RB-867515, em uma soqueira de terceiro ano manejada sem queima, com colheita mecanizada. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de inoculante composto por bactérias diazotróficas, associado a doses de N-fertilizante (Ajifer) sobre os aspectos quantitativos e qualitativos da produção de cana-de-açúcar, e os teores de macronutrientes e micronutrientes foliares. As doses de nitrogênio utilizadas foram de 0, 60, 90 e 120 kg de N ha⁻¹. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizado com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 3X4 (três níveis para tipo de aplicação de inoculante, e quatro níveis para o N-fertilizante), com quatro repetições. Os tratamentos foram: T1- Controle, T2- Inoculante com pulverização foliar com jato dirigido sobre a linha de cana-de-açúcar (aplicação foliar), T3- Inoculante com pulverização na linha de cana após o corte com disco de aplicação de inseticida (aplicação injetada), T4- 60 Kg de N/ha, T5- Inoculante com aplicação foliar + 60 Kg de N/ha, T6- Inoculante com aplicação injetada + 60 Kg de N/ha, T7- 90 Kg de N/ha, T8- Inoculante com aplicação foliar + 90 Kg de N/ha, T9- Inoculante aplicação injetada + 90 Kg de N/ha, T10- 120 Kg de N/ha, T11- Inoculante com aplicação foliar + 120 Kg de N/ha e T12- Inoculante com aplicação injetada + 120 Kg de N/ha. Os dados foram analisados utilizando pacote estatístico SAS 9.3, aplicando teste Tukey e regressão múltipla. A aplicação de inoculante em soqueira implicou em aumento do teor foliar de N com incremento em produção de colmos e stand, a fonte nitrogenada Ajifer conduziu a respostas lineares crescentes para a produção de colmos e stand, não refletindo significativamente nos teores de fibra, pol e ATR da matéria prima, e o uso de níveis crescentes de fornecimento de N implicou em redução nos teores foliares de Fe, Mn e Zn.

Palavras-chave: Ajifer, bactérias diazotróficas, formas de aplicação, qualidade tecnológica, teores foliares.

ABSTRACT

COSTA, H.T. **Effect of inoculation and nitrogen fertilization on ratoon cane sugar**. 2014. 69f. Dissertation (Masters) Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2014.

This work was developed in the field from November 2011 to July 2012 in a commercial sugarcane field in the region of Pirassununga - SP, which was cultivated with the sugarcane variety RB-867515 in a third year ratoon handled with no burning and mechanical harvesting. The objective of this study was to investigate the effect of inoculant application composed of diazotrophic bacteria associated with N-fertilizer (Ajifer) on quantitative and qualitative aspects of sugarcane production, and the foliar macronutrient and micronutrient content. Nitrogen rates were 0, 60, 90 and 120 kg N ha⁻¹. We used a randomized experimental design with treatments arranged in a factorial 3x4 (three levels for inoculant application type and four levels for N-fertilizer), with four replications. The treatments were: T1-Control, T2-Inoculant with foliar spray over the sugarcane line (foliar application), T3- Inoculant with spraying on sugarcane line after cutting with insecticide application disc (injected application), T4-60 kg N/ha, T5-Inoculant with foliar application + 60 kg N/ha, T6-Inoculant with injected application + 60 kg N/ha, T7- 90 kg N/ha, T8- Inoculant with foliar application + 90 kg N/ha, T9- Inoculant with injected application + 90 kg N/ha, T10-120 kg N/ha, T11 – Inoculant with foliar application + 120 kg N/ha and T12- Inoculant with injected application + 120 kg N/ha. Data were analyzed using SAS 9.3 statistical package, Tukey's test and multiple regression. The inoculant application on ratoon resulted in increased foliar N concentration with an increase in stems and stand yield. The nitrogen source Ajifer led to growing linear responses for stems and stand yield, not significantly reflecting in fiber content, pol and ATR

of raw material. Finally, the use of increasing N supply levels resulted in a reduction in foliar Fe, Mn and Zn content.

Keywords: Ajifer, application forms, diazotrophic bacteria, leaf content, technical quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área de soqueira de 3º corte da variedade RB 867515.....	29
Figura 2. Balanço hídrico e temperatura média durante a condução do experimento no município de Pirassununga - SP.	32
Figura 3. Identificação da parcela experimental (A); Aplicação do coquetel de bactérias injetado no solo (B).	34
Figura 4. Amostra das 5 estirpes de bactérias diazotróficas que formaram o coquetel que será aplicado incorporado ao solo via disco de corte (A,B,C,D,E). Preparação do coquetel com as estirpes de bactérias diazotróficas em 100 litros de calda (F).	36
Figura 5. Aplicação do inoculante via foliar, com pulverizador de pesquisa costal (A e B). .	37
Figura 6. Aplicação de N-fertilizante nas linhas da soqueira de cana-de-açúcar, (A) dosagem de 30 kg de N ha ⁻¹ , (B) dosagem de 90 kg de N ha ⁻¹ , (C, D) dosagem de 120 kg de N ha ⁻¹ .	38
Figura 7. Colheita das parcelas experimentais.	38
Figura 8. Curvas da regressão dos parâmetros quantitativos, equação da curva e R ²	44
Figura 9. Curva de regressão para os macronutrientes primários e secundários, com equação da curva e R ²	51
Figura 10. Curva de regressão para os micronutrientes, com equação da curva e R ²	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Extração, exportação, produção de colmos por hectare (TCH) e extração de nitrogênio necessária para produzir 100 toneladas de colmo.	20
Tabela 2. Atributos químicos do solo, antes da instalação do experimento nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para macronutrientes.....	30
Tabela 3. Atributos químicas do solo antes da instalação do experimento nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para micronutrientes.	30
Tabela 4. Atributos físicos do solo da área experimental/Análise granulométrica.	30
Tabela 5. Produtividade e Stand.	42
Tabela 6. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos das variáveis respostas em relação à forma de aplicação do inoculante quanto aos valores quantitativos.....	43
Tabela 7. Parâmetros qualitativos ATR, Fibra e Pol.	46
Tabela 8. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos das variáveis respostas em relação a forma de aplicação do inoculante quanto aos valores qualitativos.....	47
Tabela 9. Resultados obtidos dos macronutrientes foliares.....	49
Tabela 10. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos dos macronutrientes em relação a forma de aplicação do inoculante...	50
Tabela 11. Resultados obtidos dos micronutrientes foliares.	53
Tabela 12. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos dos micronutrientes em relação a forma de aplicação do inoculante. ..	54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Tratamentos do experimento.....	33
Quadro 2. Forma de obtenção dos tratamentos.....	33
Quadro 3. Disposição dos tratamentos no campo, após sorteio dentro de cada bloco.....	34
Quadro 4. Caracterização química do Ajifer.....	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Hipóteses.....	14
1.2	Objetivo	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	A Cultura da Cana-de-Açúcar.....	15
2.2	Fertilizantes nitrogenados em cana-de-açúcar	16
2.3	Fixação biológica de Nitrogênio (FBN)	22
2.4	Bactérias Diazotróficas	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Localização e caracterização da área experimental	29
3.2	Delineamento experimental	33
3.3	Instalação e condução do experimento	35
3.4	Avaliação do material vegetal.....	39
3.5	Método analítico	39
3.6	Determinação da produtividade e qualidade tecnológica	39
3.7	Forma de análise dos resultados	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	Parâmetros quantitativos.....	42
4.2	Parâmetros qualitativos	46
4.3	Análises químicas foliares dos macronutrientes (N, P, K, S, Ca e Mg).	49
4.4	Análises químicas foliares dos micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zn).....	53
5	CONCLUSÕES.....	56
	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar plantada no país (*Saccharum* spp.) é uma gramínea semiperene, membro da família *Poaceae*, originária do sudeste asiático, na região da Nova Guiné (DANIELS; ROACH, 1987), sendo introduzida no Brasil colonial e se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira. O país é atualmente o maior produtor mundial, seguido de países de expressão como Índia, China, Tailândia, Paquistão e México (BRASIL, 2012).

A cana-de-açúcar é uma cultura que pode ser cultivada em uma ampla faixa de latitude, que compreende do norte ao sul do Brasil, entre as faixas de latitude de 4,58°N a 33,7°S, e em altitudes que variam do nível do mar a 1.000m (MAGALHÃES, 1987).

A cultura é uma das mais importantes do agronegócio brasileiro, servindo como matéria prima para produção de açúcar, álcool, geração de energia e alimentação animal. Dentre os fatores que contribuíram para esse sucesso, destacam-se, o aumento nas exportações de açúcar e álcool, e a elevação do consumo interno do álcool combustível. O estado de São Paulo se destaca no cenário nacional como maior produtor.

Devido a problemas ambientais, houve a necessidade de implantar um sistema de colheita sem queima da cana-de-açúcar, denominada de “crua”, desta forma, práticas associadas à colheita mecanizada começaram a fazer parte deste contexto, o que resultou em um acréscimo de palha ao sistema. A presença dessa camada de palha na superfície do solo exigiu alterações no manejo da cultura, principalmente relacionado à adubação nitrogenada de soqueira.

A fonte mais utilizada para adubação nitrogenada é a ureia, por ser a unidade kg de nitrogênio (N) de menor custo no mercado, mas esta apresenta grandes problemas ao ser aplicada sobre a palha, podendo implicar em altas perdas por volatilização.

Desta maneira, a aplicação de uma fonte amídica sobre restos culturais de cana-de-açúcar, associada com temperatura elevada e baixa precipitação, contribuem para o aumento das perdas de N-NH₃ por volatilização (VITTI et al., 2005).

Um subproduto líquido da fabricação do ácido glutâmico vem sendo usado como fonte de fertilizante nitrogenado em São Paulo para as culturas da cana-de-açúcar, pastagem e citros entre outras. Este subproduto contém quantidades significativas de matéria orgânica, nitrogênio, enxofre, potássio e é denominado Ajifer.

O uso de insumos biológicos visando reduzir a aplicação de adubos minerais, relacionado com a crescente demanda da sociedade pela produção de alimentos, associada à manutenção da qualidade ambiental, traz grandes desafios para integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção.

As associações entre bactérias diazotróficas e as gramíneas como cana-de-açúcar, entre outras, podem ser utilizadas como alternativa sustentável e economicamente viável no sentido da substituição parcial das adubações nitrogenadas.

A fixação simbiótica de N decorrente da associação de bactérias diazotróficas com a cana-de-açúcar, principalmente em cana planta, talvez possa explicar a baixa resposta da cana planta a adubação nitrogenada, diferentemente da cana soca.

Estudos realizados em cana-de-açúcar têm mostrado que a utilização destes microrganismos pode fornecer quantidades significativas de nitrogênio, chegando a suprir cerca de 60 a 70% da demanda do nutriente pela planta, através da fixação biológica de nitrogênio (YONEYAMA et al., 1997; BIGGS et al., 2002).

1.1 Hipóteses

Neste contexto, foram formuladas as seguintes hipóteses:

- (i) A utilização de inoculante com o coquetel de bactérias diazotróficas proporcionara aumento nos teores de N foliar com incremento em produção de cana-de-açúcar.
- (ii) O uso da fonte nitrogenada Ajifer em doses crescentes implicara em incremento nos parâmetros quantitativos e qualitativos de produção de cana-de-açúcar.
- (iii) A aplicação do Ajifer favorecera os teores foliares dos macronutrientes e micronutrientes.

1.2 Objetivo

Com base nestas hipóteses, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de inoculante composto por bactérias diazotróficas, associado a doses de N-fertilizante (Ajifer) sobre os aspectos quantitativos e qualitativos da produção de cana-de-açúcar, e os teores de macronutrientes e micronutrientes foliares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura da Cana-de-Açúcar

A cana-de-açúcar é cultivada em escala comercial em todo o país, gerando variabilidade na adaptação das cultivares nas diversas regiões de cultivo, apresentando, portanto, comportamento de produção em função do ambiente (MAULE et al., 2001).

A área cultivada com cana-de-açúcar na safra 2013/14 está estimada em mais de 8,8 milhões de hectares, distribuídas em todos os estados produtores. O estado de São Paulo permanece como o maior produtor com 51,66% (4.552.040 hectares) da área plantada, seguido por Goiás com 9,29% (818.390 hectares), Minas Gerais com 8,85% (779.830 hectares), Paraná com 6,66% (586.400 hectares), Mato Grosso do Sul com 7,08% (624.110 hectares), Alagoas com 5,02% (442.590 hectares) e Pernambuco com 3,25% (286.030 hectares). Nos demais estados produtores as áreas são menores, com representações abaixo de 3,0% (BRASIL, 2014).

A previsão de produção de cana-de-açúcar da região Centro-Sul deve ser de 602,27 milhões de toneladas, 13,0% maior que a produção da safra anterior. A região Norte/Nordeste também sinaliza um aumento em torno de 3,0%, passando de 55,93 milhões de toneladas da safra 2012/13, para 57,58 milhões na safra 2013/14. A previsão do total de cana-de-açúcar para ser moída é de 659,85 milhões de toneladas, com aumento de 12,0% em relação à safra 2012/13, que foi de 588,92 milhões de toneladas, significando que a quantidade que será moída deve ser 70,93 milhões de toneladas maiores que na safra anterior. A produtividade obtida na atual temporada da safra 2013/14 apresentou uma considerável melhora em relação à safra passada, com um crescimento de 7,9% na média geral passado de 69.407 kg.ha⁻¹ para 74.891 kg.ha⁻¹. Esse incremento ocorreu principalmente na região Centro-Sul (BRASIL, 2014).

As cultivares de cana, apresentam potenciais genéticos de produção muito mais elevados comparados aos que tem sido obtido como média de produção, considerando as unidades mais tecnificadas de produção, que raramente ultrapassam 100 t ha⁻¹ de colmos. Essa defasagem entre o potencial genético e as produtividades obtidas pode estar relacionada com, o clima, solo, práticas culturais e as interações destes fatores com as características genéticas das cultivares, para obter os fatores intrínsecos de produção (NUNES JÚNIOR et al., 2002).

Algumas características desejáveis de cultivares de cana-de-açúcar devem ser: elevada produtividade agrícola, altos teores de sacarose, precocidade de maturação, longo período útil de industrialização, além de boa brotação, longevidade das socas, ausência de florescimento, baixo índice de tombamento, facilidade de colheita mecanizada e a resistência às principais pragas e doenças que afetam a cultura (GHELLER, 1993).

Em relação às condições edafoclimáticas, o clima ideal para a produção de cana-de-açúcar é formado por uma estação quente e úmida que tem a finalidade de promover a brotação, perfilhamento e desenvolvimento vegetativo, seguida de uma estação fria e seca, para promover a maturação e consequentemente acúmulo de sacarose. No país a cana-de-açúcar é plantada em três épocas distintas, janeiro a maio (cana de ano e meio), junho a agosto (cana de inverno) e setembro a novembro (cana de ano) (BRASIL, 2012).

Demattê (1986) cita que os atributos do solo que podem levar a potenciais produtivos distintos, tais como: a classe textural do solo, a saturação e os teores absolutos de bases trocáveis, a saturação por alumínio, a saturação por sódio, os teores de fósforo assimilável, a capacidade de fixação de fósforo e a umidade disponível.

Assim a principal destinação da cana-de-açúcar produzida no Brasil é para fabricação de açúcar e etanol. Ela é a matéria-prima que permite os menores custos de produção de açúcar e álcool, devido à energia consumida no processo ser proveniente dos seus próprios resíduos e pode perdurar no campo durante cinco anos, permitindo assim cinco cortes, com produtividade de 85 t/ha (120-65), rendimento de açúcar de 138 kg/t e rendimento de álcool de 82 l/t (BRASIL, 2012).

2.2 Fertilizantes nitrogenados em cana-de-açúcar

O nitrogênio é um dos nutrientes mais diretamente relacionados com o rendimento das culturas, sendo especialmente crítico em solos tropicais e subtropicais. Além do carbono e hidrogênio, o nitrogênio é o nutriente mais abundante na matéria viva, participando na composição de moléculas de ácidos nucleicos, proteínas e polissacarídeos entre outras. Entretanto, apesar do nitrogênio ser requerido pelos seres vivos e encontrado em abundância na natureza, este se apresenta de forma não assimilada, necessitando, portanto, de uma transformação para uma forma combinada que facilite sua assimilação (FRANCO, DÖBEREINER, 1994).

O ciclo do N apresenta dinâmica complexa, por sofrer transformações, devido sua alta mobilidade no sistema solo-planta-atmosfera, desta maneira os fertilizantes nitrogenados

aplicados no solo passam por transformações químicas e microbianas, que podem resultar em perdas (VITTI et al., 2007). Os fertilizantes nitrogenados são importantíssimos para impulsionar a produção de alimentos no mundo, sendo o Brasil um dos maiores consumidores desse insumo (6% da produção mundial) e participando com apenas 2% na produção mundial. A China, Estados Unidos, Índia e a Rússia são os maiores produtores mundiais e também um dos maiores consumidores, com a China (33%), EUA (16%) e Índia (11%) consumindo cerca de 60% de todo o fertilizante nitrogenado produzido no mundo. (ANDA, 2013).

Dentre os fertilizantes nitrogenados, a ureia é o que apresenta o maior potencial de perdas de NH_3 por volatilização. Entretanto, há alternativas de manejo para reduzir ou mesmo eliminar as perdas de N por volatilização, como a incorporação ao solo, e a aplicação de lamina d'água. A adubação nitrogenada deve ser realizada para obter maior recuperação do N-fertilizante no sistema solo-planta e manter a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas, melhorando a eficiência de uso de N para aumentar a produtividade, reduzir os custos de produção e manter a qualidade ambiental. (STIPP; PROCHNOW, 2008).

Apesar do aumento significativo na produtividade de cana-de-açúcar desde o início do programa Pró-Álcool, de 1975 a 2010, com aumento de produção de 178% (CUNHA; CESARIN; PROCHNOW, 2011), um aspecto positivo do cenário sucroenergético brasileiro é o baixo consumo de fertilizantes nitrogenados, em comparação com outras regiões produtoras do mundo com produtividades semelhantes. Como Índia, EUA, Colômbia e Austrália, que utilizam fertilizantes nitrogenados na faixa de 150 a 200 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, enquanto no Brasil, a média de utilização está entre 60 a 80 kg N ha⁻¹ ano⁻¹ (BAPTISTA et al., 2014).

Segundo Azeredo (1986), existe a falta de resposta da cana-planta ao nutriente, enquanto na cana-soca esse efeito é contrário, havendo resposta da planta a adição mineral nitrogenada. Vitti et al. (2005), Stipp e Prochnow (2008), relatam que a adubação nitrogenada tem efeito diferenciado da cana-planta para cana-soca, devido à cana planta se associar com bactérias fixadoras de nitrogênio do ar, principalmente as *Beijerinckia sp.*, *Gluconacetobacter sp.* e *Azospirillum sp.*, que permitem a fixação de N, em condições de pH no solo de 5,5 a 6,5. Em razão da presença de açúcares no tolete, além da mineralização da matéria orgânica do solo proveniente dos restos culturais da cultura antecessora, presença de sistema radicular mais vigoroso, contribuição do N contido no colmo. Por outro lado na cana-soca não há mais associação entre as bactérias fixadoras de N e as raízes, devido à morte do sistema radicular, ausência do tolete sendo necessária a reposição com adubação nitrogenada.

Em relação à extração de nitrogênio, trabalhos realizados por Oliveira et al. (2010) com a alocação de nutrientes na parte aérea da cana-planta apresentaram, em média, valores

de 179, 25, 325, 226 e 87 kg ha⁻¹ de N, P, K, Ca e Mg, respectivamente, o que proporcionou a seguinte ordem decrescente de extração: K > Ca > N > Mg > P. Valores semelhantes foram encontrados por Franco et al. (2007), que encontraram acúmulo de nutrientes na parte aérea da variedade SP813250 na colheita de cana-planta apresentando a seguinte ordem decrescente: K > N > Ca > S > Mg > P. Já Coleti et al. (2006), estudando as variedades RB835486 e SP813250, encontraram para cana-planta, a seguinte ordem de extração de nutrientes: K > N > S > P > Mg > Ca, e na cana-soca: K > N > P > Mg > S > Ca. Orlando Filho et al. (1980) também havia realizado estes estudos em variedade mais antiga e menos produtiva, como a CB4176 a exigência dos macronutrientes não seguiu o mesmo padrão das variedades atualmente plantadas, obtendo-se na cana-planta e cana-soca a ordem de extração de: K > N > Ca > Mg > S > P.

Raij et al. (1996) apresenta as faixas de teores foliares adequados de nutrientes para a cana-de-açúcar: N (18-25 g Kg⁻¹), P (1,5-3,0 g Kg⁻¹), K (10-16 g Kg⁻¹), Ca (2-8 g Kg⁻¹), Mg (1-3 g Kg⁻¹), S (1,5-3,0 g Kg⁻¹), B (10-30 mg Kg⁻¹), Cu (6-15 mg Kg⁻¹), Fe (40-250 mg Kg⁻¹), Mn (25-250 mg Kg⁻¹), Mo (0,05-0,2 mg Kg⁻¹) e o Zn (10-50 mg Kg⁻¹).

Já Malavolta (1981) apresenta os níveis críticos para a cana-de-açúcar: N (16 g Kg⁻¹), P (1,2 g Kg⁻¹), K (12 g Kg⁻¹), Ca (4 g Kg⁻¹), Mg (2 g Kg⁻¹), S (2 g Kg⁻¹), B (10 mg Kg⁻¹), Cu (6 mg Kg⁻¹), Fe (100 mg Kg⁻¹), Mn (50 mg Kg⁻¹) e o Zn (10 mg Kg⁻¹).

Estudos realizados demostram que quando a cana-de-açúcar produz 100 t de colmos/ha no primeiro ciclo, acumulam 150 até 200 kg de N/ha, na soca este valor é de aproximadamente 100 a 180 kg N/ha. Após a colheita muito pouco deste nitrogênio fica no campo, apenas o N da palha, e o nitrogênio dos colmos é levado para a Usina. O nitrogênio adicionado para a cana-planta na forma de fertilizante raramente ultrapassa 40 kg de nitrogênio/ha, e na soca não mais de 80 a 100 kg de nitrogênio/ha. Se nada deste fertilizante nitrogenado fosse perdido por lixiviação ou volatilização, ainda assim a cultura retira do campo mais nitrogênio do que é adicionado (ORLANDO FILHO et al., 1980; SAMPAIO; SALCEDO; BETTAMY, 1984).

Segundo Oliveira et al. (2010) pesquisas de identificação do potencial de extração e exportação de nutrientes em novas variedades são poucas e sem fundamentos sólidos para aceitação na esfera científica. Os resultados que ainda são utilizados referem-se às variedades Co 419 e CB 41-76, que não são mais cultivadas (ORLANDO FILHO et al., 1980; SOBRAL; WEBER, 1983), isto porque os estudos estão sendo conduzidos em condições de sequeiro, que não demonstraram o máximo potencial produtivo e de extração de nutrientes pelas variedades, devido à limitação das condições edafoclimáticas de cada ambiente de produção.

Nessas condições de cultivo, resultados de pesquisa em diferentes variedades e classes de solo revelaram que a exigência nutricional para produção de uma tonelada de colmo por hectare (TCH) variou de 0,92 a 1,80 kg de N (ORLANDO FILHO et al., 1980; COLETI et al., 2006; TASSO JUNIOR et al., 2007; FRANCO et al., 2008).

Em estudo realizado pelo mesmo autor Oliveira et al. (2010) analisando a extração, exportação, produção e a produção versus extração de nutriente em função de 11 variedades conforme a Tabela 1, constatou-se que a maior extração foi da variedade RB92579, com menores extrações das variedades RB872552, RB813804 e com extrações intermediárias, no restante das variedades: RB867515, SP81-3250, SP78-4764, RB863129, RB943365, RB763710, RB72454 e SP79-1011 que acumularam na parte aérea valor médio de extração de 179 kg ha⁻¹ de N. Avaliando as relações entre extrações de nutrientes e produção, constatou-se que RB867515 e SP784764 foram as variedades que exigiram mais nitrogênio, e que as menores exigências nutricionais de N foram obtidas nas variedades RB872552 e RB813804 que representou cerca de 2,4 vezes menos do que exigiu a RB867515. Já para o N exportado para o colmo constatou-se nas variedades RB72454 e RB872552 que as quantidades exportadas foram apenas 18 e 19 %, respectivamente, do N acumulado na parte aérea da planta. Entretanto, nas variedades SP81-3250 e RB92579 as exportações corresponderam a 70 e 64 %, respectivamente, de todo o N extraído pela cultura. Quanto às demais variedades, RB867515, SP78-4764, RB763710, RB943365, SP79-1011, RB863129 exportaram quantidades diferentes entre si de 80 a 135 kg ha⁻¹ de N, encontrando valor médio de exportação de 92 kg ha⁻¹ de N nas 11 variedades avaliadas. A relação entre quantidade exportada e extraída de N pelas variedades mostrou variação percentual de 18 a 70 %. Variações nas exportações entre 16 e 60 % de todo o N acumulado na parte aérea também foram encontradas na literatura por (COALE et al., 1993; WOOD; MUCHOW; ROBERTSON, 1996; KORNDORFFER et al., 1997; GAVA et al., 2001; RAKKIYAPPAN et al., 2007).

Oliveira et al. (2002), avaliando extração de N nas variedades RB867515 e RB72454 sob irrigação de salvação, constataram acúmulos na parte aérea de 271 e 198 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Por outro lado, quando não irrigadas, as variedades RB867515 (SILVA et al., 2007) e RB72454 (BARBOSA et al., 2002) apresentaram extrações de 149 e 134 kg ha⁻¹ de N, respectivamente. Também em manejo de sequeiro, as variedades SP81-3250 (COLETI et al., 2006; FRANCO et al., 2008) e RB92579 (SILVA et al., 2007) apresentaram extrações de 185 e 148 kg ha⁻¹ de N, respectivamente.

Na cana-soca da cultivar SP801842 Prado, Fernandes e Natale (2002), observaram valores de exportação de nutrientes da ordem de 87 kg ha⁻¹ de N, produzindo em torno de 70 t ha⁻¹ de colmos. Coleti et al. (2002) observaram exportação nos colmos, para cana-planta e cana-soca respectivamente, de 146 e 84 kg ha⁻¹ de N.

Tabela 1. Extração, exportação, produção de colmos por hectare (TCH) e extração de nitrogênio necessária para produzir 100 toneladas de colmo.

Variedades	Extração de N em kg ha ⁻¹	Exportação de N em kg ha ⁻¹ , %		TCH em t ha ⁻¹	Extração de N em kg/t colmos
SP79-1011	142	85	60	155	0,92
RB13804	94	36	38	177	0,53
RB863129	196	80	41	181	1,08
RB872552	96	18	19	176	0,55
RB943365	177	85	48	193	0,92
RB72454	153	27	18	192	0,80
RB763710	170	90	53	212	0,80
SP78-4764	201	122	61	179	1,12
SP81-3250	241	168	70	232	1,04
RB867515	237	135	57	186	1,27
RB92579	260	167	64	256	1,02

Fonte: Oliveira et al. (2010).

Um subproduto da indústria alimentícia vem sendo utilizado como fonte alternativa de baixo custo de nitrogênio e enxofre, o Ajifer (2% N até 7,5% N e 4% S), o qual pode ser utilizado como fonte de nitrogênio em cana-soca, aplicando isoladamente ou misturado, enriquecido com cloreto de potássio (VITTI et al., 2005 e DEMATTÊ, 2009), vêm de maneira crescente, revelando-se como um insumo alternativo, na adição de matéria orgânica, bem como na fertilização das culturas.

O Ajifer é caracterizado como resíduo líquido resultante do processo de fermentação glutâmica (COSTA, VITTI, CANTARELLA, 2003) ao qual são adicionados os nutrientes P, K, Mg, Mn e Fe pelos sais KH₂PO₄, MgSO₄, MnSO₄ e FeSO₄ além da substância proteica mameno, proveniente da hidrólise do farelo de soja, para servir de substrato aos microrganismos aeróbicos específicos, provenientes de cultura pura, que promove a

fermentação. O pH ótimo do substrato é conseguido pela adição de amônia (NH_3) ao meio, de forma a tamponar o sistema visando à eficiência da fermentação.

Essa fermentação ocorre com o xarope de cana de açúcar para a fabricação de L-Lisina e L-Treonina, que são aminoácidos utilizados como suplementos de alimentos para avicultura e suinocultura. Esse fertilizante vem sendo largamente utilizado por ser uma fonte rica em nitrogênio, matéria orgânica, potássio e enxofre. Esse produto é registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como fertilizante organomineral fluido.

Campos, Alves e Kamimura (2005) ao realizar um experimento em uma propriedade de Brejo Alegre, SP, cujo objetivo foi avaliar a influência do Ajifer L-40 quando usado como condicionador nas propriedades físicas de um latossolo, verificaram que a aplicação do produto influenciou as propriedades físicas do solo melhorando as características de porosidade (macro e micro poros) e aumentando a CTC.

Schiavoni et al. (2011) avaliando a influência de dosagens de Ajifer nos atributos químicos e físicos dos solos e no aumento de produção e na qualidade de forragem (*Brachiaria brizantha*) no noroeste paulista encontrou que não houve diferença nos atributos químicos, mas influenciou positivamente a densidade do solo, dentre as propriedades físicas do solo, na dose recomendada ($60 \text{ kg de N ha}^{-1}$), influenciou a produção de massa seca, e com 25 % a mais que a dose recomendada, influenciou a produção de massa seca e também, a proteína bruta.

Costa, Vitti, Cantarella (2003), testando perdas de N-NH_3 por volatilização e aumento de produtividade em cana-soca, encontraram as menores perdas para o resíduo líquido Ajifer com 9% de perdas, os autores concluíram que isso ocorreu provavelmente, ao pH baixo da fonte aplicada e ao fato de menos da metade do N contido no resíduo estar na forma amídica. No tratamento com Ajifer também encontraram as melhores respostas para produção de colmo.

Casoti (2008) ao trabalhar com adubação nitrogenada com doses de 0 a 160 kg ha^{-1} de N em cana-de-açúcar variedade RB867515 em soca de terceiro ano, encontrou resposta significativa para produção para doses de Ajifer superiores a 120 kg ha^{-1} , estes resultados evidenciam a importância da utilização do nutriente na adubação para potencializar a produção de forrageiras e de cana-de-açúcar, corroborando para os resultados observados por Heinrichs e Soares Filho (2006) em pastagem.

2.3 Fixação biológica de Nitrogênio (FBN)

Cerca de 80% do ar é constituído de N_2 e apesar da sua grande disponibilidade, as plantas não conseguem utiliza-lo, o problema básico para a fixação do nitrogênio é a presença da tripla ligação N-N, o que torna este gás extremamente estável a temperatura ambiente. Apenas uma porção dos organismos do grupo dos procariotos consegue converter ou reduzir enzimaticamente o nitrogênio da atmosfera em amônia, para serem utilizados em seu desenvolvimento, estes organismos são denominados diazotróficos. O mecanismo responsável pela incorporação de N_2 à biomassa é chamado de fixação biológica de nitrogênio (FBN). (SPRENT; SPRENT, 1990; EVANS; BURRIS, 1992; REIS et al., 2006).

Portanto, a FBN é o processo pelo qual a maior parte do nitrogênio atmosférico é incorporada à matéria viva, este processo constitui a principal via de incorporação de nitrogênio ao ecossistema, que constantemente é reciclado para a atmosfera principalmente pela ação de organismos decompositores de matéria orgânica do solo. Dessa forma, a ação dos organismos fixadores de nitrogênio e desnitrificadores garante um reservatório inesgotável de nitrogênio da atmosfera. Além de garantir um ecossistema em equilíbrio, a redução na aplicação de compostos nitrogenados com doses elevadas, pode contaminar a água e os vegetais consumidos pelo homem, possibilitando o desenvolvimento de uma agricultura menos agressiva ao ambiente. Estima-se que a contribuição de nitrogênio fixado biologicamente seja de 139 a 170 milhões de toneladas de $N \text{ ano}^{-1}$, enquanto que a fixação química contribui com apenas 49 milhões de toneladas de $N \text{ ano}^{-1}$, menos da metade da fixação biológica (PEOPLES; CRASWELL, 1992), de modo que a substituição de fertilizantes minerais pela inoculação com bactérias que fazem FBN do gênero *Bradyrhizobium sp.*, nos campos de soja, representou uma economia de cerca de US\$ 3,3 bilhões para agricultura brasileira em 2006 (MOREIRA, 2008), principalmente em solos tropicais onde as perdas são mais elevadas.

Em plantas não leguminosas a fixação biológica do N ocorre pelas bactérias diazotróficas em raízes, colmos e folhas de cereais como o milho, trigo, arroz, gramíneas forrageiras e cana-de-açúcar, entre outras. As primeiras observações feitas foram através de Beijerinck em 1925 sob o nome de *Spirillum lipoferum*. Assim como está comprovado o benefício da FBN em leguminosas, espera-se encontrar provas destes mesmos benefícios para plantas não leguminosas na mesma intensidade (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

Dobereiner (1961) sugeriu que as altas produtividades alcançadas, com baixo uso de fertilizantes nitrogenados poderiam ser explicadas por contribuições da associação das plantas com organismos que fazem FBN. Posteriormente muitas espécies destes organismos foram isolados da rizosfera de cana-de-açúcar e detectados dentro de tecidos vegetais (JAMES, 2000; PERIN et al., 2006; THAWEENUT et al., 2011; FISCHER et al., 2012; CASTRO-GONZALEZ et al., de 2012). Estudos de campo mostraram que as quantidades de N acumuladas na biomassa de cana eram muito superiores aos aplicados pela adubação nitrogenada, e que havia possível explicação para isso, seria a presença de bactérias que faziam FBN (LIMA; BODDEY; DOBEREINER, 1987; URQUIAGA; CRUZ; BODDEY, 1992; BASANTA et al., 2003; FRANCO et al., 2011; URQUIAGA et al., 2012). No entanto, apesar destes resultados positivos no Brasil, estudos realizados em outros países, como Austrália (BIGGS et al., 2002) e África do Sul (HOEFSLOOT et al., 2005) com o balanço de N, não encontraram nenhuma evidência para contribuições de FBN nas variedades de cana testadas sob suas condições.

Dobereiner e Duque (1980) demonstraram em suas pesquisas que em solos fertilizados com baixo ou nenhuma aplicação de N, as contribuições de FBN observadas poderiam fornecer de 30% a 70% a necessidade de N da cana-de-açúcar e 50% em outros cereais. James e Olivares (1997) encontraram bactérias fixadoras de N nos tecidos internos, vasos condutores, e espaços intercelulares das gramíneas estimulando os estudos com estes microrganismos em associação com gramíneas (URQUIAGA; CRUZ; BODDEY, 1992; OLIVEIRA et al., 2002).

A inoculação de *Azospirillum* spp. no solo pode aumentar significativamente a produção de cana-planta e cana-soca em aproximadamente 5 e 9 toneladas ha⁻¹ respectivamente, segundo (SHANKARIAH; HUNSIGI, 2001). Enquanto em casa de vegetação Muthukumarasamy et al. (1999) observaram aumento significativo no conteúdo de N nas folhas de cana. Oliveira et al. (2002, 2006) avaliaram as variedades SP701143 e SP813250, sob o efeito da inoculação de misturas bacterianas, verificaram que houve efeito da inoculação sobre a fixação biológica de nitrogênio, com incremento de 30% do nitrogênio acumulado quando inoculadas com a mistura de cinco bactérias diferentes, sugerindo que a combinação das espécies no inoculante é uma das estratégias para aumentar a produção da cultura, que tem demonstrado ser dependente do processo. Uma das variedades que melhor respondeu ao processo de FBN é a RB72454, que consegue bom desenvolvimento em condições de baixa fertilidade do solo (XAVIER, 2006).

Demais experimentos estimaram que as variedades de cana-de-açúcar, possuem resposta bem diferente a contribuição da FBN, questionando quais bactérias são mais importantes na associação à fixação biológica do nitrogênio para a cana-de-açúcar. Embora *Gluconacetobacter diazotrophicus* tenha sido sugerida como forte candidata responsável pela FBN, ao analisar três estirpes de *Gluconacetobacter diazotrophicus* em cinco cultivares de cana micropropagada sob diferentes níveis de adubação e estágios de crescimento das plantas, Munõz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), demonstraram que a população bacteriana caiu drasticamente em relação à idade da planta, ao nível de adubação nitrogenada, a estirpe inoculada e a variedade testada, sendo que a estirpe denominada BR11281 persistiu por um período maior e em altos números do que a estirpe PAL 3 dentro das plantas de todas as variedades testadas. Também observaram que a *G. diazotrophicus* obteve melhor resposta quando ambas, estirpe e variedade foram combinadas, estirpe BR11281 e a variedade MEX 57473.

Embora o efeito positivo do crescimento da cana aparentemente ocorreu por mecanismos outros do que a FBN, os resultados mostram a importância da variedade para a persistência da interação planta-bactéria e poderia explicar as diferentes taxas da FBN estimada entre as cultivares de cana. Li e Macrae (1992) encontraram altas populações de *Gluconacetobacter diazotrophicus* em campos comerciais de cana, enquanto outros trabalhos mostraram que elevada fertilização nitrogenada reduziu a população de bactérias fixadoras de nitrogênio (FUENTES-RAMIREZ et al., 1993; PERIN; BALDANI; REIS, 2004; MEDEIROS; POLIDORO, 2006). Outros estudos apontaram para a importância das condições ambientais favoráveis (disponibilidade de água, solo e clima) para os melhores efeitos da FBN (POLIDORO et al., 2001; BODDEY et al., 2003). Ao inocular *Herbaspirillum* em condições controladas junto com substâncias húmicas em mini-toletes da variedade RB72454 de cana-de-açúcar tratados termicamente, encontraram efeito da inoculação, combinada ou não com substâncias húmicas, sobre o aumento populacional da bactéria inoculada, assim como na promoção do crescimento radicular induzido por ambos, sugerindo novos modelos de utilização das bactérias diazotróficas em plantas (MARQUES et al., 2008).

2.4 Bactérias Diazotróficas

As primeiras bactérias diazotróficas a serem reconhecidas, foram as de vida livre, capazes de sobreviver no solo e também colonizarem plantas desde que o ambiente seja favorável à proliferação celular. É o caso da *Beijerinckia fluminensis* e *Beijerinckia indica*, com

alto potencial em se associar com gramíneas, foram isoladas da rizosfera de plantas de cana-de-açúcar crescidas em solos tropicais (DÖBEREINER; RUSCHEL, 1958; DÖBEREINER, 1959). Estas bactérias colonizam preferencialmente áreas da planta próximas a rizosfera, em que os exudados principalmente açúcares, estão envolvidos nesta associação (DÖBEREINER, ALVAHYDO, 1959).

A cana-de-açúcar é capaz de se associar com uma grande diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) endofíticas. A descoberta destas bactérias colonizando plantas de cana-de-açúcar em populações elevadas como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (REIS; OLIVARES; DOBEREINER, 1994), *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* (OLIVARES et al., 1996) espécies do gênero *Azospirillum* e novas espécies do gênero *Burkholderia* (REIS et al., 2004; PERIN et al., 2006) apresentando diferentes características ecológicas e fisiológicas, colonizando raízes, colmos e folhas, mostra a grande diversidade e dificuldade de entendimento da associação que existem entre a planta (variedade), bactérias e o ambiente.

Nas últimas décadas, estudos com BFD têm-se intensificado graças às suas potencialidades como agente de promoção de crescimento e proteção de plantas. No Brasil, dentre outros, merecem destaque os estudos que envolvem interações endofíticas entre plantas da família Poaceae [cana-de-açúcar (*Saccharum hyb.*); arroz (*Oriza sativa*); milho (*Zea mays*); sorgo (*Sorghum bicolor*); capim-elefante (*Pennisetum purpureum*)] e bactérias fixadoras de N do gênero *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum* e *Burkholderia* (DÖBEREINER, 1992a,b). Além de fixar nitrogênio, estas bactérias produzem hormônios de crescimento como auxina e giberelina segundo Fuentes-Ramirez et al. (1993) e Madhaiyan et al. (2006). A população nativa ou inoculada de *G. diazotrophicus* presente em plantas de cana-de-açúcar, diminui drasticamente com o avançar da idade da planta (Perin, 2003) e foi relatado também que a aplicação de nitrogênio afetou severamente *G. diazotrophicus*, provocando redução do número populacional em variedades de cana-de-açúcar cultivadas na Índia (Muthukumarasamy, 1999).

Foram estudadas sete espécies de *Azospirillum* que crescem na rizosfera de gramíneas (KENNEDY; TCHAN, 1992), estas bactérias diazotróficas são capazes de penetrar nas raízes e crescer endofiticamente nos espaços intercelulares (SUMNER, 1990). *A. brasilense* e *A. lipoferum* são encontradas frequentemente colonizando a maioria das plantas de regiões tropicais e temperadas. As espécies *A. brasilense*, *A. lipoferum* e *A. amazonense* têm sido isoladas em milho, arroz, cana-de-açúcar, sorgo, palmeiras e fruteiras (REIS, 2006). Em cana-

de-açúcar, a *A. brasilense* e o *A. lipoferum* são encontradas em raízes, colmos e folhas enquanto *A. amazonense* é encontrada em raízes e colmos (REIS et al., 2000).

Estudos com *Herbaspirillum* demonstraram que cerca de onze espécies deste gênero se comportam como diazotróficas endofíticas. Entretanto a primeira espécie descrita foi *Herbaspirillum seropedicae* (BALDANI et al., 1986) isolada da rizosfera, rizoplane de raízes, folhas e colmos de cana-de-açúcar cultivada no Brasil e na Austrália (BODDEY et al., 1998), também foram encontradas em raízes de arroz, milho, sorgo no Brasil (BALDANI, 1996). Em capim elefante (REIS et al., 2000), arroz inundado (RODRIGUES, 2003; BRASIL, 2005). *Herbaspirillum rubrisubalbicans* tem sido encontrada em associação com cana-de-açúcar e raízes de *Digitaria insularis* crescida no interior dos canaviais (GILLIS et al., 1991; BALDANI et al., 1996; OLIVARES et al., 1996). Em frutíferas como abacaxizeiros e bananeiras (CRUZ et al., 2001). *Herbaspirillum frisingense* foi isolada de amostras de tecido de raízes e colmos de diversos genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) coletados no Brasil, e das gramíneas *Spartina pectinata*, *Miscanthus sinensis* e *M. sacchariflorus*, coletadas na Alemanha (KIRCHHOF et al., 2001), *Herbaspirillum lusitanum* foi isolada de nódulos de raízes de feijão coletados em Portugal (VALVERDE et al., 2003).

Bactérias diazotróficas endofíticas do gênero *Gluconacetobacter* foram isoladas de raízes, colmos e folhas de cana-de-açúcar cultivada no Brasil (CAVALCANTE; DÖBEREINER, 1988), *Pennisetum purpureum* (PAULA; REIS; DOBEREINER, 1991) e também de variedades de cana-de-açúcar de países como Austrália (LI, MACRAE, 1991), Cuba (FUENTES-RAMIREZ et al., 1993), Argentina (DONG et al., 1994), e México (BELLONE et al., 1997). Esta bactéria ocorre em números elevados no interior do colmo da cana-de-açúcar, possibilita a fixação de nitrogênio, mesmo na presença de nitrato absorvido do solo, já que não possui a redutase do nitrato. Foi encontrada em raízes, colmos, palhço, solo da rizosfera e seiva do xilema de cana-de-açúcar, é a bactéria diazotrófica mais estudada para esta cultura (REIS, 1991; PERIN, 2003).

Bactérias diazotróficas endofíticas do gênero *Burkholderia*, são encontradas em associação com plantas da família das leguminosas, participando na formação de nódulos. Entretanto existem diferenças entre as bactérias que nodulam plantas leguminosas, daquelas que se associam às gramíneas (VANDAMME et al., 2002).

De amostras de cana-de-açúcar brasileiras e australianas foram obtidos vários isolados das espécies *B. tropica*, *B. kururiensis* e *B. caribensis* (BODDEY, 2002), *B. unamae* foi isolada de cana-de-açúcar, café e milho de diferentes localidades do México (CABALLERO-MELLADO et al., 2004), *B. tropica* isolada de plantas de cana-de-açúcar no Brasil e África

do Sul, solo nos EUA e milho (REIS et al., 2004) e *B. silvatlantica* sp., isolada de folhas de cana-de-açúcar e rizosfera de milho no Brasil (PERIN et al., 2006).

As bactérias diazotróficas endofíticas apresentam afinidade pelo interior dos tecidos vegetais, o que lhes confere proteção contra altas taxas de oxigênio, inibindo a atividade da enzima nitrogenase, fornecendo fontes de carbono mais prontamente disponível em relação à competição existente no solo (OLIVARES et al., 1996). A descoberta destes microrganismos, colonizando em elevado número de raízes, colmos e folhas de cana-de-açúcar e outras gramíneas, mudaram por completo o conceito de associações rizosféricas. Esta descoberta permitiu explicar o grande potencial da contribuição dos diazotrofos para o suprimento de nitrogênio a cultura de cana-de-açúcar, desde que os demais nutrientes e água não sejam fatores limitantes (FRANCO; DÖBEREINER, 1994) especialmente molibdênio, que é cofator da enzima nitrogenase responsável pela fixação biológica do nitrogênio, sendo, portanto componente chave (BODDEY et al., 2001).

No Brasil, a produção de inoculante iniciou-se na década de 50 (Freire, 1968), sendo a turfa o veículo mais utilizado pela indústria para viabilizar a inoculação das bactérias ao solo. A turfa é frequentemente importada, já que o país não possui turfa de boa qualidade (BUCHER; REIS, 2008). Recentemente a inoculação de plantas de cana-de-açúcar com estirpes selecionadas de bactérias diazotróficas foi lançada pela Embrapa em 2008. O inoculante é constituído por uma mistura de cinco espécies de bactérias nativas, todas isoladas da própria cultura, e com potencial de possibilitar redução de doses de nitrogênio fertilizante normalmente aplicado no campo.

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

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

Prado Jr. (2008) inoculando duas variedades de cana-de-açúcar com a espécie *G. diazotrophicus* (estirpe BR11281) em condições de campo, encontrou resultados positivos

principalmente para a variedade RB72454 inoculada com uma concentração ao redor de 10^7 células mL^{-1} . Neste caso a aplicação foi feita por pulverização no momento do corte no sulco de plantio e este modo de aplicar a bactéria favoreceu o crescimento da planta.

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

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização da área experimental

O experimento foi realizado na fazenda Boa Vista, em área comercial da Usina Baldin no município de Pirassununga-SP, (com latitude de 21° 59' S e longitude de 47° 26' W, 634 m de altitude), sendo a classificação Internacional de Koppen, como do tipo Cwa, denominado “tropical de altitude” (OLIVEIRA; PRADO, 1984), o solo é classificado como um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico (EMBRAPA, 1999) de textura media arenosa, cultivado com a variedade de cana-de-açúcar RB-867515, em uma soqueira de terceiro ano manejada sem queima (Figura 1).

Figura 1. Área de soqueira de 3º corte da variedade RB 867515.

Antes da implantação do experimento foram coletadas amostras de solo nas camadas de 0-20 e 20-40 cm para a determinação de características químicas e físicas do perfil, as quais estão apresentadas nas Tabela 2 e 3. A análise granulométrica (Tabela 4.), foi realizada de acordo com a metodologia descrita em Gee e Bauder (1986). O experimento foi instalado em uma soca de cana de 3º corte que foi conduzido no período de 02/11/2011 a 20/07/2012.

As análises químicas e físicas do solo, químicas de folhas foram realizadas no laboratório de solo das Agrárias do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP.

Tabela 2. Atributos químicos do solo, antes da instalação do experimento nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para macronutrientes.

Prof.	pH	MO	P	S	K	Ca	Mg	H+Al	CTC	SB	V	m
Resina												
cm	CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³						mmolc/dm ³			
0-20	5,5	20	11	15	1,2	26	13	27	67	40	60	0
20-40	5,4	18	8	20	1,0	25	13	28	67	39	58	0

Prof. – Profundidade em cm.

pH- CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (Raij et al., 1987).

M.O. – Matéria orgânica, método colorimétrico (Raij et al., 1987).

P – Extração por resina trocadora de íons e determinação por calorimetria (Raij et al. 1987).

S = Ca (H₂PO₄)₂.H₂O – Método de Turbidimetria (MALAVOLTA et al., 1989).

K – Extração por resina trocadora de íons e determinação por fotometria de chama (Raij et al., 1987).

Ca e Mg – Extração por resina trocadora de íons e determinação por espectrometria de absorção atômica (Raij et al., 1987).

H+Al – Determinação potenciométrica em solução tampão SMP (Raij et al., 1987).

Al – KCl 1 N: Determinação por titulação

Tabela 3. Atributos químicas do solo antes da instalação do experimento nas camadas de 0-20 e 20-40 cm, para micronutrientes.

Prof.	B	Cu	Fe	Mn	Zn
cm	mg / dm ³				
0-20	0,42	4,6	10	19,7	0,6
20-40	0,45	4,2	10	22,2	0,8

Prof. – Profundidade em cm.

B = BaCl₂.2H₂O H₂O quente 10 ml TFSA (Raij et al., 1987).

Cu, Fe, Mn, Zn – DTPA-TEA pH 7,3 (Raij et al., 1987).

Tabela 4. Atributos físicos do solo da área experimental/Análise granulométrica.

Prof. (cm)	Areia total	Silte	Argila total	Classe de textura
	%			
0-20	70,5	5,9	23,6	Média Arenosa
20-40	69,3	5,9	24,8	Média Arenosa

Prof. – Profundidade em cm.

Também foi realizada durante a realização do experimento a quantificação das temperaturas médias e das precipitações pluviárias semanais distribuídas de modo que proporcionou pequenos déficits hídricos em determinados períodos de crescimento da cultura, como podem ser vistos na Figura 02. Estes procedimentos foram adotados como medidas de resposta em relação à inoculação das bactérias na soqueira da cana.

O canavial foi colhido com colheita mecanizada sem uso de fogo no dia 02/11/2011, a análise de solo foi feita no dia 08/11/2011, e os dados para o balanço hídrico foram coletados antes do início do experimento até o final do mesmo que foi do dia 01/10/2011 a 20/07/2012.

Figura 2. Balanço hídrico e temperatura média durante a condução do experimento no município de Pirassununga - SP.

Legenda: ↓ 02/11/2011 – Colheita do canavial; ↓ 05/12/2011 – Aplicação do inoculante com disco de corte injetado no solo; ↓ 20/12/2012 – aplicação do Ajifer ; ↓ 03/02/2012 – Aplicação do inoculante via foliar; ↓ 10 a 18/07/2012 – Colheita do canavial; Fonte: CIIAGRO e Estação Agrometeorológica da Prefeitura do Campus de Pirassununga FZEA/USP.

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com os tratamentos dispostos em esquema de fatorial 3X4 (três formas de aplicação do inoculante, contendo coquetel de bactérias diazotróficas e quatro dosagens de N-fertilizante), com quatro repetições, o que resultou em 48 parcelas experimentais. Desta maneira totalizando 12 tratamentos dispostos conforme Quadros 1 e 2. No Quadro 3 pode-se observar o sorteio com a distribuição dos tratamentos em blocos.

Quadro 1. Tratamentos do experimento.

Tratamentos	Inoculante	Dose de N kg ha ⁻¹	Forma de aplicação
1	Sem inoculante	0	Sem aplicação
2	Com inoculante	0	Foliar
3	Com inoculante	0	No solo com disco de corte
4	Sem inoculante	60	Sem aplicação
5	Com inoculante	60	Foliar
6	Com inoculante	60	No solo com disco de corte
7	Sem inoculante	90	Sem aplicação
8	Com inoculante	90	Foliar
9	Com inoculante	90	No solo com disco de corte
10	Sem inoculante	120	Sem aplicação
11	Com inoculante	120	Foliar
12	Com inoculante	120	No solo com disco de corte

Quadro 2. Forma de obtenção dos tratamentos.

Forma do inoculante	Dose de Nitrogênio em Kg/ha			
	0	60	90	120
Controle	T1	T4	T7	T10
Inoculante foliar	T2	T5	T8	T11
Inoculante no disco de corte	T3	T6	T9	T12

Quadro 3. Disposição dos tratamentos no campo, após sorteio dentro de cada bloco.

Bloco 01	Bloco 02	Bloco 03	Bloco 04
T12	T7	T8	T2
T9	T4	T1	T9
T4	T6	T2	T8
T3	T2	T10	T12
T11	T11	T5	T4
T6	T8	T3	T10
T1	T5	T4	T5
T2	T11	T7	T7
T8	T3	T9	T1
T10	T12	T12	T6
T7	T9	T6	T3
T5	T10	T11	T11

Por apresentar boa relação custo/benefício para as usinas de açúcar e álcool da região, o uso desse resíduo como fonte de nutrientes (Quadro 4) na cultura da cana-de-açúcar tem sido intensificado. Fonte Costa, Vitti e Cantarella (2003).

Na Figura 3 observa-se as parcelas experimentais com as estacas de identificação dos tratamentos e a aplicação mecanizada do inoculante com disco de corte injetando o produto no solo.

Figura 3. Identificação da parcela experimental (A); Aplicação do coquetel de bactérias injetado no solo (B).

Quadro 4. Caracterização química do Ajifer.

Determinação	Resultado
Índice pH	3,20
Densidade	1,31 g mL ⁻¹
Matéria orgânica total	315,35 g L ⁻¹
Carbono total	131,10 g L ⁻¹
Nitrogênio (N)	7,52 g L ⁻¹
Fósforo (P ₂ O ₅)	2,48 g L ⁻¹
Potássio (K ₂ O)	0,61 g L ⁻¹
Cálcio (Ca)	0,33 g L ⁻¹
Magnésio (Mg)	0,69 g L ⁻¹
Enxofre (S)	47,27 g L ⁻¹
Cobre (Cu)	2,0 mg kg ⁻¹
Manganês (Mn)	19,0 mg kg ⁻¹
Zinco (Zn)	3,00 mg kg ⁻¹
Ferro (Fe)	122,0 mg kg ⁻¹

Legenda: Análises realizadas no Laboratório de Adubos e Resíduos da ESALQ/USP. pH – Cloreto de cálcio; Matéria orgânica total – combustão; Nitrogênio amídico e amoniacal – Kjeldahl; Fósforo total – Colorimetria; Potássio - Fotometria de chama; Cálcio e Magnésio - Absorção atômica; Enxofre – Gravimetria; Cobre, Manganês, Zinco e Ferro - Absorção atômica.

3.3 Instalação e condução do experimento

Foi utilizado um coquetel de cinco estirpes: BR11335 (*Herbaspirillum seropedicae*), BR11504T (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), BR11281T (*Gluconacetobacter diazotrophicus*), BR11366T (*Burkholderia tropica*) e BR11145 (*Azospirillum amazonense*). Todas as bactérias do inoculante foram cultivadas em meio líquido seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2002).

A dose de 0,1 l/ha é correspondente a cada uma das bactérias, resultando no volume total de 0,5 l/ ha (mistura das 5 espécies), que foram misturadas a 100 litros de água limpa, obtendo-se uma solução para aplicação injetada. O inoculante deve ser mantido em local fresco, longe do sol e de temperaturas superiores a 30°C (Figura 4).

Figura 4. Amostra das 5 estirpes de bactérias diazotróficas que formaram o coquetel que será aplicado incorporado ao solo via disco de corte (A,B,C,D,E). Preparação do coquetel com as estirpes de bactérias diazotróficas em 100 litros de calda (F).

As formulações individuais das bactérias devem ser misturadas em quantidades iguais e homogeneizadas antes de serem colocadas no tanque do pulverizador, não devem ser misturados defensivos ou fertilizantes na mesma solução de aplicação de bactérias, e o pH da calda deve ser corrigido para o valor entre 4,5 e 5,0 (Figura 4).

O inoculante foi aplicado em duas épocas diferentes, para os tratamentos com aplicação injetada na linha da soqueira, sendo realizados 33 dias após a colheita aplicado no

dia 05/12/2011, já para a aplicação do inoculante via foliar, foi realizada 60 dias após a aplicação do inoculante injetada na linha, no dia 03/02/2012.

O inoculante via foliar foi aplicado com pulverizador de pesquisa costal com vazão constante, na dosagem recomendada, com volume de solução de 100 L ha^{-1} adaptado para a parcela de 75 m^2 , aplicado no final da tarde, para evitar temperaturas elevadas que possam prejudicar a inoculação das bactérias conforme mostrado na figura 5.

Figura 5. Aplicação do inoculante via foliar, com pulverizador de pesquisa costal (A e B).

O N-fertilizante foi aplicado via pulverização 50 dias após o início das brotações utilizando-se a fonte Ajifer com 7,5% de N (Figura 6). A aplicação do Ajifer foi realizada no dia 20/12/2011.

Cada parcela experimental constitui-se de 5 linhas de cana-de-açúcar de 1,50 metros de espaçamento e 10 metros de comprimento, totalizando área de 75 m^2 . As avaliações foram realizadas nas três linhas centrais desconsiderando-se como área útil, uma linha em cada lateral da parcela, e 1,0 m em cada extremidade que foi considerada como bordadura, totalizando assim área útil de 36 m^2 , ou 24 m lineares de cana.

A colheita das parcelas foi realizada entre os dias 10 a 18/07/2012 (Figura 7), cada parcela foi colhida manualmente.

Figura 6. Aplicação de N-fertilizante nas linhas da soqueira de cana-de-açúcar, (A) dosagem de 30 kg de N ha⁻¹, (B) dosagem de 90 kg de N ha⁻¹, (C, D) dosagem de 120 kg de N ha⁻¹.

Figura 7. Colheita das parcelas experimentais.

3.4 Avaliação do material vegetal

Nos estádios de máximo desenvolvimento, deve-se coletar a folha padrão para diagnóstico dos teores de N. Para a cana, a folha diagnóstica é a primeira folha da haste ou barbeta da bainha conhecida como folha TVD (Top Visible Dewlap), ou folha +1 (Kuijper), a folha TVD é a terceira folha a partir do cartucho (DILLEWIJN, 1952).

O procedimento de coleta deve seguir os seguintes passos: coletar, aproximadamente, 10 folhas ao acaso dentro de cada parcela experimental; dividir a folha em três partes, cortando a parte central em aproximadamente 30 centímetros; retirar a nervura central, destacando-a manualmente; identificar a amostra; no laboratório, as amostras serão lavadas com água deionizada para retirar as partículas do solo e de poeira e serão secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até massa constante, moídas e enviadas para análise.

3.5 Método analítico

Posteriormente, esse material seco foi moído para a determinação dos teores de macro e micronutrientes na parte aérea, folha diagnóstica.

As determinações químicas dos nutrientes nos tecidos vegetais foram analisadas no Laboratório de Ciências Agrárias na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga/SP, segundo métodos descritos por Bataglia et al. (1983).

As amostras foram digeridas por via úmida com ácido sulfúrico para a determinação de nitrogênio e com ácido nítrico e perclórico para determinação de fósforo, potássio, enxofre, magnésio, cálcio, ferro, cobre, manganês e zinco. (RAIJ et al., 1996; MALAVOLTA et al., 1989).

3.6 Determinação da produtividade e qualidade tecnológica

Para os parâmetros quantitativos, foram coletadas dentro de cada parcela experimental, 24 m (3 linhas de 8m lineares) de cana-de-açúcar, na qual foram cortadas e pesadas para obter os parâmetros de stand e produção de colmos respectivamente.

Para os parâmetros qualitativos, a amostragem para análise tecnológica constou de 10 toletes de cana contíguas da linha central de cada parcela experimental, conforme descrito por

Espironello et al. (1987). As amostras foram enviadas e analisadas no laboratório da usina Baldin, determinando-se:

- Pol (%) via refratometria a 20 °C e dosado pelo método de Schimitz sem diluição (Schneider, 1979);
- Fibra (%) cana, segundo ATO nº 32/89 – IAA (1989);
- Açúcares Totais Recuperáveis (ATR), segundo CONSECANA (1999).

3.7 Forma de análise dos resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente através da análise de variância e, nos casos em que o teste F foi significativo, foi realizada análise de regressão polinomial simples ou múltipla, para os efeitos de dose, uma vez que estas variáveis são quantitativas. Foi realizada correlação entre doses de nitrogênio e método de aplicação do inoculante.

Os resultados encontrados foram avaliados utilizando PROC MEANS do programa *Statistical Analysis System* versão 9.2 (SAS, 2010), sendo aplicado teste F da análise de variância (ANOVA), utilizando-se o Teste de Tukey como Procedimento para Comparações Múltiplas (PPMC), com $P < 0,10$.

Avaliou-se número de colmos por metro linear (Stand), produtividade, análise tecnológica (ATR, Pol e Fibra), teores minerais dos macronutrientes primários e secundários e teores minerais dos micronutrientes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a execução do teste F com $p < 0,10$ para todas as variáveis testadas, constatou-se resposta positiva para produção de cana-de-açúcar em função do aumento da dose de nitrogênio, assim como para o uso do inoculante, mas não houve interação entre as duas variáveis, sendo assim, realizou-se o teste de Tukey para indicar o melhor tratamento quanto a forma de aplicação do inoculante, e utilizou-se uma regressão múltipla para indicar o comportamento da variável nitrogênio quanto a sua dosagem. Por não ter havido interação entre os dois fatores testados, as inferências serão feitas utilizando os resultados por agrupamentos de tratamentos.

4.1 Parâmetros quantitativos

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias obtidas dos dados experimentais para a produtividade e o número de colmos por metro linear da cultura de cana-de-açúcar, em resposta a aplicação do inoculante contendo as bactérias diazotróficas e das doses de nitrogênio. Por não ter havido interação entre os dois fatores testados, as inferências serão feitas utilizando os resultados da Tabela 6.

Tabela 5. Produtividade e Stand.

Tratamentos	Variáveis respostas	
	Produtividade (t ha ⁻¹)	Stand (colmos m ⁻¹)
T1	79,24	9,00
T2	81,84	9,32
T3	82,64	9,35
T4	83,15	9,50
T5	85,91	9,63
T6	86,93	9,88
T7	85,42	9,77
T8	87,50	9,90
T9	89,13	9,90
T10	85,59	9,98
T11	87,52	9,83
T12	88,57	10,11

Legenda: T1) Controle, T2) Inoculante com pulverização foliar com jato dirigido sobre a linha de cana-de-açúcar (aplicação foliar), T3) Inoculante com pulverização na linha de cana após o corte com disco de aplicação de inseticida (aplicação injetada), T4) 60 kg de N ha⁻¹, T5) Inoculante aplicação foliar + 60 kg de N ha⁻¹, T6) Inoculante aplicação injetada + 60 kg de N ha⁻¹, T7) 90 kg de N ha⁻¹, T8) Inoculante aplicação foliar + 90 kg de N ha⁻¹, T9) Inoculante aplicação injetada + 90 kg de N ha⁻¹, T10) 120 kg de N ha⁻¹, T11) Inoculante aplicação foliar + 120 kg de N ha⁻¹ e T12) Inoculante aplicação injetada + 120 kg de N ha⁻¹. Produtividade: produção estimada em toneladas de colmos por ha. Stand: quantidade de plantas por metro linear da cultura.

Os resultados obtidos após análise estatística, presentes na Tabela 6, indicam que em relação à produtividade e stand, os tratamentos que continham o inoculante enterrado com disco de corte (T3, T6, T9 e T12), tiveram os melhores resultados com média de 86,8 t ha⁻¹ e 9,81 plantas/m respectivamente, sendo estatisticamente diferente quando comparado aos tratamentos sem o uso do inoculante (T1, T4, T7 e T10) com média de 83,3 t ha⁻¹ e 9,56 plantas/m respectivamente, mas não diferiu estatisticamente dos tratamentos com uso do

inoculante foliar (T2, T5, T8 e T11) com média de 85,6 t ha⁻¹ e 9,67 plantas/m respectivamente.

Tabela 6. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos das variáveis respostas em relação à forma de aplicação do inoculante quanto aos valores quantitativos.

Variáveis	Resultados da Anova						
Respostas	Bloco	Forma (F)	Dose (D)	Interação F x D	Contraste I	Contraste II	
Produtividade	0.3771	0.0452	0.0012	1.0000	0.0188	0.4073	
Stand	0.0335	0.0669	<.0001	0.7209	0.0543	0.1780	
Tratamentos							
Variáveis	Sem	Inoculação	Inoculação	Média	Valor F	CV	DMS
Respostas	Inoculação	Foliar	enterrada		(%)	(%)	
Produtividade ¹	83,3 b	85,6 ab	86,8 a	85,28	0,045 ^{**}	4,5	3,325
Stand ²	9,5 b	9,6 ab	9,8 a	9,68	0,067 [#]	3,0	0,221
Contrastes							
Variáveis	Sem Inoculante			Inoculante (Foliar + Enterrado)			
Respostas							
Produtividade ¹	83,3b			86,2a			
Stand ²	9,5b			9,7a			

Legenda 1: Contraste I: sem inoculante vs inoculante (foliar + enterrado); Contraste II: inoculante foliar vs inoculante enterrado; ¹: t ha⁻¹; ²: colmos m⁻¹.

Legenda 2: Produtividade: produção estimada em toneladas de colmos por hectare. Stand: quantidade de plantas por metro linear. Médias contidas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F. # e ** nível de significância de 10 e 5% respectivamente de probabilidade. ns: não significativo.

Em contrapartida, o uso de inoculante foliar não se diferiu estatisticamente dos tratamentos sem o uso de inoculante. Isso pode ser explicado devido ao déficit de chuvas durante e após a aplicação do inoculante foliar, com os maiores picos de temperatura, durante o ciclo da cultura acima de 25°C, que podem ter prejudicado a colonização das bactérias diazotróficas. Desta forma, podemos concluir que o uso de inoculante obteve melhores respostas para a produtividade e stand para a cana-de-açúcar.

As produtividades alcançadas foram consideradas boas em relação à idade de corte que foi de apenas 10 meses, seguindo cronogramas de corte da usina, alcançando

produtividades médias superiores a 80 t ha^{-1} , dados também encontrados por Nunes Junior et al. (2005). Isto também pode ser explicado pelo balanço hídrico, que durante o experimento, obteve boas médias de pluviosidade durante todo o ano com precipitação acima de 1300 mm e temperatura média anual de 22°C , com poucos déficits ao longo do ano.

Agrupando-se os tratamentos com inoculante e comparando-os com o controle, observou-se que houve diferença significativa, de forma a indicar resposta para a produção e aumento de stand para a cana-de-açúcar em função do uso do inoculante conforme Tabela 7.

Estes resultados estão de acordo com Oliveira, Trivelin e Oliveira (2003) que estudando a inoculação de bactérias diazotróficas em duas variedades de cana-de-açúcar, RB867515 e RB72454 observaram aumento na produtividade devido a FBN. Coelho et al. (2003), também com aplicação enterrada do inoculante encontrou resposta à FBN, e ressaltou que esta resposta depende muito das variedades de cana-de-açúcar utilizada.

Estes resultados são semelhantes aos publicados por Urquiaga et al. (2012), que encontraram respostas a FBN em cana-de-açúcar, com acúmulo de mais de $100 \text{ kg de N ha}^{-1}$ sem adubação nitrogenada.

Como houve resposta significativa para o fator níveis de nitrogênio, analisou-se a regressão polinomial, na qual se observou que as respostas das doses de nitrogênio se comportaram de acordo com um modelo de dispersão linear, até a dose de $120 \text{ kg de N ha}^{-1}$ conforme Figura 8, assim quanto maior a dose de nitrogênio, maior são os valores de produtividade e o stand de cana-de-açúcar, como foi demonstrado na Tabela 5.

Figura 8. Curvas da regressão dos parâmetros quantitativos, equação da curva e R^2 .

Utilizando fonte de nitrogênio similar a este experimento, Costa, Vitti e Cantarella (2003) encontraram as melhores respostas para produção de colmo em cana-de-açúcar com o uso da fonte Ajifer.

As doses de nitrogênio utilizadas neste experimento vão de encontro com as doses que Raji et al. (1996), recomenda para o Estado de São Paulo para cana-soca, com valores de 60 a 120 kg ha⁻¹. Orlando Filho et al. (1999), em muitos experimentos de campo encontraram respostas lineares para adubação nitrogenada com doses de até 120 kg ha⁻¹.

Cantarella et al. (2007) encontraram as maiores produtividades para cana soca com as maiores doses de adubação nitrogenada, o mesmo ocorrendo com Vitti (2003), que obteve resposta linear na produtividade de colmo a adubação nitrogenada, assim como neste experimento, com doses de ate 175 kg ha⁻¹ com média de produção de 80 t ha⁻¹ de colmos, porem o estudo foi conduzido em solo arenoso, que requer doses mais elevadas de fertilizantes. As doses utilizadas atualmente, provavelmente subestimem o potencial de resposta econômica ao nitrogênio com matérias genéticos mais produtivos, com alta tecnologia e alta relação C:N proveniente dos restos culturais, principalmente da palha da cana.

4.2 Parâmetros qualitativos

Na Tabela 7 estão apresentadas as médias obtidas dos dados experimentais para os parâmetros qualitativos (ATR, Pol e fibra) da cultura de cana-de-açúcar, em resposta a aplicação do inoculante contendo as bactérias diazotróficas e das doses de nitrogênio.

Tabela 7. Parâmetros qualitativos ATR, Fibra e Pol.

Tratamentos	Variáveis respostas		
	ATR (Kg t ⁻¹ cana)	Fibra (%)	POL (%)
T1	118,8	9,82	13,14
T2	119,6	9,75	13,2
T3	120,5	9,87	13,24
T4	121	9,72	13,37
T5	121,2	9,69	13,39
T6	122,2	9,84	13,41
T7	121,7	9,97	13,41
T8	122	9,98	13,55
T9	121,8	10,22	13,58
T10	120,4	9,76	13,51
T11	122,3	10,07	13,77
T12	122,7	10,05	13,89

Legenda: T1) Controle, T2) Inoculante com pulverização foliar com jato dirigido sobre a linha de cana-de-açúcar (aplicação foliar), T3) Inoculante com pulverização na linha de cana após o corte com disco de aplicação de inseticida (aplicação injetada), T4) 60 kg de N ha⁻¹, T5) Inoculante aplicação foliar + 60 kg de N ha⁻¹, T6) Inoculante aplicação injetada + 60 kg de N ha⁻¹, T7) 90 kg de N ha⁻¹, T8) Inoculante aplicação foliar + 90 kg de N ha⁻¹, T9) Inoculante aplicação injetada + 90 kg de N ha⁻¹, T10) 120 kg de N ha⁻¹, T11) Inoculante aplicação foliar + 120 kg de N ha⁻¹ e T12) Inoculante aplicação injetada + 120 kg de N ha⁻¹. ATR: Açúcares Redutores Totais. Fibra: Porcentagem de fibra na cana, refletida na eficiência de extração da moenda. Pol: Teor em porcentagem de sacarose aparente na cana.

Ao analisar as médias da Tabela 8, após análise estatística, pode-se observar que, os dados de todos os parâmetros qualitativos, ATR, fibra e Pol não se diferenciaram estatisticamente, em relação a presença ou não do inoculante, ou seja, não teve nenhuma

influência dentro das variáveis. Desta forma podemos concluir que o inoculante não interferiu em nenhum dos parâmetros qualitativos na cana-de-açúcar avaliados.

Segundo Trivelin, Victoria e Rodrigues (1995), trabalhando em área comercial com a variedade SP701143 com cana de primeira soca, verificaram também que não houve resposta significativa para as análises qualitativas de Brix, A.R, fibra e pol em cana de 12 meses, mesmo encontrando resposta para FBN de 80 a 100 kg ha⁻¹.

A média geral de ATR, fibra e Pol do experimento foram de 121,18, 9,89 e 13,45 respectivamente, com coeficientes de variação de 4,67, 4,67 e 4,26% respectivamente.

Tabela 8. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos das variáveis respostas em relação a forma de aplicação do inoculante quanto aos valores qualitativos.

Variáveis	Resultados da Anova						
Respostas	Bloco	Forma (F)	Dose (D)	Interação F x D	Contraste I	Contraste II	
ATR	0.3440	0.6005	0.3901	0.9840	0.4585	0.4964	
Fibra	0.3440	0.6005	0.3901	0.9840	0.4585	0.4964	
Pol	0.3742	0.6506	0.1739	0.9986	0.3705	0.8304	
Tratamentos							
Variáveis	Sem	Inoculação	Inoculação	Média	Valor F	CV	DMS
Respostas	Inoculante	Foliar	enterrada		(%)	(%)	
ATR ¹	120,4	121,2	121,8	121,19	0,333 ^{ns}	2,07	2,172
Fibra (%)	9,8	9,8	9,9	9,89	0,600 ^{ns}	4,67	0,401
Pol (%)	13,3	13,4	13,5	13,45	0,651 ^{ns}	4,26	0,497

Legenda 1 : Contraste I: sem inoculante vs inoculante (foliar + enterrado); Contraste II: inoculante foliar vs inoculante enterrado; ¹: Kg t⁻¹ cana.

Legenda 2: ATR: Açúcares Redutores Totais. Fibra: Porcentagem de fibra na cana, refletida na eficiência de extração da moenda. Pol: Teor de sacarose aparente na cana. Médias contidas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F. # e ** nível de significância de 10 e 5% respectivamente de probabilidade. ns: não significativo.

Como podem ser observados na Tabela 8, os parâmetros qualitativos também não demonstraram resposta estatística para as doses de nitrogênio, desta maneira estes resultados vão de encontro com alguns da literatura como o de Vitti (2003) que observou aumento dos

teores com o aumento da dosagem de N, mas constatou que não houve variação significativa entre os tratamentos nos teores de fibra e Pol.

Já no trabalho de Vitti et al. (2007), ao analisarem os parâmetros qualitativos de cana-de-açúcar, encontraram para Pol ($t\ ha^{-1}$), que a diferença entre tratamentos foi decorrente apenas da variação significativa na produtividade de colmo por hectare, o que também aconteceu no presente estudo. Esses resultados confirmaram os obtidos por Azeredo et al. (1986), Orlando Filho et al. (1994), Korndörfer et al. (1997) e Trivelin et al. (2002), significando que a adubação nitrogenada não afetou a qualidade tecnológica dos colmos. Ao mesmo tempo, esses resultados contrariam os de Silveira e Crocomo (1990), que constataram decréscimo no teor de sacarose em plantas que se desenvolveram na presença de alta concentração de N.

Um dos motivos da ausência desse efeito neste trabalho pode ser explicado, pelas baixas reservas e a mineralização de N no solo (VITTI, 2003). Outro fator seria a quantidades de resíduo orgânico, de alta relação C:N, que permanecem no solo após a colheita e que, provavelmente, causaram imobilização microbiológica do N aplicado e do solo, diminuindo a disponibilidade do nutriente às plantas (VITTI et al., 2007).

4.3 Análises químicas foliares dos macronutrientes.

Com relação aos níveis de N, P, K, S, Ca, e Mg encontrados no tecido vegetal da cana-de-açúcar após os tratamentos, estão colocados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados obtidos dos macronutrientes foliares.

Tratamentos	Variáveis respostas (g Kg ⁻¹)					
	N	P	K	S	Ca	Mg
T1	18,89	2,38	11,72	2,82	6,39	3,08
T2	19,76	2,53	12,60	2,92	6,95	3,13
T3	19,26	2,43	12,97	3,04	5,80	3,11
T4	19,22	2,39	13,22	2,76	6,30	3,14
T5	19,29	2,35	14,22	3,09	6,19	3,15
T6	20,15	2,75	13,47	3,22	6,03	3,21
T7	19,78	2,37	13,72	3,04	6,54	3,15
T8	20,21	2,39	14,72	2,99	6,14	3,00
T9	20,21	2,41	14,47	3,03	6,48	3,09
T10	18,86	2,63	13,97	3,36	6,88	3,14
T11	20,02	2,62	14,22	3,01	7,13	3,17
T12	19,73	2,63	15,22	3,09	6,32	3,07

Legenda: T1) Controle, T2) Inoculante com pulverização foliar com jato dirigido sobre a linha de cana-de-açúcar (aplicação foliar), T3) Inoculante com pulverização na linha de cana após o corte com disco de aplicação de inseticida (aplicação injetada), T4) 60 kg de N ha⁻¹, T5) Inoculante aplicação foliar + 60 kg de N ha⁻¹, T6) Inoculante aplicação injetada + 60 kg de N ha⁻¹, T7) 90 kg de N ha⁻¹, T8) Inoculante aplicação foliar + 90 kg de N ha⁻¹, T9) Inoculante aplicação injetada + 90 kg de N ha⁻¹, T10) 120 kg de N ha⁻¹, T11) Inoculante aplicação foliar + 120 kg de N ha⁻¹ e T12) Inoculante aplicação injetada + 120 kg de N ha⁻¹. N, P, K, S, Ca e Mg: Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio respectivamente em g/kg de matéria seca.

Nota-se que há uma grande variação entre as maiores e menores médias dos níveis de minerais em função dos tratamentos, mas analisando a Tabela 10 com estatística, observa-se que para as variáveis N, K e S, apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Os tratamentos com inoculante diferiram estatisticamente dos tratamentos sem inoculante, para as três variáveis. Isso também pode ser observado com as comparações entre os contrastes destes três nutrientes. Já P, Ca e Mg, apesar das diferenças entre as médias, não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos.

Tabela 10. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos dos macronutrientes em relação a forma de aplicação do inoculante.

Resultados da Anova							
Variáveis respostas	Bloco	Forma (F)	Dose (D)	Interação F x D	Contraste I	Contraste II	
N	0.6361	0.0085	0.0406	0.3686	0.0022	0.9446	
P	0.0327	0.3005	0.0463	0.2686	0.2799	0.2647	
K	<.0001	0.0061	<.0001	0.4374	0.0016	0.7382	
S	0.0218	0.0983	0.0062	0.1170	0.0490	0.3770	
Ca	0.2888	0.2102	0.2705	0.5663	0.5232	0.1005	
Mg	0.3530	0.9736	0.6512	0.8179	0.8424	0.9086	
Tratamentos							
Variáveis respostas	Inoculação Controle	Inoculação Foliar	Inoculação enterrada	Valor F Média	Valor F (%)	CV (%)	DMS
N (g kg ⁻¹)	19,1b	19,8a	19,8a	19,61	0.008**	3,21	0.547
P (g kg ⁻¹)	2,4	2,5	2,6	2,49	0,300 ^{ns}	8,13	0.176
K (g kg ⁻¹)	13,1b	13,9a	14a	13,71	0,006**	5,74	0,682
S (g kg ⁻¹)	2,99	3,16	3,09	3,03	0,306 ^{ns}	6,53	0,162
Ca (g kg ⁻¹)	6,5	6,6	6,2	6,43	0,210 ^{ns}	11,63	0,649
Mg (g kg ⁻¹)	3,1	3,1	3,1	3,12	0,974 ^{ns}	5,38	0,146
Contrastes							
Variáveis respostas	Sem Inoculante		Inoculante (Foliar + Enterrado)				
N (g kg ⁻¹)	19,1b		19,8a				
K (g kg ⁻¹)	13,1b		13,95a				
S (g kg ⁻¹)	2,99b		3,12a				

Legenda 1 : Contraste I: sem inoculante vs inoculante (foliar + enterrado); Contraste II: inoculante foliar vs inoculante enterrado.

Legenda 2: N, P, K, S, Ca e Mg: Teores de nitrogênio, fosfore, potássio, enxofre, cálcio e magnésio respectivamente em g/kg de matéria seca. Médias contidas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F. # e ** nível de significância de 10 e 5% respectivamente de probabilidade. ns: não significativo.

Ao analisar os contrastes quanto à forma de aplicação do inoculante conforme Tabela 10, pode se notar que tanto para o N, quanto para o K e S, tiveram resposta significativa do inoculante segundo o Teste F. Assim o uso do inoculante aumentou a assimilação destes nutrientes, sendo expressos nos teores foliares da planta. Não houve diferença significativa entre os modos de aplicação do inoculante.

Casoti (2008) também encontrou interação significativa entre os tratamentos fonte de N e dose de N somente nos teores de enxofre, devido principalmente à composição do produto que apresenta enxofre na sua formulação, e que estavam disponíveis na dosagem recomendada para a cultura, assim como no presente trabalho.

Segundo Franco et al. (2007) avaliando os macronutrientes na parte aérea da cana-de-açúcar, apenas o N e o S foram acumulados, significativamente, em maiores quantidades em função do aumento das doses de N aplicadas, tendo este acúmulo comportamento linear. Para os demais macronutrientes avaliados (K, P, Ca e Mg) não se obtendo resposta significativa de acúmulo na parte aérea da cultura em função das doses de N aplicadas.

Para este estudo, os resultados referentes à dose de nitrogênio, as variáveis se comportaram de forma diferente em relação a cada macronutriente. Desta maneira, para as variáveis N, P, K e S que tiveram resposta significativa para as doses de nitrogênio foi realizada regressão múltipla, na qual se observou que as variáveis se comportaram de acordo com um modelo de dispersão linear, assim, quanto maior a dose de nitrogênio maior são os valores de N, P, K e S na cana-de-açúcar como pode ser observado na Figura 9.

Figura 9. Curva de regressão para os macronutrientes primários e secundários, com equação da curva e R^2 .

Isto pode ser explicado devido à fonte de nitrogênio ser o Ajifer (7,5% de N e 6% de S), assim aumentando significativamente a quantidade destes minerais no solo, além do que o

K tem uma forte relação como o N, assim quanto maior a absorção de nitrogênio maior será a absorção do K, desde que este não esteja em deficiência no solo.

Reforçando estes resultados, Batista (1977) observou o efeito sinérgico entre N e S em plantas de cana-de-açúcar (variedade NA56 79), que apresentou interação linear significativa, pois à medida que se aumentou a adubação nitrogenada ocorreu maior acúmulo de S nas plantas. O mesmo foi encontrado por Franco et al. (2007), que encontraram efeito sinérgico entre as doses de nitrogênio e o aumento de S e K nas plantas de cana-de-açúcar.

Os teores foliares encontrados também ficaram dentro das faixas de teores foliares adequados de nutrientes para a cana-de-açúcar segundo Raij et al. (1996).

4.4 Análises químicas foliares dos micronutrientes.

Com relação aos níveis dos micronutrientes B, Cu, Fe, Mn e Zn encontrados na cana-de-açúcar após os tratamentos, com médias descritas na Tabela 11. Notou-se que houve uma grande variação entre as maiores e menores médias dos níveis de minerais em função dos tratamentos, mas analisando a Tabela 12 com estatística, observou-se que para todas as variáveis de micronutrientes não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos em relação à aplicação do inoculante, mas diferiram estatisticamente em relação às doses de N aplicados.

Tabela 11. Resultados obtidos dos micronutrientes foliares.

Tratamentos	Variáveis respostas (mg Kg ⁻¹)				
	B	Cu	Fe	Mn	Zn
T1	21,88	8,50	113,55	109,07	30,28
T2	22,38	7,80	109,93	91,78	29,04
T3	22,16	8,68	93,48	101,45	27,33
T4	21,51	9,25	95,93	90,23	24,51
T5	21,29	8,30	90,98	87,60	23,56
T6	21,16	7,93	89,12	92,95	23,37
T7	21,27	8,48	84,25	88,30	22,73
T8	21,53	8,98	92,53	68,23	20,85
T9	22,03	9,53	99,58	65,17	20,82
T10	21,05	8,10	94,05	66,35	19,00
T11	21,16	8,35	84,45	80,78	20,27
T12	21,33	8,58	95,75	75,10	20,16

Legenda: T1) Controle, T2) Inoculante com pulverização foliar com jato dirigido sobre a linha de cana-de-açúcar (aplicação foliar), T3) Inoculante com pulverização na linha de cana após o corte com disco de aplicação de inseticida (aplicação injetada), T4) 60 kg de N ha⁻¹, T5) Inoculante aplicação foliar + 60 kg de N ha⁻¹, T6) Inoculante aplicação injetada + 60 kg de N ha⁻¹, T7) 90 kg de N ha⁻¹, T8) Inoculante aplicação foliar + 90 kg de N ha⁻¹, T9) Inoculante aplicação injetada + 90 kg de N ha⁻¹, T10) 120 kg de N ha⁻¹, T11) Inoculante aplicação foliar + 120 kg de N ha⁻¹ e T12) Inoculante aplicação injetada + 120 kg de N ha⁻¹. B, Cu, Fe, Mn e Zn: Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco respectivamente em mg/kg de matéria seca.

Tabela 12. Resumo da análise de variância com P-valor ou nível descritível do teste e resultados estatísticos dos micronutrientes em relação a forma de aplicação do inoculante.

Resultados da Anova						
Variáveis	Bloco	Forma (F)	Dose (D)	Interação	Contraste I	Contraste II
respostas	F x D					
B	0.7015	0.7720	0.1025	0.9425	0.4996	0.8151
Cu	0.4529	0.5193	0.1631	0.1139	0.7908	0.2687
Fe	0.3333	0.5189	<.0001	0.1139	0.2556	0.9960
Mn	0.5911	0.3201	<.0001	0.1677	0.1451	0.7188
Zn	0.6511	0.2397	<.0001	0.4810	0.1267	0.4721

Tratamentos							
Variáveis	Inoculação			Valor F			
respostas	Controle	Foliar	enterrada	Média	(%)	CV (%)	DMS
B (mg kg ⁻¹)	21,4	21,6	21,7	21,56	0,772 ^{ns}	4,59	0,859
Cu (mg kg ⁻¹)	8,6	8,4	8,7	8,53	0,519 ^{ns}	9,39	0,695
Fe (mg kg ⁻¹)	96,9	94,5	94,5	95,3	0,519 ^{ns}	7,31	6,046
Mn (mg kg ⁻¹)	88,5	82,1	83,7	84,75	0,320 ^{ns}	14,48	10,64
Zn (mg kg ⁻¹)	24,1	23,4	22,9	23,49	0,240 ^{ns}	8,46	1,725

Legenda 1: Contraste I: sem inoculante vs inoculante (foliar + enterrado); Contraste II: inoculante foliar vs inoculante enterrado.

Legenda 2: B, Cu, Fe, Mn, e Zn: Teores de boro, cobre, ferro, manganês, e zinco respectivamente em mg/kg de matéria seca. Médias contidas nas linhas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F. # e ** nível de significância de 10 e 5% respectivamente de probabilidade. ns: não significativo.

Para as doses de nitrogênio, as variáveis se comportaram de forma diferente em relação a cada micronutriente. Desta maneira, para as variáveis Fe, Mn e Zn que tiveram resposta significativa, foram realizadas regressão múltipla, na qual se observa que as variáveis se comportaram de acordo com um modelo de dispersão linear, assim, quanto maior a dose de nitrogênio menores são os teores de Fe, Mn e Zn na cana-de-açúcar como pode ser observado na Figura 10.

Os teores de micronutrientes foliares encontrados também ficaram dentro das faixas de teores foliares adequados de nutrientes para a cana-de-açúcar segundo Raij et al. (1996).

Figura 20. Curva de regressão para os micronutrientes, com equação da curva e R^2 .

O fato de aumentar a dose de nitrogênio, diminuir os teores foliares de Fe, Mn e Zn, pode ser explicado devido provavelmente pelo efeito de diluição dos teores em função do aumento de produtividade de cana-de-açúcar.

Andrade et al. (1995) estudaram os efeitos da aplicação de B, Cu e Zn via solo na variedade SP701143, de modo geral, as aplicações destes micronutrientes não apresentaram nenhuma alteração significativa nos teores foliares de cana.

A disponibilidade desses elementos, principalmente cobre, zinco, manganês e ferro, sofre grande influência do pH do solo, diminuindo consideravelmente com o aumento do pH do solo. Considerando-se que a maioria das usinas e produtores trabalha com valores de pH na faixa de 5,5 e 6,5 para a cana-de-açúcar, os teores disponíveis de micronutrientes nessas condições podem não suprir a demanda para altas produções da cultura (Malvolta, 1990).

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados, pode-se concluir que:

- Que na média da inoculação (foliar + enterrada) em soqueira da variedade RB867515, implicou em aumento dos teores foliares de N, K e S com incremento em produção de colmos e stand;
- A fonte nitrogenada Ajifer apresentou respostas lineares crescentes para a produção de colmos e stand, não refletindo significativamente nos teores de fibra, pol e ATR da matéria prima;
- Doses crescentes de N implicou em redução nos teores foliares de Fe, Mn e Zn.

REFERÊNCIAS

- ANDA. Associação Nacional para Difusão de Adubos. **Anuário Estatístico 2013**. 2013. Disponível em: < <http://www.anda.org.br>>. Acesso em: 14 fev. 2014.
- ANDRADE, L.A.B.; CASAGRANDE, A.A.; VITTI, G.C.; PERECIN, D. Efeitos das aplicações de fritas e de fontes solúveis de boro, cobre e zinco, via solo, na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*), variedade SP 70-1143. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 13, n.5, p. 21-27, 1995.
- AZEREDO, D. F.; BOLSANELLO, J.; WEBER, H.; VIEIRA, J. R. Nitrogênio em cana-de-açúcar – Doses e fracionamento. **STAB**, Piracicaba, v.4, n.5, p. 26-33, 1986.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen- fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, UK, v.36, n.1, p 86-93, 1986.
- BALDANI, J. I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMAN, A.; GILLIS, M.; DÖBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Hesbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, UK, v.46, n.3, p.802-810, 1996.
- BALDANI, V. L. D. **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum sp.* no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica**. Seropédica, RJ, 1996. 234 p. Tese. (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- BAPTISTA, R.B.; MORAIS, R.F.; LEITE, J.M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Variations in the ¹⁵N natural abundance of plant-available N with soildepth: Their influence on estimates of contributions of biological N₂ fixation to sugar cane. **Applied Soil Ecology**, v.73, p.124–129, 2014.
- BARBOSA, M.H.P.; OLIVEIRA, M.W.; SILVEIRA, L.C.I.; DAMASCENO, C.M.; MENDES, L.C. Acúmulo e alocação de nutrientes pela RB72454 no ciclo da cana-planta. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., Recife, 2002. **Anais**. Recife, Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 2002. p.264- 267.
- BASANTA, M.V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O.O.S.; OLIVEIRA, J.C.M.; TRIVELLIN, P.C.O.; TIMM, L.C.; TOMINAGA, T.T.; CORRECHEL, V.; CÁSSARO, F.A.M.; PIRES, L.F.; DE MACEDO, J.R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, v.116, p.235–248, 2003.
- BATAGLIA, O. C. et al. **Método de análises química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. 48 p. (Boletim Técnico, 78).

BATISTA, L. F. **Aplicação de N, P e 35S em dois solos de São Paulo e seus efeitos sobre a cana-de-açúcar**. 1977. 90f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1977.

BELLONE, C. H.; BELLONE, D. V. C.; PEDRAZA, R. O.; MONZON, M. A. Cell colonization and infection thread formation in sugarcane roots by *Acetobacter diazotrophicus*. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, US, v. 29, n. 56, p. 965- 967, 1997.

BIGGS, I.M.; STEWART, G.R.; WILSON, J.R.; CRITCHLEY, C. ^{15}N natural abundance studies in Australian commercial sugarcane. **Plant Soil**, v.238, p.21–30, 2002.

BODDEY, L. H. **Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia*, isoladas de cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) cultivadas na Austrália e no Brasil**. Seropédica, RJ, 2002. 109 p. Tese. (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BODDEY, L. H.; DART, P.; GOI, S. R.; BALDANI, J. I. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas no cultivar Q151 de cana-de-açúcar cultivada na Austrália. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu. Resumos... Caxambu, MG: UFLA; SBCS; SBM, 1998.

BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; REZENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of the ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N_2 fixation to grasses and cereals. **Australian Journal Plant Physiology**, Melbourne, v. 28, n.9, p.889-895, 2001.

BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V.M. Endophytic nitrogen fixation in sugar cane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, The Hague, NL, v. 252, p. n.1, 139-149, 2003.

BRASIL, M. S. **Ocorrência e diversidade genética de bactérias diazotróficas endofíticas em diferentes variedades de arroz**. Seropédica, RJ, 2005. 137 p. Tese. (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento Nacional da Safra de Cana-de-Açúcar**. 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Anuário Estatístico da Agroenergia** 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

BUCHER, C. A.; REIS, V. M. **Biofertilizante contendo bactérias diazotróficas**. Seropédica, RJ, Embrapa Agrobiologia, 17p, 2008. (Embrapa-Agrobiologia. Documentos 247).

CABALLERO-MELLADO, J.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P. *Burkholderia unamae* sp. nov., in N_2 -fixing rhizospheric and endophy species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, UK, v. 54, p. 1165-1172, 2004.

CAMPOS, F. S.; ALVES, M. C.; KAMIMURA, K. M. Propriedades físicas de um Latossolo Vermelho tratado com Ajifer L-40. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30, Recife, PE, **Anais ...** Recife: S.n, 2005.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, 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. 349-412.

CANUTO, E. L.; SALLES, J. F.; OLIVEIRA, A. L. M.; PERIN, L.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. Respostas de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Agronomia**, Seropédica, RJ, v.37, n. 2, p. 67 – 72, 2003.

CASOTI, R.O. Adubação nitrogenada e potássica na cultura da cana-de-açúcar e seus efeitos na produção e qualidade nutricional. Araçatuba: 2008. 54p. (Dissertação) - Faculdade de odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Unesp, 2008.

CASTRO-GONZÁLEZ, R.; MARTINEZ-AGUILAR, L.; RAMIREZ-TRUJILLO, A.; ESTRADA-DE-LOS-SANTOS, P. High diversity of culturable Burkholderia species associated with sugarcane. **Plant Soil**, v.345, p.155-169, 2012.

CAVALCANTE, V. A.; DOBEREINER, J. A new acid tolerant nitrogen- fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, The Hague, NL, v. 108, n.1, p. 23-31, 1988.

COALE, F.J.; SANCHEZ, C.A.; IZUNO, F.T.; BOTTCHER, A.B. Nutrient accumulation and removal by sugar cane grown on everglades histosols. **Agron. J.** v. 85, p. 310-315, 1993.

COELHO, C.H.M.; MEDEIROS, A.F.A.; POLIDORO, J.C.; XAVIER, R.P.; RESENDE, A.; QUESADA, D.M.; ALAVES, B.J.A.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Identificação de genótipos de cana-de-açúcar quanto ao potencial de contribuição de fixação biológica de nitrogênio. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 37-40, 2003.

COLETE, J.T.; STUPIELLO, J.J.; OLIVEIRA, G.R.D.; CASAGRANDE, J.C.; RIBEIRO, L.D. Remoção de macronutrientes pela cana-planta e cana-soca, em Argissolos, variedades RB 835486 e SP 81-3250. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., Recife, 2002. **Anais**. Recife: STAB, 2002. p. 316-321.

COLETI, J.T.; CASAGRANDE, J.C.; STUPIELLO, J.J.; RIBEIRO, L.D. & OLIVEIRA, G.R. **Remoção de macronutrientes pela cana-planta e cana-soca, em Argissolos, variedades RB83486 e SP81-3250**. STAB, 24:32-36, 2006.

CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CONSECANA. **Manual de instruções**. Piracicaba, 1999. 92p.

COSTA, M.C.G.; VITTI, G.C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH₃ de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 27, p. 631- 637, 2003.

CRUZ, L. M.; SOUZA, E. M.; WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. 16S ribossomal DNA characterization of nitrogen- fixing bacterial isolated

from banana (*Musa* spp.) e abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 67, n. 5, p. 2375 – 2379, 2001.

CUNHA, J. F.; CASARIN, V.; PROCHNOW, L. I. **Informações Agronomicas N° 135**. International Plant Nutrition Institute (IPNI), Piracicaba, set., 2011. Disponível em: <<http://brasil.ipni.net/article/BRS-3133>>. Acesso em: 23 de mai. 2014.

DANIELS, J; ROACH, BT. Taxonomy and evolution in sugarcane. In: HEINZ, DJ, editor. Sugarcane improvement through breeding. Amsterdam: **Elsevier Press**;1987. p. 7-84.

DEMATTE, J.L.I. Potencial de produtividade do solo, In: SIMPÓSIO AVANÇADO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, Piracicaba, 1986. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 137-179.

DEMATTE, J.L.I. **Racionalização do Uso de Fertilizantes e Corretivos na Cultura da Cana-de-Açúcar: uma importante alternativa de redução de custo agrícola**. Piracicaba: IPNI, 2009. 8p. (Encarte Técnico/Informações Agronômicas N° 127, 2009)

DILLEWIJN, C. van. *Botany of sugarcane*. **Waltham: Chronica Botanica**, 371 p., 1952.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Review in Plant Sciences**, Boca Raton, v.22, n. 2, p.107-149, 2003.

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

DÖBEREINER, J. Influência da cana-de-açúcar na população de *Beijerinckia* do solo. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.19, n.3, p.251-258, 1959.

DÖBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugar cane. **Plant Soil**, v.15 (3), p.211–216, 1961.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: Endophytic N₂ fixing bacteria. **Ci. Cult.**, v.44, p.310-313, 1992a.

DÖBEREINER, J.; ALVAHYDO, R. Sobre a influência da cana-de-açúcar na ocorrência de *Beijerinckia* no solo. II-Influência das diversas partes do vegetal. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.19, n.4, p.401-412, 1959.

DÖBEREINER, J.; DUQUE, F. F. Contribuição da pesquisa em fração biológica de nitrogênio para o desenvolvimento do Brasil. **Revista de Economia Rural**, Brasília, DF, v.18, p.447-460, 1980.

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

DONG, Z.; CANNY, M. J.; MCCULLY, M. E.; ROBOREDO, M. R.; CABADILLA, C. F.; ORTEGA, E.; RODÉS, R. A nitrogen-fixing endophytic of sugarcane stems: a new role for the apoplast. **Plant Physiology**, Minneapolis, US, v.105, n.4, p. 1139-1147, 1994.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412p.

ESPIRONELLO, A. Aplicação de aquamônia, uréia, nitrato de amônio e cloreto de potássio em cinco níveis, em três socas de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS DO BRASIL, 4., Olinda, 1987. Anais. Piracicaba: STAB, 1987. p. 94-102.

EVANS, H.J.; BURRIS, R.H. Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years. In: STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J eds. **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992, p.1-42.

FISCHER, D.; PFITZNER, B.; SCHMID, M.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; REIS, V.M.; PEREIRA, W.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; HAI, B.; HOFMANN, A.; SCHLOTER, M.; MARTINEZ-ROMERO, E.; BAL-DANI, J.I.; HARTMANN, A. Molecular characterisation of the diazotrophic bacterial community in uninoculated and inoculated field-grown sugarcane (*Saccharum* sp.). **Plant Soil**, v.356, p.83–99, 2012.

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathológica**, Jaguariuna, SP, v. 20, n.1, p.68-74, 1994.

FRANCO, H.C.J.; BOLONGA, I.R.; FARONI, C.E.; VITTI, A.C. & TRIVELIN, P.C.O. **Acúmulo de macronutrientes em cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada e dos resíduos culturais incorporados ao solo no plantio**. Bragantia, 66:669-674, 2007.

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

FRANCO, H.C.J.; TRIVELIN, P.C.O.; VITTI, A.C.; OTTO, R.; FARONI, C.E.; SARTORI, R.H. & TRIVELIN, M.O. Acúmulo de nutrientes pela cana-de-açúcar. **STAB**, v. 26, p. 47-51, 2008.

FREIRE, J. R. J. Trabalhos em rizobiologia no Rio Grande do Sul. In: **REUNIÃO LATINO AMERICANA. INOCULANTES LEGUMINOSA**, 4., 1968, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre, S.n., p. 19-24, 1968.

FUENTES-RAMIREZ, L. E.; JIMENES-SALGADO, T.; ABARCA-OCAMPO, I. R.; CABALLEIRO-MELLADO, J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indolacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. **Plant and Soil**. The Hague, NL, v.154, n. 2, p. 145 – 150, 1993.

GAVA, J.C.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; PENATTI, C.P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palha. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 36, p. 1.347-1.354, 2001.

GEE, S. W.; BAUDER, J. C. Particle size analysis. In: KLUTE, A. (Ed.). **Methods of Soil Analysis. Physical and mineralogical methods**, 1986. p.383-412.

GHELLER, A.C.A. Características desejáveis e manejo commercial de variedades de cana-de-açúcar. In: CÂMARA, G.M.S.; OLIVEIRA, E.A.M. de (Ed). **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 65-82.

GILLIS, M.; DOBEREINER, J.; POT, B.; GOOR, M.; FALSEN, E.; HOSTE, B.; REINHOLD, B.; KERSTERS, K. Taxonomic relationships between (*pseudomonas*) *rubrisubalbicans*, some clinical isolates (ef group 1), *Herbaspirillum seropedicae* and (*aquasspirillum*) *autrophicum*. In: M, POLSINELLI, R; MATERASSI AND M. VICENZI, (ed.) **Nitrogen fixation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 292-294, 1991.

HEINRICHS, R; SOARES FILHO, C. V. **Eficiência agronômica de fertilizante líquido Ajifer proveniente da aplicação de Lisina em pastagem de braquiária MG5**. Relatório Científico, 2006. 39 p.

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

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L., Infection and Colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, US v.17, n.1, p. 77-119, 1997.

JAMES, E.K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Res**, v.65, p.197–209, 2000.

KENNEDY, I. R.; TCHAN, Y., Biological Nitrogen Fixation In: Non Leguminous Field Crops: Recent Advances. **Plant and Soil**, The Hague, NL, v.141, n.1-2, p.93–118, 1992.

KIRCHHOF, G.; ECKERT, B.; STOFFELS, M.; BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; HARTMANN, A. *Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen- fixing bacterial species that occurs in C4-fibre plants. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, Reading, UK, v.51, p.157-68, 2001.

KORNDORFFER, G.H.; VALLE, M.R.; MARTINS, M.; TRIVELIN, P.C.O. Avaliação do nitrogênio da uréia pela cana-planta. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 21, p. 223-226, 1997.

LI, R. P.; MACRAE I. C. Specific associations of diazotrophic acetobacter with sugarcane. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, US, v.23, n.10, p.999-1002, 1991.

LI, R. P.; MACRAE, I. C. Specific identification and enumeration of *Acetobacter diazotrophicus* in sugarcane. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, US, v.24, n.5, p.413-419, 1992.

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

MADHAIYAN, M. POONGUZHALI, S., HARI, K., SARAVANAN, U. S., SA, T. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, CA, v.84, n.2, p. 143-154, 2006.

MAGALHÃES, A.C.N. Ecofisiologia da cana-de-açúcar; aspectos do metabolismo do carbono na planta. In: CASTRO, P.R.C., FERREIRA, S.O., YAMADA, T.Y. (ed.) **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: POTAFOS, 1987. p.113-118.

MALAVOLTA E. Nutrição mineral das plantas. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM FERTILIDADE DO SOLO, 1987, Campinas. **Atualização em fertilidade do solo**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.33-101.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola adubos e adubação**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1981.

MALAVOLTA, E. Micronutrientes na adubação da cana-de-açúcar. SEMINÁRIO SOBRE MICRONUTRIENTES. Cali, CIAT, 1990. 27p.

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

MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JR., G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita **Scientia Agrícola**, Piracicaba, SP, v.58, n.2, p.295-301, abr./jun. 2001.

MEDEIROS, A. F. A.; POLIDORO, J.C.; Reis, V.M. Nitrogen source effect on *Gluconacetobacter diazotrophicus* colonization of sugarcane (*Saccharum* spp.) **Plant and Soil**, The Hague, NL, v.279, n.1-2, p.141–152, 2006.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: UFLA, 2008. 768 p.; p.13-42.

MUNÖNZ-ROJAS, J.; CABALLERO-MELLADO, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. **Microbiology Ecology**, New York, v.46, n.4, p.454-464, 2003.

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

NUNES JUNIOR, D; PINTO, R.S.A; KIL, R.A. **Indicadores de desempenho da agroindústria canavieira da safra 2001-2002**. Ribeirão Preto: IDEA, 2002. 117p.

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

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, 71 predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils, Berlin**, v.21, n.3, p. 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 diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, The Hague, NL, v. 284, n1-2, p. 23-32, jun. 2006.

- OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOEBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, The Hague, NL, v. 242, n.2, p. 205-215, may. 2002.
- OLIVEIRA, E.C.A.; FREIRE, F.J.; OLIVEIRA, R.I.; FREIRE, M.B.G.S.; SIMÕES NETO, D.E.; SILVA, S.A.M. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Bras. Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1343-1352. 2010.
- OLIVEIRA, J. B.; PRADO, H. Levantamento pedológico do Estado de São Paulo: quadrícula de São Carlos. II Memorial Descritivo. Boletim Técnico do IAC, n. 98, 1984, 188p.
- OLIVEIRA, P.P.A.; TRIVELIN, P.C.O. & OLIVEIRA, W.S. Eficiência da fertilização nitrogenada com uréia (¹⁵N) em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu associada ao parcelamento de superfosfato simples e cloreto de potássio. R. Bras. Ci. Solo, v. 27, p. 613-620, 2003.
- ORLANDO FILHO, J.; CARMELLO, Q.A.C.; PEXE, C.A.; GLÓRIA, A.M. Adubação de soqueiras de cana-de-açúcar sob dois tipos de despalha: cana crua x cana queimada. **STAB**, v.1, p.7-11, 1994.
- 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.; HAAG, H.P. & ZAMBELLO JUNIOR, E. Crescimento e absorção de macronutrientes pela cana-de-açúcar, variedade CB41-76, em função da idade, em solos do estado de São Paulo. São Paulo, IAA, 1980. 128p. (Boletim Técnico PLANALSUCAR, 2).
- PAULA, M. A.; REIS, V. M.; DOBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* and *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), Sugarcane (*Saccharum* spp.), and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.11, n.2, p.111-115, 1991.
- PEOPLES, M.B.; CRASWELL, E.T. Biological nitrogen fixation; investments, expectations and actual contributions to agriculture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.141, n.1, p.13-39, 1992.
- PERIN, L. **Ecologia e diversidade de isolados de *Gluconacetobacter diazotrophicus* associados à cultura da cana -de-açúcar (*Saccharum* spp.)**. Seropédica, RJ, 2003. 63 f. Dissertação. (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- PERIN, L., BALDANI, J. I.; REIS, V. M. Diversidade de *Gluconacetobacter diazotrophicus* isolada de plantas de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.8, p.763-770, 2004.
- PERIN, L.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L.; CASTRO-GONZÁLEZ, R.; ESTRADA-DE-LOS-SANTOS, P.; CABELLOS-AVELAR, T.; GUEDES, H.V.; REIS, V.M.; CABALLERO-MELLADO, J. Diazotrophic Burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. **Appl. Environ. Microbiol**, v.72, p.3103-3110, 2006.
- POLIDORO, J. C.; RESENDE, A. S.; QUESADA, D. M.; XAVIER, R. P.; COELHO, C. H. M.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Levantamento da contribuição da**

fixação biológica de nitrogênio para a cultura da cana-de-açúcar no Brasil. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 2001. (Embrapa Agrobiologia. Documentos 144). 8p.

PRADO JR.; J. P. Q. **Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico.** Campinas, SP, 2008. 49 f. Dissertação. (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agronômico de Campinas.

PRADO, R.M.; FERNANDES, F.M.; NATALE, W. Calcário e escória de siderurgia avaliados por análise foliar, acúmulo e exportação de macronutrientes em cana-de-açúcar. **Sci. Agric.**, v. 59, p. 129-135, 2002.

RAIJ, B. Van; CANTARELLA, H. Milho para grão e silagens. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLAN, A.M.C. (Ed.). **Boletim técnico 100.** Campinas: Instituto Agronômico, 1996. p.56-59.

RAKKIYAPPAN, P.; THANGAVELU, S.; BHAGYALAKSHMI, K.V.; RADHAMANI, R. Uptake of nitrogen, phosphorus and potassium by soma promising mid late maturing sugarcane clones. **Sugar Tec.**, v. 9, p. 27-27, 2007.

REIS, V. M. **Aspectos ecológicos e fisiológicos da bactéria fixadora de N₂ *Acetobacter diazotrophicus*.** Itaguaí, RJ, 1991. 119f. Dissertação. (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

REIS, V. M. Inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio para aplicação em gramíneas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRÍZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. A busca das raízes: anais... Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006.

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

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

REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; DOBEREINER, J. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its Endophytic habitat. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, UK, v.10, n.4, p. 401-405, 1994.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: Fernandes M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas.** Viçosa, MG. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.153-174, 2006.

RODRIGUES, L. S. **Estudo da diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a cultivares de arroz inundado**. Seropédica, RJ, 2003. 93 f. Tese. (Doutorado em Ciências do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; BETTAMY, J. Dinâmica de nutrientes em cana-de-açúcar. I. Eficiência de utilização de uréia-¹⁵N em aplicação única ou parcelada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 19, n. 8, p. 943-949, 1984.

SCHIAVONE, E.A.; ALVES, M.C.; SOUZA, Z.M.; COSTA, F.G. Influence of organic-mineral fertilization of an oxisol on soil chemical properties and *bracharia brizantha* production. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, p.2219-2226, 2011.

SCHNEIDER, F. (Ed.) **Sugar analysis ICUMSA methods**. Mackay: BSES, 1979. 265p.

SHANKARIAH, C.; HUNSIGI, G. Field Responses of sugarcane to associative N₂ Fixers and Plubilisers. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v.24, p.17-21 September, 2001, Brisbane, Australia. Proceedings... Brisbane: ISSCT, 2001. p.40-45.

SILVA, L.C.; MOURA FILHO, G.; SILVA, V.T.; FERREIRA, L.C.R.; CARNAÚBA, P.J. P.; ALMEIDA, C.A.B.; ALBUQUERQUER, A.W. Remoção de nitrogênio em quatro variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) na região de Coruripe-AL. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., Gramado, 2007. Anais. Gramado, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.

SILVEIRA, J.A.G.; CROCOMO, O.J. Assimilação de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em presença de elevado nível de N e de vinhaça no solo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, p.7-15, 1990.

SOBRAL, A.F.; WEBER, H. Nutrição mineral da cana-de-açúcar (micronutrientes). In: ORLANDO FILHO, J., ed. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil. 2.ed. Piracicaba, PLANALSUCAR, 1983. p. 103-122.

SPRENT, J.I.; SPRENT, P. **Nitrogen fixing organisms**. London: Chapman and Hall, 2ed., p.256, 1990.

STIPP, S. R.; PROCHNOW, L. I. Maximização da eficiência e minimização dos impactos ambientais da adubação nitrogenada. *Informações Agronômicas*, Piracicaba, SP, v. 124, p.1-7, dez. 2008. Disponível em: < [http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/4B0E2287F2B643CC83257A900014F737/\\$FILE/Page1-7-124.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/4B0E2287F2B643CC83257A900014F737/$FILE/Page1-7-124.pdf)>. Acesso em: 03 fev. 2014.

SUMNER, M. E.. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. **Advances in Soil Science**, New York, v.12, p.53-123, 1990.

TASSO JUNIOR, L.C.; MARQUES, M.O.; CAMILOTTI, F.; SILVA, T. Extração e exportação de macronutrientes em cinco variedades de cana-de-açúcar cultivadas na região centro-norte do Estado de São Paulo. *STAB*, 25:38-42, 2007.

THAWEENUT, N.; HACHISUKA, Y.; ANDO, S.; YANAGISAWA, S.; YONEYAMA, T. Two seasons study on nifH gene expression and nitrogen fixation by diazotrophic endophytes

in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids): expression of *nifH* genes similar to those of rhizobia. **Plant Soil**, v.338, p.435–449, 2011.

TRIVELIN, P.C.O.; VICTORIA, R.L.; RODRIGUES, J.C.S. Aproveitamento por soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia-¹⁵N e uréia-¹⁵N aplicado ao solo em complemento à vinhaça. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 30, p. 1375-1385, 1995.

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

URQUIAGA, S.; CRUZ, K.H.S.; BODDEY, R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, p.105–114, 1992.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; DE MORAIS, R.F.; BAPTISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; MAIA E SÁ, J.; BARBOSA, K.P.; DE RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant Soil**, v.356, p.5–21, 2012.

VALVERDE, A.; VELÁSQUEZ, E.; GUTIÉRREZ, C.; CERVANTES, E.; VENTOSA, A.; IGUAL, J. *Herbaspirillum lusitanum* sp. Nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, UK, v. 53, p. 1979-1983, 2003.

VANDAMME, P.; GORIS, J.; CHEN, W. M.; VOS, DE P. E.; WILLEMS, A. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes. **Systematic and Applied of Microbiology**, Stuttgart, DE, v.25, n.4, p. 507-512, 2002.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O.; GAVA, G. J. C.; FRANCO, H. C. J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C. E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, n.3, p. 491-498, maio/jun. 2007.

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

VITTI, G. S.; QUEIROZ, F. E. C.; OTTO R.; QUINTINO, T. A. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar. Bebedouro, SP, 2005. 78 p. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Nutricao+cana+GVitti_000fh3r3vzp02wyiv80rn0etnmc6zamd.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2014. Palestra apresentada para a equipe da Stoller em fevereiro de 2005.

WOOD, A.W.; MUCHOW, R.C.; ROBERTSON, M.J. Growth of sugarcane under high input conditions in tropical Australia, III. Accumulation, partitioning and use of nitrogen. **Field Crop. Res.**, v. 48, p. 223-233, 1996.

XAVIER, R. P. **Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produção sustentável da cultura de cana-de-açúcar**. Seropédica, RJ, 2006. 71 f. Tese. (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

YONEYAMA, T.; MURAOKA, T.; KIM, T.H.; DACANAY, E.V.; NAKANISHI, Y. The natural ^{15}N abundance of sugarcane and neighboring plants in Brazil, the Philippines and Miyako (Japan). **Plant and Soil**, The Hague NL, v.189, n.2, p.239-244, fev.1997.