

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Identificação de Genótipos de Capim-Elefante  
(*Pennisetum purpureum* Schumach.) de Alta  
Produção de Biomassa com Qualidade para Fins  
Energéticos**

**Juliano Brás Zanetti**

**2010**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CAPIM-ELEFANTE  
(*Pennisetum purpureum* Schumach.) DE ALTA PRODUÇÃO DE  
BIOMASSA COM QUALIDADE PARA FINS ENERGÉTICOS.**

**JULIANO BRÁS ZANETTI**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Segundo Urquiaga**

*e Co-orientação do Professor*  
**Luís Henrique de Barros Soares**

Dissertação submetida como  
requisito parcial para obtenção  
do grau de **Mestre em Ciências**,  
no Curso de Pós-Graduação em  
Fitotecnia.

Seropédica, RJ.  
Julho de 2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**JULIANO BRÁS ZANETTI**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/07/2010.

---

Segundo Urquiaga. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Orientador)

---

Eduardo Lima. Dr. UFRRJ

---

José Carlos Polidoro. Dr. Embrapa Solos

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais José Brás Zanetti e Ormi Mosquem Zanetti, a minha irmã querida Juliette Zanetti, e a toda minha família, amigos e professores pela confiança, parceira e incentivo ao longo não somente desse período, mas de toda minha trajetória profissional, social e humana que muito colaboraram para que este momento pudesse se concretizar; com carinho dedico este trabalho.*

## **AGRADECIMENTOS**

À DEUS,

Ao meu pai José Brás Zanetti e minha mãe Ormi Maria das Graças Mosquem Zanetti, por me encorajarem com amor, paciência e dedicação sempre, concedendo a oportunidade de estudar e incentivando em meios a tantas dificuldades e momentos tão difíceis;

A minha irmã Juliette Zanetti e minha namorada Naira Rani Nóbrega de Jesus pelo carinho, prazer e companheirismo em todos os momentos;

A toda minha família que direta e indiretamente contribuíram para minha superação;

À Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa-ES, pelo apoio durante o início de minha caminhada estudantil profissional;

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, ao curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Agrícolas, ao curso de Pós-Graduação em Fitotecnia e aos respectivos professores e funcionários que muito contribuíram para minha formação acadêmica e científica;

Aos Professores e pesquisadores Segundo Urquiaga, Luis Henrique de Barros Soares, Robert Michael Boddey, Bruno José Rodrigues Alves e Claudia Pozzi Jantalia pela orientação, confiança e amizade;

À Embrapa Agrobiologia por toda infra-estrutura concedida para a realização deste estudo;

Ao grupo Ciclagem de Nutrientes, funcionários de campo e de laboratório da Embrapa Agrobiologia, pelo auxílio e dedicação essenciais para a realização deste trabalho;

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

Aos amigos que muito sem medir esforços contribuíram para minha formação os quais tenho muito respeito e gratidão eterna, sem distinção, portanto, impróprio se torna citar os seus nomes...;

A todos que fizeram parte deste caminho, mesmo não estando aqui presente.

**MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!**

## **BIOGRAFIA**

Juliano Brás Zanetti nasceu na cidade de Santa Teresa – ES em 17 de Janeiro de 1986. Criado em meio às lavouras de café, iniciou em 2001 sua carreira científica - profissional na Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa – ES realizando o curso Técnico em Agropecuária com Habilitação em Agropecuária, concluindo em 2003. Chegou à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2004, diplomando-se no curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas em 2008, trabalhando em diversas vertentes que o curso proporcionara: ensino, pesquisa e extensão. Ainda em 2008, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia também na UFRuralRJ, como bolsista da CAPES, desenvolvendo a dissertação junto ao Grupo de Pesquisa Ciclagem de Nutrientes na Embrapa Agrobiologia, concluindo em julho de 2010.

## RESUMO

ZANETTI, Juliano Brás. **Identificação de Genótipos de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) de Alta Produção de Biomassa com Qualidade para Fins Energéticos.** 73f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

A produção de material energético alternativo renovável, tal como a biomassa vegetal, representa hoje um dos grandes desafios para a pesquisa. No caso da biomassa, a liberação de CO<sub>2</sub> pelo seu uso representa apenas a reciclagem do CO<sub>2</sub> que foi retirado da atmosfera pela fotossíntese, indicando que, em longo prazo, esta será uma das alternativas energéticas mais seguras. O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) está entre as gramíneas de maior capacidade de produção de matéria seca, com características qualitativas favoráveis para a produção de energia. O objetivo deste trabalho foi identificar genótipos de capim-elefante para alto rendimento de biomassa, acúmulo de N sob a inoculação das plantas com uma mistura de bactérias diazotróficas. Foram realizados dois estudos de campo localizados no município de Seropédica, RJ. O primeiro experimento realizado em um tanque de concreto preenchido com Argissolo pobre em N disponível. O delineamento experimental foi o de Blocos ao Acaso em parcelas divididas, com quatro repetições. As parcelas constituídas pelos tratamentos de inoculação (inoculado e não inoculado), e as sub-parcelas compostas pelos cinco genótipos de capim-elefante: Cameroon, BAG 02, Roxo, Clone CNPGL 93 41 1 e CNPGL 91 F06-3. No segundo experimento, realizado no campo em um Planossolo, os dois genótipos, BAG 02 e Cameroon foram avaliados sob os tratamentos de inoculação, inoculação + 100 kg de N.ha<sup>-1</sup>, 100 kg de N.ha<sup>-1</sup>, e o controle. O delineamento experimental utilizado foi o de Blocos ao Acaso em esquema fatorial com quatro repetições. Nestes estudos encontraram-se os seguintes resultados: **1.** A produção de matéria seca (MS) que variou entre 16 e 41 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, quando os genótipos foram cultivados no Argissolo. No Planossolo, o rendimento de biomassa seca variou entre 48 e 56 Mg.MS.ha<sup>-1</sup> sob duas colheitas realizadas, em 11 meses de cultivo. **2.** Em relação ao total de N acumulado na parte aérea, os valores variaram entre 64 e 158 kg.ha<sup>-1</sup> quando os genótipos foram cultivados no Argissolo, e entre 297 e 441 kg.ha<sup>-1</sup> quando os genótipos foram cultivados no Planossolo. Para os parâmetros, acúmulo de N e rendimento de biomassa, os genótipos que mais se destacaram foram: CNPGL F 06-3 e Cameroon seguido dos genótipos BAG 02 e CNPGL 93 41 1. **3.** A relação C/N foi influenciada diretamente pelo tipo de solo, sendo que no Argissolo as relações encontradas foram em torno de 50% maiores, quando comparadas com o Planossolo. **4.** O poder calorífico e os teores de fibra, celulose, lignina e cinzas, que estão relacionados à parte qualitativa do material, em geral, não foram influenciados pelos genótipos, nem pelos tratamentos avaliados. A biomassa do capim-elefante apresentou características qualitativas e quantitativas positivas para ser utilizado na produção de energia renovável, sendo os genótipos CNPGL F 06-3 e Cameron, seguido dos genótipos BAG 02 e CNPGL 93 41 1 os mais indicados. Os genótipos em estudo não apresentaram resposta para rendimento e acumulação de N pela biomassa à inoculação com bactérias diazotróficas.

**Palavras-chave:** Bioenergia, Bactérias Diazotróficas, Balanço Energético, Biomassa.

## ABSTRACT

ZANETTI, Juliano Brás. **Identification of elephant grass genotypes (*Pennisetum purpureum* Schumach.) to biomass production and characteristics to Energy Purposes.** 73f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

The production of plant biomass for alternative renewable energy currently represents a great challenge to research. The release of CO<sub>2</sub> from its use constitutes only the CO<sub>2</sub> recycling that was removed from the atmosphere by photosynthesis, which in the long term, represents a valuable alternative for bio-energy. Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) is, among grasses, that with possibly the highest capacity for dry matter production, with other favorable characteristics for energy production. The aim of this study was to identify elephant grass genotypes with high biomass production and nitrogen accumulation under the inoculation with a mixture of N<sub>2</sub>-fixing bacteria. Two studies were conducted in Seropédica, Rio de Janeiro State. The first experiment was conducted in a concrete tank filled with a N-deficient Acrisol. The experimental design was randomized blocks in split plots with four replications. The plots consisted of the inoculation treatments (inoculated and uninoculated), and sub-plots for the five elephant grass genotypes: Cameroon, BAG 02, Roxo, Clone CNPGL 93 41 1 and CNPGL 91 F06-3. The second experiment was carried out on a Planosol and the two genotypes, BAG 02 and Cameroon, with inoculation treatments, inoculation + 100 kg of N ha<sup>-1</sup>, 100 kg of N ha<sup>-1</sup> and a zero N control. The experimental design was randomized blocks in a factorial model with four replications. In these studies the following results were obtained: 1. Dry matter production (DM) ranged from 16 to 41 Mg of MS ha<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup> when the varieties were grown in the Acrisol. In the Planosol the dry biomass varied between 48 and 56 Mg MS ha<sup>-1</sup> in two crops over a 11-month period of cultivation. 2. In relation to the total N accumulated in shoots, the values ranged between 64 and 158 kg ha<sup>-1</sup> when the genotypes were grown in Acrisol and between 297 and 441 kg ha<sup>-1</sup> when the genotypes were cultivated in the Planosol. For these parameters, N accumulation and biomass yield, the best genotypes were: CNPGL F 06-3 and Cameroon followed by CNPGL 93 41 1 and BAG 02 genotype. 3. The C/N ratio was directly influenced by soil type, and the ratio observed in the Acrisol was approximately 50% higher when compared to the Planosol. 4. The calorific value and fiber content, cellulose, lignin and ash, which are related to the quality of the material, in general were not affected by genotype, or by treatment. The elephant grass biomass had positive qualitative and quantitative characteristics to be used for renewable energy production and the Cameron CNPGL F 06-3 genotype, followed by BAG CNPGL 93 41 02 genotype were the most promising. The genotypes studied no showed response of biomass production or N accumulation to inoculation with diazotrophic bacteria.

**Keywords:** Bioenergy, diazotrophic bacteria, Energy balance, Biomass.

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Resultado da análise de fertilidade do solo no início do experimento, antes do revolvimento (novembro, 2008).....	19
<b>TABELA 2</b> – Resultados da análise de fertilidade do solo no início do experimento (março, 2009).....	24
<b>TABELA 3</b> - Resultado de rendimento de biomassa seca ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), de 06 genótipos de capim-elefante, cultivado em um argissolo marcado com $^{15}\text{N}$ , sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas.....	29
<b>TABELA 4</b> - Total acumulado de nitrogênio ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) por seis genótipos de capim-elefante, após um ano de cultivo em um argissolo marcado com $^{15}\text{N}$ , sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas.....	33
<b>TABELA 5</b> - Relação talo/folha (T/F) e relação carbono/nitrogênio (C/N) na biomassa aérea de 06 genótipos de capim-elefante, cultivados em um argissolo marcado com $^{15}\text{N}$ , sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas, em dois ciclos de cultivo.....	36
<b>TABELA 6</b> - Teores de fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e cinzas de seis genótipos de capim-elefante cultivados em um argissolo marcado com $^{15}\text{N}$ , durante o 1º ciclo de crescimento da cultura, de dezembro/2008 a junho/2009.....	39
<b>TABELA 7</b> - Rendimento de biomassa seca aérea ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) de 02 genótipos de capim-elefante em um planossolo em 330 dias de cultivo (maio – setembro/2009; outubro/2009 – março/2010).....	45
<b>TABELA 8</b> - Total acumulado de nitrogênio ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) pela parte aérea de dois genótipos de capim-elefante cultivados em um planossolo, durante 11 meses de cultivo. ....	49
<b>TABELA 9</b> - Relação talo/folha (T/F) e carbono/nitrogênio (C/N) na biomassa de dois genótipos de capim-elefante, cultivados em um planossolo durante 11 meses de cultivo. ....	51
<b>TABELA 10</b> - Teores de fibras em detergente neutro (FDN) e de cinzas na biomassa aérea de dois genótipos de capim-elefante, cultivados em um planossolo pobre em N disponível, durante o primeiro ciclo de crescimento da cultura (maio/2009 à setembro/2009). ....	54

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
2.1 A Cultura do Capim-Elefante. ....	5
2.2 Características Produtivas de Genótipos de Capim-Elefante Utilizados com Finalidade Energética. ....	6
2.2.1 BAG 02.....	7
2.2.2 Cameroon .....	7
2.2.3 CNPGL 07 1 .....	8
2.2.4 CNPGL F06 3 e CNPGL 93 41 1 .....	8
2.2.5 Roxo .....	9
2.3 Energia da Biomassa e o Capim-Elefante. ....	9
2.4 O Capim-Elefante e a Fixação Biológica de Nitrogênio. ....	11
2.5 Estudo da Disponibilidade do N no Solo.....	13
2.6 Inoculação com Bactérias Diazotróficas em Gramíneas .....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Avaliação do Rendimento e da Qualidade da Biomassa de Seis Genótipos de Capim-Elefante. EXPERIMENTO I. ....	18
3.1.1 Localização e características do solo e clima da área experimental.....	18
3.1.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	19
3.1.3 Implantação e condução do experimento .....	20
3.1.4 Produção de biomassa seca de capim-elefante e nitrogênio total acumulado. ....	21
3.1.5 Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha. ....	21
3.1.6 Análise de fibras totais .....	22
3.1.7 Poder Calorífico Superior da biomassa de capim-elefante.....	22
3.1.8 Análise estatística .....	23
3.2 Eficiência da Inoculação de Bactérias Diazotróficas em dois Genótipos de Capim-Elefante, sob Condições de Campo. EXPERIMENTO II .....	23
3.2.1 Localização e características de solo e clima da área experimental.....	23
3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	24

3.2.3	Implantação e condução do experimento. ....	25
3.2.4	Produção de biomassa seca de capim-elefante e nitrogênio total acumulado. ....	26
3.2.5	Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha. ....	27
3.2.6	Análise de fibras em detergente neutro. ....	27
3.2.7	Análise estatística .....	27
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1	Avaliação do Rendimento e da Qualidade da Biomassa de Seis Genótipos de Capim-Elefante. EXPERIMENTO I. ....	28
4.1.1	Produção de biomassa .....	28
4.1.2	Acúmulo de nitrogênio na biomassa. ....	32
4.1.3	Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha. ....	35
4.1.4	Qualidade da biomassa de capim-elefante considerando os teores de fibras (FDA), celulose, lignina e cinzas.....	38
4.1.5	Poder calorífico superior da biomassa de capim-elefante. ....	43
4.2	Eficiência da Inoculação em Dois Genótipos de Capim-Elefante sob Condições de Campo. EXPERIMENTO II.....	45
4.2.1	Produção de biomassa .....	45
4.2.2	Acúmulo de nitrogênio na biomassa. ....	48
4.2.3	Relação talo/folha e relação carbono/nitrogênio. ....	50
4.2.4	Qualidade da biomassa de capim-elefante: Teores de fibras e cinzas.....	52
5.	CONCLUSÕES .....	56
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS .....	57
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

A relação entre oferta e demanda de energia no planeta é uma preocupação mundial efetiva e muitos países buscam fontes alternativas de energia em função de três situações emergentes e cada vez mais preocupantes: a) a diminuição da dependência de fontes de energia fóssil, principalmente petróleo e derivados; b) preocupações com o meio ambiente; e c) pela possibilidade de benefício econômico, pelo uso de produtos valorizados por não promoverem degradação do meio ambiente, além dos créditos conseguidos através do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) (Upton et al., 2008). Neste cenário, a produção de material energético alternativo, através da utilização sustentável da biomassa, representa hoje um dos grandes desafios para a pesquisa. Como a queima de biomassa somente recicla CO<sub>2</sub> que foi retirado da atmosfera pela fotossíntese, tudo indica que, em longo prazo, esta será uma das alternativas energéticas mais seguras (Schemer et al., 2008). Uma das culturas que recentemente tem demonstrado grande potencial para uso como fonte de energia alternativa é o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) (Samson et al., 2005 e Morais et al., 2009a).

O capim-elefante é uma gramínea originária da África capaz de se desenvolver em praticamente todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta, tendo grande importância econômica pela sua rusticidade e produção. No Brasil, a cultura se destaca pela existência de genótipos de boa adaptação a solos de baixa fertilidade alcançando, em alguns genótipos mais adaptados, índices de produtividade de até 40 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, ou mais de biomassa seca, com o mínimo consumo de fertilizantes (Quesada, 2001).

A cultura do capim-elefante possui alta eficiência fotossintética, por ser uma planta de metabolismo C<sub>4</sub>, e grande capacidade de acumulação de matéria seca. Visto que é uma planta que foi primeiramente selecionada para fins forrageiros, as pesquisas com melhoramento buscam aumentos de produtividade, como resposta direta ao uso de fertilizantes, especialmente com doses crescentes de nitrogênio, com o objetivo de se obter incrementos significativos nos teores de proteína, aumentando sua digestibilidade e promover ganhos de peso mais rápidos para os animais, principalmente dos bovinos (Mistura et al., 2006).

Atualmente, as pesquisas com capim-elefante vêm traçando novos rumos, e não mais importa somente uma planta rica em proteína, para alimentação de animais, como tem sido seu uso tradicional (Andrade et. al., 2005; Mistura et al., 2006., Moreira et al., 2006) mas também como fonte de energia alternativa pela queima de sua biomassa (Morais et al.,

2009a). Neste caso, a finalidade é produzir biomassa com altos teores de fibras, lignina e celulose, com alta produção de matéria seca e baixo consumo de fertilizantes nitrogenados, para que esta planta ofereça biomassa com qualidade para fins energéticos e seu rendimento em energia seja significativamente positivo. Nos estudos desenvolvidos por Morais (2008) e Quesada (2005), baseado nesses parâmetros ideais da biomassa energética proposta por McKendry et al. (2002), demonstraram que dependendo do manejo adotado na cultura, a biomassa pode apresentar essas características qualitativas adequadas para tal finalidade, características estas opostas do desejável para alimentação animal.

No Brasil, a cada ano cresce o interesse na pesquisa sobre a produção de gramíneas com baixos níveis de adubação nitrogenada, sendo por isso energeticamente e ecologicamente mais indicado para uso como fontes alternativas de energia. Nestas situações, o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) parece ser ferramenta chave (Baldani et al., 1998). O sucesso do processo de FBN na agricultura está condicionado na seleção de genótipos de plantas e de bactérias diazotróficas, que se associem mais eficientemente. Várias espécies de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> como *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Azotobacter*, e *Azospirillum* foram isoladas do solo e da rizosfera de cana-de-açúcar e de outras gramíneas. Três espécies já identificadas foram chamadas de endófitas (habitam o interior de plantas), sendo elas: *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* (Baldani et al., 2009). *G. diazotrophicus*, que tem sido isolada em plantios de cana-de-açúcar em outros países como Cuba, México e Austrália. Também já foi encontrada em raízes lavadas e na parte aérea de *Pennisetum purpureum* cv. Cameroon.

Altos níveis de produtividade, com o menor uso de insumos possível, é condição para que uma espécie vegetal seja interessante como fonte de energia (Urquiaga et al., 2005). Neste contexto se enquadra a importância do capim-elefante, e seus genótipos altamente produtivos de matéria seca associado à possível contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN). A importância da FBN é crucial na economia de N-fertilizante, insumos estes que demanda altos níveis de energia fóssil na sua produção industrial. Devem ser levadas em consideração ainda, as características climáticas dos países tropicais, com altos regimes de chuvas, luminosidade e temperaturas altas, condições ideais para que gramíneas como o capim-elefante possam elevar seus índices de produtividade, tornando-se uma importante fonte alternativa de energia renovável (Morais et al., 2009).

A cultura do capim-elefante é altamente eficiente na fixação de CO<sub>2</sub> (gás carbônico) atmosférico durante o processo de fotossíntese para a produção de biomassa vegetal. Esta característica é típica de gramíneas tropicais que crescem rapidamente e otimizam o uso da

água do solo e da energia solar (Lemus et al., 2002; Urquiaga et al., 2004). As características morfológicas desta cultura também a tornam importante, pois, devido ao seu sistema radicular bem desenvolvido, pode contribuir para um aumento da matéria orgânica do solo, ou para o maior seqüestro de carbono no solo (Urquiaga et al., 2004).

O perfil energético do sistema industrial brasileiro está baseado em setores que exigem grandes consumos de energia com determinada qualidade. Entre esses setores, está o cerâmico, grande consumidor de energia térmica, hoje suprida basicamente pela combustão de fontes de energia primárias e secundárias, como, por exemplo, lenha, eletricidade, óleo combustível e gás natural. Segundo o Balanço Energético Nacional (BEN, 2009), cerca de 45% da oferta interna de energia se concentra no uso de energias renováveis, destas quase 32% no uso da biomassa vegetal. Diante do potencial de utilização da biomassa do capim-elefante na substituição de fontes de energia não renováveis no setor cerâmico, resta buscar informações mais precisas para que esta teoria seja comprovada. Para o uso desta cultura segundo Morais (dados não publicados), em uma cerâmica de médio porte que produzam cerca de 1050000 peças por mês considerando que cada peça pesa dois quilos, teremos um total de 2100 toneladas de massa por mês. Por ano isso representa um total de 25200 toneladas massa. Considerando que o consumo unitário é estimado em 400 kg m.s. (15% H<sub>2</sub>O) para cada 1790 kg de massa, pode-se concluir que o total de biomassa necessária para atender a esta demanda é 5631 toneladas de capim-elefante. Obtendo-se uma produtividade de 40 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> seriam necessários um total de aproximadamente 140 hectares de capim-elefante.

Assim sendo, estudos mais aprofundados sobre a identificação de genótipos de capim-elefante com alto potencial para produção de biomassa com qualidade para fins energéticos se faz necessário, a fim de selecionar genótipos de capim-elefante realmente apropriados aos programas agroenergéticos do país, para que se torne no futuro uma fonte de energia alternativa sustentável.

A **hipótese científica** estabelecida para esse estudo é que existem genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com alto potencial de rendimento de biomassa com qualidade para fins energéticos, que são capazes de utilizar eficientemente o nitrogênio e suportar seu crescimento em solos pobres em N disponível.

Os **objetivos** do estudo foram:

- a) Determinar o potencial de rendimento de biomassa aérea de seis genótipos de capim-elefante crescendo em solo pobre em nitrogênio disponível;
- b) Determinar a resposta dos genótipos de capim-elefante à inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas;
- c) Determinar a qualidade (fibra total, lignina e celulose) da biomassa produzida; e
- d) Determinar o poder calorífico da biomassa produzida pelos diferentes genótipos de capim-elefante em estudo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A Cultura do Capim-Elefante.

A cultura do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma das gramíneas forrageiras mais importantes e difundidas em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Carvalho et al., 1997). O capim-elefante é originário do continente Africano, e ocorre naturalmente em diversas regiões cuja precipitação seja superior a 1000 mm por ano. A partir de seu reconhecimento como forrageira, com alto valor para a alimentação de rebanhos, principalmente bovinos, o capim-elefante se difundiu por diversos países, sendo encontrado em regiões tropicais e subtropicais (Bogdan, 1977). O gênero *Pennisetum* pertence à tribo Paniceae, que possui outros gêneros de grande importância forrageira, tais como *Panicum*, *Melinis*, *Acroceras*, *Setaria*, *Brachiaria* dentre outros (Carvalho et al., 1997).

O gênero *Pennisetum* compreende mais de 140 espécies (Brunken, 1977), sendo algumas de importância forrageira (*P. purpureum*, *P. clandestinum*, *P. unisetum*, *P. pedicellatum*), uma cerealífera e forrageira (*P. americanum*) e outras ornamentais (*P. villosum*, *P. setaceum*) (Kativu & Mithen, 1987). A espécie *P. purpureum* se reproduz predominantemente por cruzamento e apresenta elevado grau de protogenia, sendo também, facilmente propagada de forma assexuada, cujo mecanismo de reprodução vegetativa possibilita a seleção e fixação de características superiores existentes em um único genótipo, o qual poderá ser mantido através da clonagem (Pereira et al., 2001).

No Brasil, por suas características edafoclimáticas regionais, o capim-elefante ocorre praticamente em todos os estados, com destaque para os estados da região sudeste, principalmente Minas Gerais. Até o início dos anos sessenta, as cultivares Mercker e Napier eram as mais utilizadas como forrageiras (Otero, 1961). Atualmente, existe no país um número relativamente alto de cultivares. Sua utilização é quase sempre como forrageira para corte em capineiras e, mais recentemente, para pastejo direto (Lima et al., 1969; Lucci et al., 1972; Sartini et al., 1970,71 ; Mozzer & Lobato, 1989).

O capim-elefante está entre as espécies de mais alta eficiência fotossintética, ou seja, entre aquelas que apresentam melhor aproveitamento da energia radiante e sua conversão em biomassa (Carvalho et al., 1997). Isto resulta numa grande capacidade de acumulação de matéria seca. É uma espécie perene, cespitosa, de porte ereto e que consegue atingir mais de 3 m de altura. Desenvolve-se bem desde o nível do mar até as altitudes de 2200 m, com temperaturas entre 18°C a 30°C e precipitação de 800 a 4000 mm.ano<sup>-1</sup>, entretanto, o melhor desenvolvimento é obtido em altitudes de até 1500 m e com temperaturas de 24°C (Rodrigues

et al., 1975). Esta gramínea apresenta altas produções em dias longos, sendo considerada planta de dia longo, no entanto, experimentos realizados em cabines de Fitotron demonstraram que temperaturas baixas são mais limitantes a adaptação e rendimento satisfatório de matéria seca do que um fotoperíodo reduzido (FERRARIS, 1978 de Carvalho, 1985).

Em se tratando de fertilidade do solo adequado para o cultivo desta espécie, o capim elefante se adapta bem a diversos tipos de solos, contanto que tenham adequada umidade e sejam bem drenados. Também é muito utilizado em áreas de pendentes elevadas, apresentando razoável eficiência no controle da erosão. Visto que se trata de uma forrageira com alto potencial de produção, suas necessidades de nutrientes são diretamente proporcionais aos seus rendimentos, por isso a importância do solo estar corrigido e adubado adequadamente.

A partir de estudos desenvolvidos em solos com baixa fertilidade natural, principalmente solos pobres em nitrogênio, com produtividades acima de 40 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> em genótipos mais adaptados, e estudando-se a fixação biológica de nitrogênio nesses genótipos percebendo-se sua importância, despertou-se o interesse em valorizar esta cultura como fonte alternativa de energia. Esta é uma questão fundamental para a economia e proteção ambiental dos países no futuro, pois as fontes fósseis de energia são finitas e poluidoras do meio ambiente, contribuindo com o aumento do efeito estufa, ao contrário de fontes renováveis de energia, que no máximo, retornam à atmosfera a maior parte do CO<sub>2</sub> que retiraram através da fotossíntese. Outra característica importante do capim-elefante, no que diz respeito a possibilidade de seu uso na agroenergia como, por exemplo, para a produção de carvão vegetal, é a semelhança que o mesmo apresenta em relação ao bagaço de cana-de-açúcar, que tem em sua composição, 65% de fibras e 35% de material não fibroso, sendo o teor de fibras fundamental para a produção de carvão (Quesada, 2005).

## **2.2 Características Produtivas de Genótipos de Capim-Elefante Utilizados com Finalidade Energética.**

O capim-elefante é uma planta perene, cespitosa, natural da África, que foi introduzida no Brasil por volta de 1920, onde apresentou excelente adaptação (Pupo, 1981). Aliadas a estas características, a sua alta rusticidade, fácil multiplicação, resistência considerável à seca e ao frio, bom valor nutritivo e boa palatabilidade, além de atingir altas produtividades por

área, justificaram a sua grande difusão em diversas regiões do país onde o cultivo desta forrageira ganhou espaço considerável em varias propriedades rurais.

Atualmente centenas de genótipos de capim-elefante são conhecidos na literatura. Apesar deste grande número de genótipos que se encontram disponíveis em coleções ou que são utilizadas por produtores, não existe uma lista mínima de descritores que permita a perfeita distinção entre as mesmas. Um fator que dificulta a determinação do número real de cultivares de capim-elefante é que muitas vezes uma mesma cultivar é introduzida em diversos locais sem que as identificações originais sejam mantidas (Carvalho et al., 1997).

No Brasil, o capim-elefante, apesar de ser amplamente difundido, apresenta um número pequeno de cultivares melhorados geneticamente. Segundo Pereira et al. (2001), a propagação vegetativa tem limitado a expansão da cultura. A seguir descrevem-se alguns genótipos de alto potencial para uso na agroenergia.

### **2.2.1 BAG 02**

Existem poucas informações a respeito deste genótipo, alguns estudos realizados no início dos anos 1990 mostraram seu alto potencial produtivo para forragem em sistemas agrícolas. Em estudos mais recentes realizados por Quesada (2005) e Moraes (2008), percebe-se que este genótipo apresenta altos rendimentos de matéria seca, alcançando produtividades superiores a  $25 \text{ Mg de MS} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ , e características da biomassa como teores favoráveis de fibra, celulose e lignina que fazem deste genótipo, uma cultivar promissora nesta pesquisa.

Quesada (2003) também mostrou que este genótipo é eficaz em promover um maior acúmulo de matéria seca por unidade de nitrogênio acumulado na biomassa, que é interessante em relação a genótipos com finalidade para a agroenergia, pois demandam baixos níveis de N-fertilizante para obter bons rendimentos de matéria seca.

### **2.2.2 Cameroon**

A introdução deste genótipo no Brasil ocorreu na década de 60 (Faria et al., 1970). Os estudos de adaptação, envolvendo o genótipo Cameroon em diversas regiões do Brasil, são relativamente escassos (Carvalho et al., 1997). Pesquisas voltadas à pecuária, conduzidas na região Sudeste por Alcântara et al. (1980), Gonzalez (1980), e Mozzer (1986), mostram existirem outras cultivares com maior desempenho forrageiro, principalmente no que diz respeito à produção de forragem.

Quesada (2005) avaliou a adaptação deste genótipo para uso energético em diferentes condições edafoclimáticas do país, e foi apresentado como um dos mais promissores genótipos para uso como fonte de energia alternativa. Os estudos de Morais et al. (2009a), demonstraram que o genótipo Cameroon é considerado um dos mais propícios para a agroenergia devido as suas características de produtividade e qualidade da biomassa produzida.

### **2.2.3 CNPGL 07 1**

A obtenção de híbridos entre o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) e o milheto (*Pennisetum americanum*) tem sido uma estratégia usada pelo melhoramento na produção de forragem (Campos, 2007). A Embrapa CNPGL (Centro Nacional de Pesquisas em Gado de Leite) desenvolve, há mais de uma década, um programa de melhoramento genético do capim-elefante. Esse programa explora a variabilidade genética existente no Banco Ativo de Germoplasma do Capim-Elefante (BAGCE), constituído por clones, populações e cultivares melhoradas de capim-elefante, híbridos triplóides e hexaplóides resultantes dos seus cruzamentos com o milheto, acessos de milheto e diversas outras espécies selvagens de *Pennisetum*.

A proximidade genética entre o capim-elefante e o milheto possibilita a obtenção de híbridos entre essas duas espécies com relativa facilidade (Sobrinho et al., 2005). Essa estratégia tem sido recomendada para o melhoramento de qualidade forrageira (Hanna, 1999). Este cruzamento busca reunir no híbrido, características desejáveis do milheto, tais como qualidade de forragem, tolerância à seca e resistência a doenças, com as boas características produtivas do capim-elefante (Schank et al., 1993).

Para uso na pecuária, na alimentação de animais, segundo Jauhar (1981), a forragem desses híbridos interespecíficos teria melhor aceitação pelos bovinos que o próprio capim-elefante. Entretanto nada se conhece sobre o potencial destes híbridos, e não se tem resultados quanto à produção para fins energéticos.

### **2.2.4 CNPGL F06 3 e CNPGL 93 41 1**

Estes genótipos são resultados de vários trabalhos de seleção entre milhares de cruzamentos realizados na Embrapa Gado de Leite. Estes genótipos caracterizam-se pela rapidez de crescimento pós-corte, grande capacidade de perfilhamento e altas produtividades. Além destas vantagens, possui rápida expansão do diâmetro da touceira. Estas características

são devido a extensos cruzamentos, sempre buscando o melhor desempenho para ganhos de produção final entre os produtores, principalmente no que diz respeito à alimentação animal.

Para fins energéticos, estudos de Quesada (2005) e Moraes et al. (2008), mostraram o alto potencial qualitativo e quantitativo da biomassa do genótipo CNPGL F06 3. Além disso, trabalhos realizados por Moraes et al (2009), mostraram que o genótipo CNPGL F06 3, obteve uma contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) de até 52%, característica importante para o aprofundamento dos estudos para utilização deste genótipo com fins energéticos, considerando sua alta produtividade com economia no uso de N-fertilizante. Já para o genótipo CNPGL 93 41 1, os estudos realizados até o momento se concentram somente para o uso na alimentação animal, e ainda não há resultados deste genótipo para a finalidade agroenergética.

### **2.2.5 Roxo**

Entre as cultivares de capim-elefante mais estudadas para fins forrageiros a cultivar roxo apresenta inúmeras identificações que variam de região para região. Avaliando a produtividade desta cultivar, Queiroz filho et al. (1998), obtiveram com cortes em intervalos de 60 dias, produções médias de matéria seca de  $3,2 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{corte}^{-1}$ , realizando cortes rentes ao solo durante três anos de experimento na região do Brejo Paraibano. Santos et al. (2001b), mostraram que maiores intervalos de cortes possibilitaram produções mais elevadas de massa verde, matéria seca e proteína bruta pela forrageira.

Em estudos desenvolvidos por Quesada (2005) e Moraes (2008), avaliaram a aptidão energética deste genótipo, e observaram boas características qualitativas da biomassa, embora o potencial de produção tenha sido um pouco menor do que os outros genótipos estudados, provavelmente pelo fato de que seu potencial de perfilhamento é relativamente menor do que os demais genótipos. Além do que, o benefício obtido pelo processo de fixação biológica de nitrogênio associado a este genótipo é relativamente menor do que nos outros genótipos estudados (Leite et al., 2007).

## **2.3 Energia da Biomassa e o Capim-Elefante.**

Desde o início da civilização, a biomassa vegetal sempre teve um papel dos mais importantes como fontes de energia e, para a maioria dos povos em desenvolvimento, essencial para a preparação de alimentos, ou como fonte de calor e iluminação, ou até mesmo

no desenvolvimento industrial movimentando as primeiras máquinas a vapor. Nos dias atuais, muitos desses usos ainda prevalecem, e a importância da biomassa como objeto de estudo tornou-se inegável na sociedade moderna (Quesada, 2005).

No Brasil, segundo dados do balanço energético nacional (BEN, 2009), os recursos da biomassa respondem com aproximadamente 31,5% da oferta interna total de energia primária. Porém, o crescimento na demanda por biomassa com finalidade energética tem resultado em aumentos nas taxas de desmatamento, contribuindo dessa forma ao crescente problema do aquecimento global, já existente. Assim, há um aumento na procura de fontes alternativas de energia, que possam ser produzidos de modo sustentável, obtido em sistemas de produção bem definidos e avaliados quanto ao seu impacto no ambiente, e que permitam reduzir significativamente o consumo de petróleo no mundo, principal causa de emissões de gases de efeito estufa (GEE). Há, pois, um renovado interesse dos países na biomassa energética, apontada por seu potencial de assumir uma participação maior na matriz de energia primária em um futuro próximo (Johansson et al., 1993; IPCC, 1995; Robertson & Shapouri, 1993, Samson et al., 2005; MOA/DOE, 1998). No caso brasileiro, a experiência com o Pro - álcool é exemplar no mundo (Goldemberg et al., 1993).

O setor agrícola é visto como a principal via quando se busca a produção sustentável de biomassa com fins energéticos, onde as gramíneas como cana-de-açúcar e capim-elefante por suas características qualitativas e quantitativas de biomassa, são muito promissoras (Boddey, 1995; Samson et al., 2005; Urquiaga et al., 1992). Fato que não ocorre com outras culturas de baixa produção de biomassa e eficiência energética como no uso de sementes de grãos como milho, soja, colza, girassol, mamona, entre outras, para fonte de combustíveis líquidos, onde o balanço energético alcança níveis muito modestos, principalmente no caso das não leguminosas por depender de adubação nitrogenada que demandam altos níveis de energia fóssil em sua produção e transporte (Urquiaga et al., 2005).

O balanço energético (relação entre a quantidade total de energia produzida por unidade de energia fóssil investida em todo o processo de produção do biocombustível) é o melhor parâmetro para avaliar a viabilidade técnica de qualquer programa bioenergético, sendo que esta característica vai depender também da energia gasta no processo de transformação do produto agrícola. Assim, por exemplo, o balanço energético de etanol a partir de milho é de 1,2:1 (McLaughlin & Walsh, 1998), e no caso do biodiesel derivado de colza (*Brassica napus*) o balanço energético é também muito baixo de 1,47:1 (Armstrong et al., 2002). A gramínea capim-elefante vem apresentando excelentes resultados de produção de biomassa, especialmente nos genótipos menos apropriados para alimentação animal. Nessa

cultura em condições controladas, o rendimento médio de matéria seca de alguns genótipos superam valores de  $40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$ , com mínimo consumo de N-fertilizante (Quesada, 2001; Reis et al., 2001). Isto corresponde ao dobro da biomassa produzida pela cultura do eucalipto, espécie que também vem sendo cultivada para fins energéticos, alcançando um balanço energético altamente positivo de 21,1:1 (Samson et al., 2005).

O capim-elefante é uma monocotiledônea e sua estrutura morfológica é bastante semelhante à do bagaço de cana-de-açúcar, tendo em sua composição: 65% de fibras e 35% de material não fibroso e, segundo Kauter et al. (2006), a biomassa de plantas que apresentam teor de fibras acima de 30% já podem ser adaptadas para produção de energia. Quesada (2005), em experimentos conduzidos em solos de baixa fertilidade, obteve altas produtividades de biomassa com teores de fibras próximos de 55% e 50 % em colmos e folhas, respectivamente. Queiroz Filho et al. (2000), estudando a qualidade do capim-elefante cultivar Roxo em diferentes idades de corte, encontraram valores percentuais de 48% para Fibra em Detergente Ácido (FDA), aos 100 dias de cultivo. Estes resultados demonstram que a qualidade da biomassa é dependente do manejo a ser adotado na cultura, principalmente do intervalo entre cortes (Quesada et al., 2004) e a disponibilidade de nutrientes (Mistura et al., 2006; Andrade et al., 2005). Segundo Quesada (2005), esses percentuais são mais baixos que os de algumas plantas utilizadas para a mesma finalidade, como Eucalipto, por exemplo, mas quando no contexto é inserida a produtividade e a quantidade de cortes por ano, o capim-elefante leva grande vantagem, pois o Eucalipto leva em média sete anos para ser cortado, e o capim-elefante, nesse manejo, pode ser cortado até 14 vezes (2 cortes por ano), superando substancialmente o Eucalipto em produtividade, compensando assim um menor percentual de lignina.

#### **2.4 O Capim-Elefante e a Fixação Biológica de Nitrogênio.**

O processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) representa uma importante fonte deste macronutriente para a nutrição mineral de diversas culturas agrícolas, nas quais é conhecida a associação entre bactérias diazotróficas e as plantas cultivadas. Este processo, potencialmente pode suprir parte da demanda de N das plantas, minimizando e/ou eliminando a necessidade de aplicação de fertilizantes nitrogenados sintéticos, caso os fatores que o influenciam sejam otimizados (planta, microrganismos, condições edafoclimáticas).

A primeira associação de uma gramínea forrageira tropical com bactérias fixadoras de nitrogênio estudadas, detalhadamente, foi aquela descrita entre *Paspalum notatum* e *Azotobacter paspali*, analisando as estimativas da FBN em cilindros intactos com amostras de solo e plantas, como o uso do método de redução de acetileno (Neyra & Döbereiner, 1977).

Desde a descoberta da bactéria *Beijerinckia fluminensis*, associada às plantas de cana-de-açúcar, em 1958, houve avanços significativos no conhecimento da associação de gramíneas/bactérias diazotróficas, seja pela identificação de novas espécies fixadoras de N<sub>2</sub>, da organização e regulação dos genes *nif* (*nitrogen fixation*), dos mecanismos de interação com a planta hospedeira, do conhecimento do processo de infecção e colonização, seja pela identificação de genes que são ativados ou reprimidos na presença destes microrganismos (Baldani et al., 2009).

Os estudos no Brasil sobre o processo de FBN em gramíneas obtiveram grandes avanços em plena revolução verde, num momento em que a maioria dos países industrializados buscava auto-suficiência de alimentos através do uso maciço de fertilizantes nitrogenados na agricultura (Quesada, 2005). A associação de bactérias fixadoras de nitrogênio com gramíneas ganhou enorme importância, principalmente com a descoberta de que bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Azospirillum* colonizam os tecidos internos das raízes, indicando que sua interação com a planta poderia resultar em uma associação com maior potencial de exploração agrícola do que as associações de várias bactérias diazotróficas com a rizosfera dessas plantas (Döbereiner e & Day, 1975).

Uma associação que despertou o interesse mundial refere-se aquela envolvendo gramíneas e bactérias diazotróficas endofíticas obrigatórias, que vivem no interior da planta (Döbereiner, 1992). *Herbaspirillum seropedicae* foi à primeira bactéria fixadora de N<sub>2</sub> com características endofíticas, foi isolada de solo da rizosfera, raízes lavadas e raízes esterilizadas superficialmente de plantas de milho, sorgo e arroz (Baldani et al., 1986). A capacidade destas bactérias de colonizar nichos específicos no interior dos tecidos das plantas, onde permanecem protegidas das altas pressões parciais de oxigênio (inibitória para a atividade da enzima nitrogenase) e possivelmente com carbono mais prontamente disponível, sugere uma associação bastante íntima e particular, embora não possa ser classificada como endossimbiótica (Olivares et al., 1997). Como exemplo, podemos citar entre as bactérias endofíticas descritas atualmente além *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* descrita por Baldani et al., (1996), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Cavalcante & Döbereiner, 1988), e as bactérias do gênero *Burkholderia*, que apresentam características endofíticas, mas não tão evidenciadas quanto às demais, e outras bactérias do

gênero *Azoarcus* spp, *Klebsiella* spp, *Pantoea agglomerans* e *Pseudomonas stutzeri* (Baldani et al., 2009).

Segundo Quesada (2005), a capacidade que as gramíneas forrageiras têm em se associar com bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, utilizando o nitrogênio fixado pelas mesmas, ainda não está bem esclarecida. Em capim-elefante, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, uma bactéria diazotrófica eficiente em cana-de-açúcar, já foi isolada no genótipo Cameroon. Isto é um indicativo de que uma seleção de estirpes se faz necessária para se estabelecer outros patamares de contribuição da FBN, pois estes microrganismos evoluíram com as plantas em condições de campo e sua competição com estirpes selvagens parece ter sido bem sucedida no sentido de se estabelecer esta associação.

Os estudos preliminares com diversos genótipos de capim-elefante em condições controladas têm demonstrado que o potencial de rendimento de biomassa seca dos genótipos promissores supera os 40 Mg·ha<sup>-1</sup>·ano<sup>-1</sup>, onde a contribuição FBN associada à cultura pode superar 51% do total do N acumulado pelas plantas (Morais et al., 2009a). Os altos valores de FBN estão associados com a presença de numerosas espécies de bactérias diazotróficas endofíticas encontradas no interior das plantas (Reis et al., 2001), o que pode ser a explicação pela alta produção de biomassa em solos extremamente pobres em N disponível. A importância da FBN na produção de biomassa é essencial, pois ao contribuir para a economia de N-fertilizante (economia de energia fóssil), na produção da cultura, contribui-se significativamente para o balanço energético altamente positivo encontrado nesta cultura, parâmetro essencial como suporte técnico de qualquer programa bioenergético (Samson et al., 2005).

## **2.5 Estudo da Disponibilidade do N no Solo.**

Nos solos tropicais, a baixa disponibilidade do nitrogênio é um dos fatores que mais limitam o desenvolvimento das plantas. Esta baixa disponibilidade está diretamente relacionada aos vários processos envolvidos no seu ciclo no sistema solo-planta-atmosfera. A utilização de adubos para a complementação nutricional principalmente de N para as plantas, é necessária para conseguir maior produtividade das culturas. Entretanto, a baixa eficiência agrônômica e o aumento dos custos dos fertilizantes comerciais, principalmente os nitrogenados, associados aos efeitos poluentes provocados, merecem um maior entendimento para seu uso.

Trabalhos que visem estudos sobre as reais contribuições da fixação biológica de nitrogênio em sistemas agrícolas vêm se destacando, devido principalmente a três fatores: a) ao menor uso de adubos nitrogenados, que resultam em economia para o produtor, considerando os altos preços dos fertilizantes; b) a característica de contribuir para o auto-fornecimento em parte do nitrogênio utilizado pela planta, minimizando os impactos ambientais do nitrogênio fertilizante; e c) aumento de produtividade, especialmente em solos pobres em N disponível. O conhecimento e a quantificação do processo de fixação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico são importantes para avaliar o verdadeiro papel da FBN na ciclagem de N nos sistemas agrícolas, pois como a FBN é uma fonte de N para a agricultura, isto pode contribuir significativamente para a sustentabilidade da produção agrícola.

Devido à importância da FBN na ciclagem do nitrogênio nos ecossistemas da biosfera, nos últimos anos têm sido desenvolvidos e adaptados uma série de métodos com o objetivo de determinar a real contribuição da FBN por bactérias diazotróficas para as plantas. Entre elas destacam-se: a diferença de N-total (Boddey, 1987), o balanço de nitrogênio no sistema solo-planta (Bremner, 1965), redução de acetileno (Burriss, 1975), balanço de N-mineral (Alves et al., 1994), abundância relativa de ureídeos (McClure et al., 1979; Alves, 1996) e também técnicas isotópicas, tais como: N<sub>2</sub> marcado com <sup>13</sup>N ou <sup>15</sup>N (Ruschel et al., 1978), a diluição isotópica de <sup>15</sup>N (Vallis et al., 1967; Boddey et al., 1994) e a abundância natural de <sup>15</sup>N (Shearer & Kohl., 1986).

Estas técnicas apresentam vantagens e desvantagens inerentes aos procedimentos de amostragem e analíticos das mesmas (Boddey et al., 1995; Boddey et al., 2001). Dentre estas, as técnicas isotópicas apresentam a importante vantagem de permitir a discriminação e quantificação das fontes de N que contribuem para a nutrição nitrogenada das plantas de forma indireta, ou seja, através da aplicação destas técnicas pode-se saber qual a fração do N acumulado pela planta é proveniente do solo (N-nativo), do fertilizante nitrogenado quando aplicado e/ou do processo de FBN quando associado às plantas. Além disso, as técnicas isotópicas são as únicas que se aplicam para a estimativa com elevada precisão da contribuição deste processo para a nutrição das plantas ao nível do campo em culturas de plantas não leguminosas (Boddey et al., 2001).

As técnicas isotópicas permitem obter valores integrados do N fixado durante todo um ciclo de crescimento das plantas, e são ferramentas mais confiáveis nos estudos de ciclagem e transferência de nitrogênio (Peoples et al., 1989). No entanto, as técnicas que utilizam fertilizantes enriquecidos com <sup>15</sup>N apresentam limitações devido às interações do nitrogênio adicionado com o nitrogênio nativo do solo, que afeta a estabilidade de uma marcação

uniforme do N disponível do solo (Jenkinson et al., 1985), e ao custo do material enriquecido com  $^{15}\text{N}$ . A técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  não apresenta estas limitações, e é muitas vezes mais adequada para medir a FBN em sistemas estabelecidos em que à aplicação  $^{15}\text{N}$ -fertilizante ocasionaria distúrbios no sistema (Høgh-Jensen, 1998).

## **2.6 Inoculação com Bactérias Diazotróficas em Gramíneas**

Culturas como o capim-elefante e a cana-de-açúcar, que demandam grandes quantidades de N, apresentam uma baixa resposta à adubação nitrogenada, o que sugere que a uma interação de alguns microrganismos diazotróficos endofíticos principalmente, com essas plantas, seja um sistema natural de reposição do N exportado anualmente dos solos pela colheita.

No Brasil, por exemplo, a dose de N-fertilizante recomendada pela COPERSUCAR (Cooperativa de Produtores de Açúcar e Álcool de São Paulo) para cana-de-açúcar é de 50 kg  $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$  para cana planta e 100 kg  $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$ , a partir da primeira soca (Copersucar, 2000). Dessa forma, existe um grande interesse em práticas alternativas que visem à redução na aplicação de insumos ou mesmo da melhoria da absorção destes nas áreas de produção agrícola. Dentre os vários processos biológicos que ocorrem na natureza, a FBN é realizada por um grupo restrito de bactérias denominadas diazotróficas (Reis, 2007).

As bactérias diazotróficas parecem representar um componente importante no suprimento de N em diversos ecossistemas. Há muitos anos tem-se verificado que áreas de pastos com gramíneas e cana-de-açúcar têm mantido níveis razoáveis de produtividade sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados, o que indica que este fenômeno poderia estar relacionado com a contribuição da fixação biológica de  $\text{N}_2$  (FBN) por microrganismos associativos. Existem inúmeros trabalhos evidenciando os benefícios da inoculação destas bactérias no crescimento e nutrição de várias plantas, particularmente gramíneas (Boddey & Döbereiner, 1988).

Bactérias promotoras de crescimento vegetal são benéficas às plantas e possuem a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos do vegetal, sem causar sintomas de doenças (Reis, 2007). Estes estímulos ao crescimento se dão através de diferentes mecanismos tais como a FBN e a produção de hormônios de crescimento como auxinas e giberilinas que favorecem o crescimento vegetal principalmente das raízes e que atuam na maior absorção de nutrientes e água (Peoples et al., 1995; Fallik et al., 1988; Dobbelaere et al., 1999; Lambrecht et al., 2000; Lin et al., 1983). Além disto, podem agir como

solubilizadores de fosfatos ou mesmo deste grupo pode acelerar processos biológicos como a mineralização (Persello-Cartineaux et al., 2003). Também podem agir no crescimento vegetal de forma indireta, protegendo a planta de fungos patógenos do solo ou de bactérias patogênicas através de vários mecanismos como a produção de sideróforos, antibiose, chitinases e glucanases que podem lisar células bacterianas (Whipps, 2001). Vários gêneros são conhecidos como bactérias promotoras de crescimento vegetal, tais como: *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Serratia*, e mesmo os rizóbios são incluídos neste grupo (Reis et al., 2000; Somers et al., 2004).

No intuito de contribuir ainda mais para o favorecimento destes processos que beneficiam o crescimento vegetal direta ou indiretamente, a produção de inoculante é proposta de forma à obtenção de sucessos ainda mais promissores. Segundo Reis (2007), inoculante é um produto que refere-se à utilização de microrganismos vivos, capazes de promover o crescimento vegetal de forma direta ou indireta, através de diferentes mecanismos sendo denominados mundialmente de biofertilizantes, sendo no Brasil o produto mais famoso é o inoculante para a cultura da soja. Resultados com experimentos de inoculação, por exemplo, com *Azospirillum*, verificaram-se uma grande variabilidade nos resultados em culturas como trigo, arroz, milho e sorgo, onde em média de incremento no rendimento das culturas estava em torno de 20-30%.

Esta variabilidade nos resultados sob a tecnologia de inoculação pode estar relacionada à várias fases do processo que se devem ao limitado conhecimento sobre o potencial de uso destes organismos. Neste processo um dos complicadores é a transferência do N fixado para a planta que ocorre muito lentamente e apenas uma pequena parte torna-se disponível para o vegetal (Dommelen et al., 1998). Outro fator ligado ao sucesso da inoculação refere-se à escolha da estirpe e o estágio fisiológico desta por ocasião da inoculação. O genótipo da planta também interfere na resposta à inoculação, como em estudos comprovados para a cultura do milho (Bouton et al., 1985), milho (Garcia de Salomone et al., 1996) e trigo (Kapulnik et al., 1987). Em trabalhos com a cultura de cana-de-açúcar os estudos desenvolvidos por Urquiaga et al. (1992) mostram claramente a diferença entre variedades quanto ao ganho de N derivado da FBN, apesar de que nestes experimentos as plantas não foram inoculadas.

Contudo, avanços nessas pesquisas com bactérias diazotróficas para inoculação em não leguminosas, ainda estão sendo feitos com resultados cada vez mais promissores, mais com um caminho longo a ser percorrido para que se afirme positivamente um inoculante

específico para estas culturas, assim como já existente para a cultura da soja, que favoreçam e promovam o crescimento vegetal. Através de diversos mecanismos e que auxiliem seja na maior absorção de água e nutrientes, fixe o nitrogênio do ar, e outros efeitos benéficos para as plantas. Mas um fator que impede o sucesso maior está relacionado ao estabelecimento de um programa de seleção de estirpes que deve ser testado em vários locais e variedades, visando estabelecer as condições ideais de uso da tecnologia. Em sintonia bactéria-hospedeiro pode indicar que algumas linhagens são mais receptivas do que outras e buscar neste material genético com diferencial de seleção para que possa ser incorporado em novos programas de melhoramento (Reis, 2007).

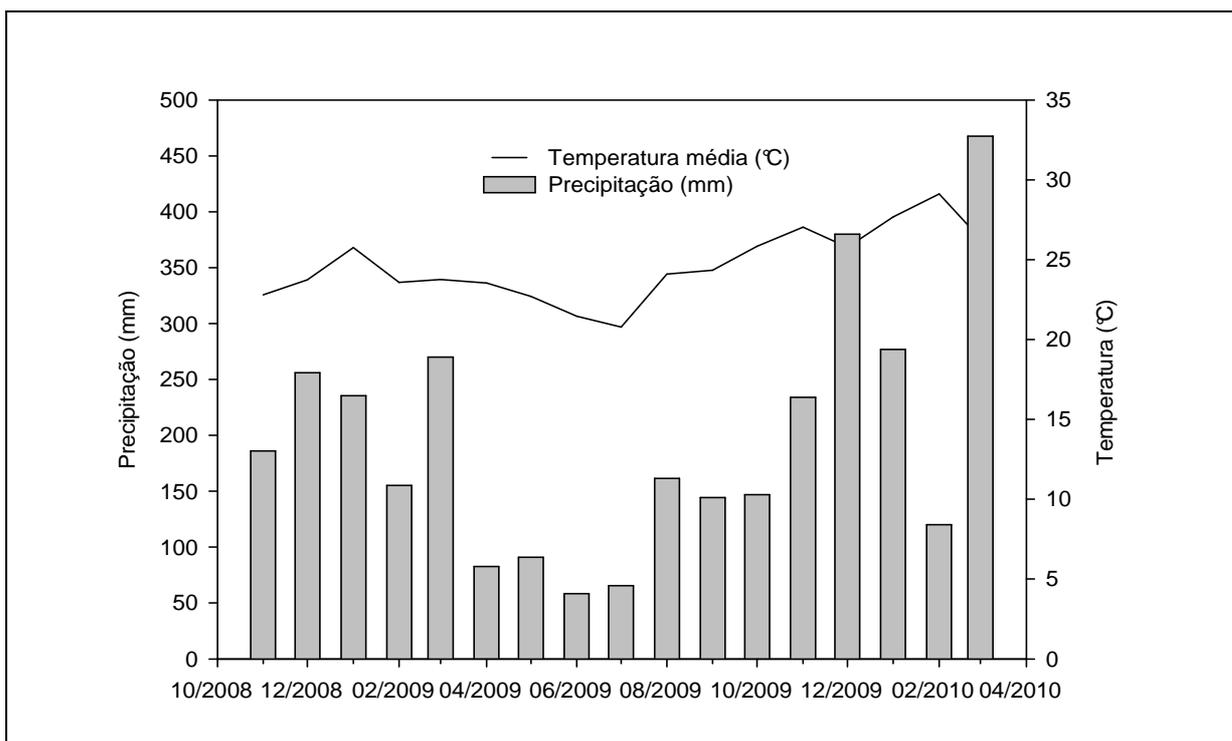
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Avaliação do Rendimento e da Qualidade da Biomassa de Seis Genótipos de Capim-Elefante. EXPERIMENTO I.

##### 3.1.1 Localização e características do solo e clima da área experimental.

O estudo foi desenvolvido, no campo experimental da EMBRAPA-Agrobiologia, localizado no município de Seropédica, Rio de Janeiro. Sua localização se dá entre os paralelos 22° 49' e 22° 45' de latitude sul e os meridianos 43° 38' e 43° 42' de longitude oeste de Greenwich, numa altitude de 33 metros. O experimento foi instalado em um tanque de concreto de 120 m<sup>2</sup> (20,0 x 6,0 x 0,4 m) preenchido com aproximadamente 80 Mg de terra do horizonte B de um Argissolo Vermelho Amarelo, série Itaguaí (RJ), que tinha sido empregado por vários anos em estudos de quantificação da FBN associada à cultura de Braquiária.

Em relação ao clima, nesta região predomina uma dinâmica com período de verão chuvoso e inverno de estiagem. O período quente e úmido tem início em setembro com aumento da intensidade das chuvas e temperatura entre os meses de dezembro e janeiro, decrescendo nos meses de março e abril onde começa a ocorrer um período de secas mais freqüente e diminuição da temperatura, alcançando sua mínima no mês de julho. Os valores das variáveis climáticas durante 1º e 2º ciclo de desenvolvimento da cultura na região de cultivo estão apresentados na figura 1.



**Figura 1** – Dados de temperatura média (°C) e precipitação (mm) durante o cultivo de capim-elefante entre os meses de (novembro/2008 a março/2010), em Seropédica-RJ.

Para este experimento, com o intuito de ter o solo uniformemente marcado com  $^{15}\text{N}$ , a terra de todo o tanque foi revolvida e misturada de forma semelhante a uma aração. A recomendação de adubação foi baseada nos resultados da análise química de amostra da terra (Tabela 1), onde as quantidades consistiram na aplicação do equivalente a  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  na forma de superfosfato simples,  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  na forma de cloreto de potássio, e  $50 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de mistura de micronutrientes (FTE-BR12), aplicados no fundo do sulco de 0,2 m. As doses de fósforo, potássio e micronutrientes foram aplicados na cultura de forma a garantir que somente o nitrogênio seja o fator limitante para o seu desenvolvimento, o qual permitirá aumentar a exatidão da estimativa da FBN para a mesma.

**Tabela 1** – Resultado da análise de fertilidade do solo no início do experimento, antes do revolvimento (novembro, 2008)

Profundidade	pH <sub>H2O</sub>	N	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	Al <sup>+3</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	P	K <sup>+</sup>
cm		g/kg	‰	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>			mg dm <sup>-3</sup>	
0 - 10	5,1	0,8	49,68 ± 6	0,2	2,5	1,5	5	70
10 - 20	5,5			0	2,9	1,2	3	31
20 - 30	7,4			0	5,8	0,9	1	43

pH<sub>H2O</sub>; Al<sup>+3</sup>; Ca<sup>+2</sup>; Mg<sup>+2</sup>; K; P (EMBRAPA, 1999).  $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . Resultados de análise Espectrômetro de massa. N – Método semimicro-Kjeldahl (Alves et al., 1994).

### 3.1.2 Tratamentos e delineamento experimental.

Os seis genótipos de capim-elefante escolhidos para este estudo foram: Cameroon, BAG 02, Roxo, Clone CNPGL 93-41-1, CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 07 1. Estes genótipos foram selecionados por sua rusticidade e alto potencial de produção de biomassa. Nesse caso se espera que, quando estes genótipos forem cultivados em solos de baixa fertilidade, se potencialize a característica de eficiência da FBN associadas aos mesmos.

O delineamento experimental aplicado foi o de Blocos ao Acaso em parcelas divididas, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas pelos tratamentos de inoculação (inoculado e não inoculado), e as sub-parcelas foram constituídas pelos seis

genótipos de capim em estudo. A unidade experimental básica dos genótipos é formada por uma linha de 3 metros espaçadas de 0,8 metros, totalizando 2,4 m<sup>2</sup>.

Uma observação importante a ser atribuída, que após os resultados alcançados, e visto a discrepância desses para rendimento de biomassa seca e acúmulo de nitrogênio na parte aérea do genótipo CNPGL 07 1 em relação aos demais, optamos em analisá-los para comparações estatísticas somente os cinco genótipos restantes, ficando uma análise 2 X 5 (02 tratamentos e 05 genótipos) para todas variáveis analisadas.

### 3.1.3 Implantação e condução do experimento

Os sulcos foram abertos à 0,2 m de profundidade com enxadão, e os adubos foram misturados no fundo dos sulcos com uso de enxadas. O experimento foi implantado em dezembro de 2008, sendo o plantio realizado através de toletes-semente de aproximadamente 45 cm contendo três gemas cada, que foram enterrados a 0,15 m de profundidade. Os toletes de capim-elefante dos genótipos BAG 02, Cameroon, CNPGL F06 3 e Roxo, foram retirados do banco de germoplasma da área experimental da Embrapa Agrobiologia e os toletes do genótipo CNPGL 93 41 1 e as sementes botânicas do genótipo CNPGL 07 1, foram disponibilizados pela Embrapa Gado de Leite. Os toletes foram selecionados de acordo com o seu vigor, não apresentando sintomas de ferimentos, para melhor germinação das plantas.

No plantio teve-se o cuidado de colocar os toletes-semente em duas linhas juntas com o intuito de obter uma população uniforme de plantas. No caso dos tratamentos com inoculação, os colmos foram inoculados utilizando um coquetel, mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas: estirpes PAL5 de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, estirpes CBamc de *Azospirillum amazonense*, estirpes HRC54 de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpes HCC103 de *H. rubrisubalbicans* e estirpes PPe8<sup>T</sup> de *Burkholderia tropica* (Reis et al., 2001). Todas as bactérias do inoculante foram crescidas em meio de cultura rico (Dygs), seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2002). Para o processo de inoculação foi usado o coquetel contendo as cinco estirpes de bactérias diazotróficas, misturando em 100 litros de solução, no qual os toletes-semente de capim foram deixados submersos por 60 minutos, e em seguida postos para enxugar à sombra por 30 minutos. Deve-se destacar que o genótipo CNPGL 07 1 foi plantado através de semente botânica, e a inoculação foi realizada similar aos toletes dos outros genótipos.

Durante a condução do experimento, foram efetuadas capinas mecânicas de acordo com as necessidades da cultura e do mesmo modo foi feita a irrigação. Após cada colheita foi

realizada a re-inoculação das parcelas dos tratamentos com inoculação, aplicando o coquetel de bactérias diazotróficas (inoculante) dissolvido em água sobre as plantas recém cortadas. As adubações de manutenção com fósforo, potássio e micronutrientes foram aplicadas em todo o experimento nas doses de  $100 \text{ Kg.ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$ ,  $180 \text{ Kg.ha}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$  e  $50 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ FTE Br 12}$ , em duas aplicações, 45 e 60 dias após o corte.

#### **3.1.4 Produção de biomassa seca de capim-elefante e nitrogênio total acumulado.**

Os tratamentos foram avaliados a partir do corte do capim-elefante após as plantas atingirem seu ponto de maturação fisiológica, aproximadamente com 6 meses após o plantio. Foram avaliadas duas colheita neste experimento, a primeira em junho de 2009 e a segunda em janeiro de 2010.

Durante as colheitas, os genótipos foram cortados rente ao solo, e foram coletadas aleatoriamente 10 plantas de cada unidade experimental para a estimativa da relação colmo/folha dos genótipos de capim-elefante, para depois serem submetidas às análises químicas (nutrientes e teores de fibras e seus componentes). A biomassa das parcelas foram pesada fresca e retirada sub-amostras que em seguida foram levadas à estufa de secagem a  $65^\circ\text{C}$ , até estabilização de seus pesos, quando então se determinou a fração de matéria seca das plantas. Após esta etapa as amostras de plantas foram pré-moídas em moinho tipo Wiley (peneiras de 2 mm) e, em seguida levadas para moinho de rolagem até a pulverização (Smith & Myung, 1990). Após a pulverização das amostras, estas foram submetidas para análises do teor de N-total, relação C/N, poder calorífico superior, fibras em detergente ácido, celulose, lignina e cinzas.

#### **3.1.5 Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha.**

A relação carbono/nitrogênio (C/N) é um parâmetro que expressa a eficiência da planta em acumular carbono por unidade de N absorvido, sendo um dos parâmetros relevantes para se avaliar a capacidade que o capim-elefante tem em acumular energia. Este foi calculado para os diferentes genótipos em avaliação, através da divisão do teor de carbono total na matéria seca (45% da biomassa seca, um valor médio baseado em dados de literatura) pelo teor de nitrogênio acumulado na matéria seca, fornecendo então um valor médio para esta relação. A partir do valor apresentado, foi possível avaliar a capacidade dos genótipos em acumular biomassa por unidade de N, a qual está associada com a eficiência energética dos genótipos em estudo.

Analogamente, a relação talo/folha (T/F), outro parâmetro indicador associado com a qualidade energética da biomassa da cultura, foi obtida pela divisão da biomassa seca total de colmos produzidos pelo total da biomassa seca das folhas de cada genótipo, para isto foram coletadas aleatoriamente 10 plantas de capim-elefante de cada parcela.

### **3.1.6 Análise de fibras totais**

As análises das fibras FDA e seus componentes foram realizados conforme proposto por Van Soest & Wine (1968). Este método gravimétrico de determinação da qualidade das forrageiras é baseado na separação das diversas frações constituintes da biomassa de plantas, por meios de reagentes específicos, denominados detergentes. Assim, por meio do detergente neutro, é possível separar o conteúdo celular (parte da forragem solúvel no detergente neutro) constituído principalmente, de proteínas, gorduras, carboidratos solúveis, pectina e outros constituintes solúveis em água.

Continuando em seu fracionamento, com 1.0g de amostra, Van Soest & Wine, 1968 propõe o uso de um detergente ácido específico, a fim de solubilizar o conteúdo celular e a hemicelulose, além da maior parte de proteína insolúvel, obtendo-se um resíduo insolúvel no detergente ácido, denominado Fibra em Detergente Ácido (FDA), constituída, em sua quase totalidade de lignina e celulose (lignocelulose). Finalmente, pelo intermédio do reagente permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ), a lignina é fortemente oxidada e solubilizada, completando-se deste modo, o fracionamento dos constituintes da parede celular. A celulose será conhecida, por diferença de pesagens, antes e depois de levar os cadinhos à mufla ( $500^\circ\text{C} \pm 10$ ), para a determinação das Cinzas Insolúvel em Detergente Ácido (CIDA).

O método sugerido por Van Soest, para a determinação da qualidade da biomassa de forrageiras, apresenta vantagens em relação a outros métodos, em virtude de sua precisão e rapidez, além de fornecer informações sobre importantes componentes do tecido vegetal como o conteúdo celular, e a parede celular.

### **3.1.7 Poder Calorífico Superior da biomassa de capim-elefante**

O poder calorífico pode ser definido como sendo a quantidade de energia na forma de calor liberada pela combustão de uma unidade de massa de um material. Existem duas formas de considerar o poder calorífico, Poder Calorífico Superior (PCS) e o Poder Calorífico Inferior (PCI). O poder calorífico superior é aquele em que a combustão se efetua a volume constante e no qual a água formada durante a combustão é condensada e o calor que é

derivado desta condensação é recuperado. Já o poder calorífico inferior é a energia efetivamente disponível por unidade de massa de combustível após deduzir as perdas com a evaporação da água (Quirino et al., 2005 citando Jara, 1989). Então por exemplo para combustíveis que não contenham hidrogênio na sua composição, o valor de PCS e PCI são os mesmos, pois não há formação de água, e conseqüentemente não há energia gasta na sua vaporização. Assim o PCS é sempre maior ou igual ao PCI, pois aproveita a entalpia de condensação da água.

Para o nosso estudo, foi feito o levantamento do poder calorífico superior, determinado pelo método da bomba calorimétrica. As determinações foram realizadas através de parceria com a Embrapa Floresta (Centro Nacional de Pesquisas Florestais-CNPF). Os testes realizados foram feitos segundo a norma ABNT NBR 8633/84 e manual do calorímetro PARR 1201.

### **3.1.8 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas, com auxílio dos pacotes estatísticos Saeg 9.1 e Sisvar 4.1 desenvolvidos nas Universidades Federais de Viçosa e Lavras, respectivamente. Para testar a normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros, foram utilizados os testes de Lilliefors e de Cochran-Bartley, respectivamente, contidos no programa estatístico Saeg 9.1. Foi feita a análise de variância (ANOVA) com a aplicação do teste F e, para as variáveis cujo teste for significativo, compararam-se as médias de tratamentos pelo teste de Scott-Knott, ( $p \leq 0,05$ ), com a utilização do pacote estatístico Sisvar 4.3.

## **3.2 Eficiência da Inoculação de Bactérias Diazotróficas em dois Genótipos de Capim-Elefante, sob Condições de Campo. EXPERIMENTO II**

### **3.2.1 Localização e características de solo e clima da área experimental.**

O estudo foi realizado, na área experimental da EMBRAPA-Agrobiologia, município de Seropédica, Rio de Janeiro. O experimento foi instalado diretamente no campo, em um Planossolo de textura franco arenosa, extremamente pobre em nutrientes, principalmente nitrogênio. Sendo suas características climáticas, semelhantes à do experimento I (Figura 1).

A recomendação de adubação e calagem foi baseada de acordo com os resultados da análise química de amostra de terra (Tabela 2) e com base no acúmulo médio destes nutrientes na biomassa da cultura do capim-elefante. As quantidades consistiram na aplicação do

equivalente a  $150 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  na forma de superfosfato simples,  $180 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  na forma de cloreto de potássio,  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de mistura de micronutrientes (FTE-Br12), aplicados no fundo do sulco de 0,2 m, e anteriormente a aplicação destes fertilizantes houve a aplicação de  $500 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de calcário dolomítico (CaO 25% e MgO 17%) incorporado ao solo antes do plantio, afim de elevar o conteúdo de cálcio e magnésio e corrigir o pH do solo. As doses desses nutrientes foram aplicadas de forma a garantir que somente o nitrogênio seja o fator limitante para o desenvolvimento da cultura, o qual permitirá aumentar a exatidão da estimativa da FBN para a mesma, nos tratamentos onde não tenham N-fertilizante aplicado em cobertura.

**Tabela 2** – Resultados da análise de fertilidade do solo no início do experimento (março, 2009)

Profundidade	pH H <sub>2</sub> O	N	Al <sup>+3</sup>	Ca + Mg	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	P	K <sup>+</sup>
(cm)		g/kg	Cmolc·dm <sup>-3</sup>				mg·dm <sup>-3</sup>	
<b>0 - 15</b>	5,7	0,6	0,1	1,7	1,5	0,2	3	18
<b>15 - 30</b>	5,5	0,4	0,1	1,8	1,6	0,2	3	18
<b>30 - 45</b>	5,3	0,3	0,1	1,4	1	0,4	2	12

pH<sub>H2O</sub>; Al<sup>+3</sup>; Ca<sup>+2</sup>; Mg<sup>+2</sup>; K; P (EMBRAPA, 1999). . N – Método semimicro-Kjeldahl (Alves et al., 1994).

### 3.2.2 Tratamentos e delineamento experimental.

Foram selecionados dois genótipos de capim-elefante: Cameroon e BAG 02. Estes foram escolhidos devido ao sucesso em experimentos de anos anteriores, onde se destacaram por suas produtividades e contribuição da FBN (Morais, 2008 e Quesada, 2005). Além de que estes genótipos são promissores, por sua rusticidade e baixa exigência na fertilidade dos solos, onde se espera que neste estudo se potencialize a característica de eficiência da FBN associadas às estas plantas.

O experimento consistiu do plantio destes 02 genótipos de capim-elefante (BAG 02 e Cameroon), sendo que estes materiais receberam 04 tratamentos: inoculação com inoculante comercial atualmente utilizado em cultivo de cana-de-açúcar com bactérias diazotróficas isoladas de cultivo desta cultura; inoculante +  $100 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  na forma de uréia em duas aplicações de cobertura, a primeira com 50% da dose aos 45 DAP (dias após o plantio) e os restantes 50% 60 DAP; outro tratamento somente com os  $100 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ , também feito em

duas aplicações; e o último tratamento, a testemunha sem aplicação de nitrogênio e sem inoculante.

Cada unidade experimental constitui-se de 04 linhas de 05 m (metros) de comprimento, espaçadas de 01 m, totalizando em cada parcela uma área de 20 m<sup>2</sup>. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso em um esquema fatorial 2 x 4 (dois genótipos; com aplicação de 100 kg.N; com aplicação do inoculante de bactérias diazotróficas; com aplicação de 100 kg.N + inoculante de bactérias diazotróficas, e controle) com 04 repetições, totalizando 32 unidades experimentais (Quadro 1).

<b>Quadro 01 - Descrição dos tratamentos</b>
T 01 – BAG 02 Testemunha
T 02 – BAG 02 com Inoculação
T 03 – BAG 02 com Inoculação + N
T 04 – BAG 02 somente com N
T 05 – Cameroon Testemunha
T 06 – Cameroon com Inoculação
T 07 – Cameroon com Inoculação + N
T 08 – Cameroon somente com N

### **3.2.3 Implantação e condução do experimento.**

O experimento foi instalado em maio de 2009. A área foi preparada mecanicamente, no modelo de preparo convencional com aração e gradagem. Foi aplicado durante o preparo do solo 500 kg de calcário dolomítico com PRNT 100%. Os adubos contendo fósforo, potássio e micronutrientes foram aplicados no plantio, no fundo do sulco.

Os toletes de capim-elefante foram retirados do banco de germoplasma da área experimental da Embrapa Agrobiologia, selecionados de acordo com o vigor dos toletes, não apresentando sintomas de ferimentos, para melhor estabelecimento da cultura. Os toletes foram cortados com aproximadamente 45 cm contendo três gemas cada, que foram enterrados a 0,15 m de profundidade.

No plantio teve-se o cuidado de colocar os toletes de capim-elefante em duas linhas juntas com o intuito de obter uma população uniforme de plantas. No caso dos tratamentos com inoculação, os colmos foram inoculados previamente utilizando uma mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas: estirpes PAL5 de *Gluconacetobacter diazotrophicus*,

estirpes CBamc de *Azospirillum amazonense*, estirpes HRC54 de *Herbaspirillum seropedicae*, estirpes HCC103 de *H. rubrisubalbicans* e estirpes PPe8<sup>T</sup> de *Burkholderia tropica* (Reis et al., 2001). Todas as bactérias do inoculante foram crescidas como descrito (Oliveira et al., 2002), e o processo de inoculação foi o mesmo descrito para o experimento anterior.

Durante o período experimental, foram efetuadas capinas mecânicas de acordo com as necessidades da cultura e da mesma forma foi aplicada irrigação.

Nos tratamentos que receberam aplicação de nitrogênio fertilizante em cobertura, a aplicação foi realizada a lanço sem incorporação em dois momentos: metade da dose aos 45 DAP e a segunda metade aos 60 DAP. O fertilizante químico rico em nitrogênio utilizado foi à uréia. Para o primeiro ciclo de desenvolvimento do capim-elefante, as parcelas que continham os tratamentos com N fertilizante, receberam numa micro-parcela (2 m<sup>2</sup>) uréia marcada com 0,7% átomos de <sup>15</sup>N em excesso.

Após cada colheita foram realizadas a re-inoculação das parcelas que continham os tratamentos com inoculação, aplicando o coquetel de bactérias (inoculante) dissolvido em água sobre as plantas recém cortadas. As adubações de manutenção com fósforo, potássio e micronutrientes foram aplicadas em todo o experimento nas doses de 100 Kg.ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 180 Kg.ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O e 50 Kg ha<sup>-1</sup> FTE Br 12, fracionados em duas aplicações após a rebrota das plantas (30 e 45 dias após o corte). Os tratamentos com aplicação de nitrogênio fertilizante, após cada corte foram novamente aplicados à lanço, sendo as doses de N fracionadas em duas aplicações, metade da dose 30 dias após o corte (DAC) e a segunda metade 45 DAC. Entretanto, somente para o primeiro ciclo da cultura foi utilizada uréia marcada, sendo que após o primeiro corte empregou-se uréia convencional.

#### **3.2.4 Produção de biomassa seca de capim-elefante e nitrogênio total acumulado.**

Os tratamentos foram avaliados a partir do corte da biomassa aérea do capim-elefante após atingir seu ponto de maturação fisiológica, aproximadamente com 06 meses após o plantio.

Por ocasião da colheita, os tratamentos de capim-elefante foram cortados rente ao solo, separando a parte aérea das plantas em caule e folha, para depois serem submetidas às análises químicas (nutrientes e qualidade dos tecidos). A biomassa das parcelas, separadas em caule e folha, foram pesadas frescas e retiradas sub-amostras que em seguida foram levadas à estufa de secagem a 65°C até estabilização de seus pesos, quando então se determinou a

fração de matéria seca das plantas. Dentro das parcelas que continham os tratamentos com N fertilizante, onde durante o primeiro ciclo aplicou-se uréia marcada, foram retiradas amostras das micro-parcelas, onde se teve o minucioso cuidado em todas as etapas de processamento das amostras para não contaminação dos materiais. Após a etapa de secagem, as amostras de plantas foram pré-moídas em moinho tipo Wiley (peneiras de 2 mm) e, em seguida levadas para moinho de rolagem até a pulverização (Smith & Myung, 1990). Após a pulverização das amostras, estas foram submetidas para análises do teor de N-total, relação C/N, fibra em detergente neutro e cinzas.

### **3.2.5 Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha.**

No estudo da relação carbono/nitrogênio (C/N) e talo/folha (T/F), as suas determinações foram realizadas como descrito no experimento I.

### **3.2.6 Análise de fibras em detergente neutro.**

Método gravimétrico, proposto por Van Soest & Wine (1968) é baseado na separação das diversas frações constituintes da biomassa de plantas, por meios de reagentes específicos, denominados detergentes. O uso do detergente neutro específico, dos constituintes da parede celular obtendo-se um resíduo no detergente neutro, denominado Fibra em detergente Neutro (FDN), constituída em sua quase totalidade de lignina e celulose (lignocelulose), baseando-se na % dos constituintes da parede celular.

### **3.2.7 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas, com auxílio dos pacotes estatísticos Saeg 9.1 e Sisvar 4.1 desenvolvidos nas Universidades Federais de Viçosa e Lavras, respectivamente. Para testar a normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros, foram utilizados os testes de Lilliefors e de Cochran-Bartley, respectivamente, contidos no programa estatístico Saeg 9.1. Foi feita a análise de variância (ANOVA) com a aplicação do teste F e, para as variáveis cujo teste for significativo, compararam-se as médias de tratamentos pelo teste de Scott-Knott, ( $p \leq 0,05$ ), com a utilização do pacote estatístico Sisvar 4.3. Diferindo do experimento anterior que neste caso foi feito em esquema fatorial.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação do Rendimento e da Qualidade da Biomassa de Seis Genótipos de Capim-Elefante. EXPERIMENTO I.

#### 4.1.1 Produção de biomassa

Os resultados apresentados a seguir são referentes ao rendimento da biomassa seca obtidos durante um ano de cultivo, para 06 genótipos de capim-elefante cultivados em um tanque com terra marcada com  $^{15}\text{N}$ , sob os tratamentos com e sem inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas. Estes rendimentos correspondem ao período de cultivo de final de dezembro de 2008 a início de Janeiro de 2010 (Tabela 3). O rendimento médio total dos 05 genótipos para avaliação após os 2 ciclos, esteve em torno de  $29 \text{ Mg de MS.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$ , sem influência dos tratamentos de inoculação.

Em geral, não foi observada interação significativa entre genótipos e a inoculação nos dois ciclos de cultivo. No entanto para o rendimento de biomassa de colmo do genótipo CNPGL F06-3, durante o primeiro ciclo, foi observado que a inoculação promoveu um incremento de produtividade de  $2,6 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ .

Em números absolutos para o total de biomassa produzida em 12 meses, os genótipos que mais se destacaram foram CNPGL F06-3 e Cameroon seguidos de BAG 02 e CNPGL 93 41 1 que apresentaram produtividades de matéria seca de 41, 32, 27 e 27  $\text{Mg.ha}^{-1}$ , respectivamente, quando inoculados, e 37, 33, 29 e 29  $\text{Mg.ha}^{-1}$ , respectivamente, quando não inoculados, destacando o maior potencial para o genótipo CNPGL F 06-3, que apresentou-se com um rendimento de biomassa em torno de 40 % acima da média.

No que diz respeito à variabilidade entre genótipos, para o primeiro e segundo ciclo, podemos observar que o genótipo CNPGL 07 1 foi o que apresentou os menores rendimentos de colmos e folhas, produzindo em média  $3,5 \text{ Mg.ha}^{-1}$  para os tratamentos com inoculação no 1º ciclo e  $4,0 \text{ Mg.ha}^{-1}$  para os tratamentos sem inoculação durante o segundo ciclo.

**Tabela 3** - Resultado de rendimento de biomassa seca (Mg.ha<sup>-1</sup>), de 06 genótipos de capim-elfante, cultivado em um Argissolo marcado com <sup>15</sup>N, sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas.

Genótipo	1° Ciclo			2° Ciclo			Total 12 meses
	Colmo	Folha	Total	Colmo	Folha	Total	
<b>Inoculado</b>							
<b>CNPGL 07 1*</b>	1,8	1,9	<b>3,7</b>	1,8	1,5	<b>3,3</b>	7,0
<b>CNPGL F06 3</b>	11,6 Aa	8,3 Aa	<b>19,9 Aa</b>	14,7 Aa	6,8 Aa	<b>21,5 Aa</b>	41,4 Aa
<b>Cameroon</b>	9,2 Ab	6,6 Aa	<b>15,8 Ab</b>	9,1 Ab	7,0 Aa	<b>16,1 Ab</b>	31,9 Ab
<b>CNPGL 93 41 1</b>	8,1 Ab	5,1 Ab	<b>13,2 Ac</b>	8,8 Ab	5,3 Ab	<b>14,1 Ab</b>	27,3 Ac
<b>BAG 02</b>	6,4 Ac	5,5 Ab	<b>11,9 Ac</b>	9,8 Ab	5,6 Ab	<b>15,4 Ab</b>	27,3 Ac
<b>Roxo</b>	4,4 Ac	3,9 Ab	<b>8,3 Ad</b>	4,7 Ac	3,8 Ab	<b>8,5 Ac</b>	16,8 Ad
<b>Média</b>	<b>7,9 A</b>	<b>5,9 A</b>	<b>13,8 A</b>	<b>9,4 A</b>	<b>5,7 A</b>	<b>15,1 A</b>	<b>28,9 A</b>
<b>Não Inoculado</b>							
<b>CNPGL 07 1*</b>	1,8	2,1	<b>3,9</b>	2,2	1,9	<b>4,1</b>	8,0
<b>CNPGL F06 3</b>	8,9 Ba	8,3 Aa	<b>17,2 Aa</b>	14,3 Aa	6,0 Aa	<b>20,3 Aa</b>	37,5 Aa
<b>Cameroon</b>	7,3 Aa	7,7 Aa	<b>15,0 Aa</b>	10,6 Aa	7,3 Aa	<b>17,9 Aa</b>	32,9 Aa
<b>CNPGL 93 41 1</b>	8,5 Aa	5,1 Ab	<b>13,6 Aa</b>	9,5 Aa	5,6 Aa	<b>15,1 Aa</b>	28,7 Ab
<b>BAG 02</b>	5,5 Ab	6,1 Ab	<b>11,6 Ab</b>	10,7 Aa	6,3 Aa	<b>17,0 Aa</b>	28,6 Ab
<b>Roxo</b>	3,5 Ab	4,3 Ab	<b>7,8 Ac</b>	4,8 Ab	3,7 Ab	<b>8,5 Ab</b>	16,3 Ac
<b>Média</b>	<b>6,7 A</b>	<b>6,3 A</b>	<b>13,0 A</b>	<b>10,0 A</b>	<b>5,8 A</b>	<b>15,7 A</b>	<b>28,7 A</b>
<b>C.V.1</b>	<b>23,0</b>	<b>13,6</b>	<b>18,8</b>	<b>22,0</b>	<b>7,6</b>	<b>13,4</b>	<b>9,7</b>
<b>C.V.2</b>	<b>20,7</b>	<b>25,2</b>	<b>17,9</b>	<b>29,7</b>	<b>22,8</b>	<b>24,7</b>	<b>17,7</b>

\* Rendimentos médios de produtividade não inclusos para comparações estatísticas.

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (tratamentos) e minúsculas (genótipos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

O genótipo CNPGL 07 1 é um híbrido produzido pelo programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite para reunir na planta, características desejáveis de capim-elfante e milheto (*Pennisetum americanum*). Deste cruzamento resultou um híbrido interespecífico triploide, estéril, que, morfologicamente, se assemelha ao capim-elfante e apresenta algumas características intermediárias entre as duas espécies parentais (Hanna, 1999). Destacando entre as características de capim-elfante pela sua boa qualidade de forragem e palatabilidade,

vigor, perenidade, elevada produção de matéria seca, baixa incidência de pragas e alta eficiência fotossintética, e para o caso dos genótipos de milho boa resistência a doenças, tolerância à seca e a baixos níveis de fertilidade do solo, produção de sementes não deiscentes e elevado rendimento de matéria seca (Campos, 2007). Entretanto por ser uma nova estratégia de produção ainda não há resultados em nível de campo com este novo genótipo, e acredita-se que sob nossas condições climáticas de cultivo, esta espécie não tenha expressado seu total potencial de desenvolvimento, devido principalmente ao fotoperíodo, visto seu precoce florescimento. Comparando os resultados com o híbrido CNPGL 07 1 com os resultados encontrados por Souza Sobrinho et al., (2005) que avaliaram o rendimento de matéria seca de 40 híbridos interespecíficos (entre milho e capim-elefante) no Campo Experimental de Coronel Pacheco-MG da Embrapa Gado de Leite entre 2000 e 2003, os autores obtiveram um acúmulo médio de matéria seca de  $9,9 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , que são rendimentos relativamente superiores, do que os encontrados nesse estudo.

Por outro lado, os demais genótipos avaliados no estudo, destacando-se o genótipo CNPGL F06 3 e Cameroon, apresentaram os maiores rendimentos de biomassa, os quais são considerados altos (próximos ou superiores a  $20$  e  $30 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) no 1º e 2º ciclo, respectivamente. Vale destacar que os rendimentos de biomassa obtidos no 2º ciclo apresentaram incremento significativo para todos os genótipos estudados, em média este incremento foi superior a 10%, considerando a época e as condições climáticas do segundo ciclo (Figura 1), mais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento da cultura, o que possibilitou um maior acúmulo de biomassa seca dos diferentes genótipos de capim-elefante.

Estes resultados corroboram os encontrados por Quesada (2001 e 2005). Pereira et al. (1976), encontraram valores de produção de matéria seca de  $4,5 \text{ Mg}\cdot\text{MS}\cdot\text{ha}^{-1}$  em cinco meses de cultivo.

Morais et al. (2009b), avaliando a produção de matéria seca total em três ciclos de cultivo (18 meses) em cinco genótipos de capim-elefante (BAG 02, CNPGL F06 3, Gramafante, CNPGL F79 2, e Cameroon) obtiveram produtividades similares aos encontrados para o primeiro e o segundo ciclo neste estudo. Assim como Botrel et al. (2000), que avaliando o potencial forrageiro de novos clones de capim-elefante entre eles os genótipos Cameroon e CNPGL 91 F06 3 obtiveram rendimentos anuais médios de  $31,2$  e  $36,9 \text{ Mg}\cdot\text{MS}\cdot\text{ha}^{-1}$  respectivamente, para estes dois genótipos.

Estudando a produtividade de quatro genótipos de capim-elefante, dentre eles Cameroon e Roxo, Queiroz Filho et al. (1998), encontraram produtividades de  $19 \text{ Mg MS}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$ , mesmo com adubação de  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, na forma de sulfato de

amônio, valores similares aos encontrados no genótipo Roxo, 16,8 e 16,3 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> para inoculado e não inoculado, respectivamente, no entanto bem abaixo dos encontrados no genótipo Cameroon 31,9 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> (inoculado) e 32,9 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> (não inoculado). Fava (2008) avaliando clones de capim-elefante para a utilização em capineira no Cerrado Matogrossense obteve rendimentos médios para o genótipo CNPGL 93 41 1 de 42,4 Mg.MS.ha<sup>-1</sup> anual com aplicação de 200 kg.N.ha<sup>-1</sup>, sendo este genótipo ainda ter alcançado, segundo o autor, a maior altura de planta entre os genótipos estudados. Em nosso estudo, os genótipos que alcançaram maior altura foram CNPGL 93 41 1 e Cameroon (dados não apresentados). Xavier et al. (1998), estudando a estabilidade da produção de forragem de 49 cultivares de capim-elefante cultivados durante quatro anos, em solo com baixa disponibilidade de nitrogênio, encontraram que nos genótipos Cameroon, Roxo e BAG 02 em média uma produtividade 4,3; 3,6; 5,8 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, respectivamente. Os autores destacaram que, entre outras cultivares, o BAG 02 é um genótipo propício ao cultivo em solos pobre em N disponível. Levando em consideração os rendimentos obtidos neste estudo, também em solo muito pobre em N disponível, podemos observar superioridade de ganho em produtividade.

A adaptabilidade e o tipo de resposta a cada condição edafoclimática é característica particular a cada genótipo (Quesada, 2005). Com exceção dos genótipos CNPGL 07 1 e Roxo, os rendimentos de matéria seca dos demais genótipos avaliados neste estudo CNPGL F06 3 e Cameroon, seguidos de CNPGL 93 41 1 e BAG 02 são considerados excelentes quando estudados para finalidade energética, com uma média de rendimento superior a 27 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, para ambos os tratamentos de inoculação, similar aos resultados obtidos por Moraes et al. (2009), Moraes (2008) e Quesada (2005).

As elevadas produtividades obtidas por estes quatro genótipos, superiores a 27 Mg MSha<sup>-1</sup> em 12 meses de cultivo (dois ciclos), foram obtidos sem aplicação de N fertilizante. Esses resultados são de grande valia para os estudos que visam esta cultura como fonte alternativa de energia. Samson et al. (2005), fazendo o balanço energético da produção de biomassa de capim-elefante atribui uma produção média de 30 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> com uma aplicação de 60 kg.N.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, obtendo um balanço energético de aproximadamente 21:1. Então guardadas as mesmas produtividades poderia-se neste estudo alcançar um balanço energético superior a 26:1, visto que a influência do adubo nitrogenado no balanço energético (energia total produzida bem superior a energia total investida) pode superar 20 %. Isto torna bem promissor o uso do capim-elefante como fonte de energia e, quando comparado com o balanço energético de outras culturas potenciais em geração de energia, como a cana-de-

açúcar para o uso de etanol produzido no Brasil com valor de 9,4:1 (Soares et al., 2009), e outras gramíneas C<sub>4</sub> de clima temperado como o *Panicum virgatum* com valores de 14:1 (Samson et al., 2000), as taxas são relativamente altas. E comparando com o balanço energético da produção de etanol de milho de 1,2:1 (McLaughlin & Walsh, 1998), e o biodiesel derivado de colza (*Brassica napus*) com um balanço energético de 1,47:1 (Armstrong et al., 2002), os resultados com capim-elefante se tornam ainda mais promissores na utilização como fonte alternativa e renovável de energia.

#### **4.1.2 Acúmulo de nitrogênio na biomassa.**

Os resultados apresentados na Tabela 4 são referentes ao acúmulo de nitrogênio total na parte aérea das plantas de capim-elefante, no primeiro e segundo ciclo de cultivo. Pode-se observar que para os tratamentos com inoculação e sem inoculação somente houve diferença significativa no acúmulo de nitrogênio do colmo durante o 1º ciclo de cultivo, onde o genótipo CNPGL F06 3 apresentou os melhores resultados. Deve-se destacar que não obstante os maiores acúmulos de N ocorreram no primeiro ciclo, os maiores rendimentos de biomassa se deram no segundo ciclo.

Como é de conhecimento comum, o N é um dos elementos minerais requeridos em maiores quantidades pelas plantas e o que mais limita o seu crescimento. Ele faz parte de proteínas, ácidos nucleicos e muitos outros importantes constituintes celulares, incluindo membranas e diversos hormônios vegetais (Souza e Fernandes, 2006). A disponibilidade deste nutriente para os vegetais em sistemas naturais ocorre principalmente pela mineralização da matéria orgânica do solo (ciclagem de nutrientes), haja vista o pequeno conteúdo deste nutriente nos minerais do solo. Esta fração mineralizável está ainda sujeita as perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação, além da imobilização e adsorção pelas partículas do solo.

Os genótipos de capim-elefante que apresentaram maior produção de biomassa apresentaram em média os maiores acúmulos de N, com exceção do cultivar BAG 02 que alcançou menor produtividade que o CNPGL 93 41 1 no primeiro ciclo, mas que ainda assim obteve altos acúmulos de N. Estes resultados são similares aos obtidos por Quesada (2005) quando trabalhando com 04 genótipos com aplicação de 100 kg de N.ha<sup>-1</sup> no 2º corte, após 10 meses de cultivo, encontrou valores de acúmulo de N menores do que 75,4 kg de N.ha<sup>-1</sup>.

**Tabela 4** - Total acumulado de Nitrogênio ( $\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) por seis genótipos de capim-elefante, após um ano de cultivo em um Argissolo marcado com  $^{15}\text{N}$ , sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas.

Genótipo	1° Ciclo			2° Ciclo		
	Colmo	Folha	Total	Colmo	Folha	Total
	<b>Inoculado</b>					
<b>CNPGL 07 1*</b>	4,6	15,9	<b>20,5</b>	3,7	8,3	<b>12,0</b>
<b>CNPGL F06 3</b>	33,7 Aa	52,6 Aa	<b>86,3 Aa</b>	27,0 Aa	44,4 Aa	<b>71,4 Aa</b>
<b>Cameroon</b>	22,6 Ab	46,8 Aa	<b>69,4 Aa</b>	16,7 Aa	32,8 Aa	<b>49,5 Ab</b>
<b>CNPGL93 41 1</b>	20,7 Ab	24,9 Ab	<b>45,6 Ab</b>	20,0 Aa	27,4 Ab	<b>47,4 Ab</b>
<b>BAG 02</b>	18,3 Ab	37,7 Aa	<b>56,0 Ab</b>	17,3 Aa	34,4 Aa	<b>51,7 Ab</b>
<b>Roxo</b>	13,8 Ac	20,1 Ab	<b>33,9 Ab</b>	11,9 Aa	18,8 Ab	<b>30,7 Ab</b>
<b>Média</b>	<b>21,8 A</b>	<b>36,4 A</b>	<b>58,3 A</b>	<b>18,6 A</b>	<b>31,6 A</b>	<b>50,0 A</b>
	<b>Não Inoculado</b>					
<b>CNPGL 07 1*</b>	5,4	15,7	<b>21,1</b>	4,3	10,0	<b>14,3</b>
<b>CNPGL F06 3</b>	23,4 Ba	51,6 Aa	<b>75,0 Aa</b>	24,1 Aa	40,1 Aa	<b>64,2 Aa</b>
<b>Cameroon</b>	19,7 Aa	44,1 Aa	<b>63,8 Aa</b>	18,8 Aa	43,0 Aa	<b>61,8 Aa</b>
<b>CNPGL93 41 1</b>	21,7 Aa	26,9 Ab	<b>48,6 Ab</b>	22,5 Aa	30,9 Ab	<b>53,4 Aa</b>
<b>BAG 02</b>	14,3 Ab	39,8 Aa	<b>54,1 Ab</b>	20,4 Aa	38,2 Aa	<b>58,6 Aa</b>
<b>Roxo</b>	10,7 Ab	22,9 Ab	<b>33,6 Ab</b>	10,5 Ab	21,6 Ab	<b>32,1 Ab</b>
<b>Média</b>	<b>17,9 A</b>	<b>37,1 A</b>	<b>55,0 A</b>	<b>19,3 A</b>	<b>34,8 A</b>	<b>54,0 A</b>
<b>C.V.1</b>	<b>22,7</b>	<b>41,4</b>	<b>24,2</b>	<b>21,4</b>	<b>14,8</b>	<b>15,1</b>
<b>C.V.2</b>	<b>19,7</b>	<b>28,9</b>	<b>20,8</b>	<b>37,3</b>	<b>27,6</b>	<b>28,0</b>

\*Resultados de acúmulo de N na parte aérea que não estão inclusos nas análises estatísticas. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (tratamento) e minúsculas (genótipo) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Para os tratamentos com inoculação destaca-se o genótipo CNPGL F06 3 com um acúmulo médio de  $86,3 \text{ kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$  e o genótipo Cameroon com um acúmulo médio de  $69,4 \text{ kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$  no primeiro ciclo e o genótipo CNPGL F06 3 com  $71,4 \text{ kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$  no segundo ciclo, seguido dos genótipos Cameroon, BAG 02 e CNPGL 93 41 1. Para os tratamentos sem inoculação, no primeiro ciclo, os maiores acúmulos, observou-se nos genótipos CNPGL F06 3 e Cameroon, com  $75,0$  e  $63,8 \text{ kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$ , respectivamente, no segundo ciclo também sem

inoculação, os maiores acúmulos foram obtidos nos genótipos CNPGL F06 3, Cameroon, BAG 02 e CNPGL 93 41 1, não diferindo estatisticamente entre eles. Considerados estes os melhores genótipos do estudo em relação acúmulo de N, os valores estão abaixo dos encontrados por Morais (2008), quando cultivando 05 genótipos entre eles (BAG 02, Cameroon e CNPGL F06 3) conseguiu um acúmulo de N médio de 200 Kg de N.ha<sup>-1</sup> após 12 meses de cultivo, onde aplicou-se 50 kg de N.ha<sup>-1</sup>. Esta aplicação de N é relativamente baixa, mas para o caso de solos muito pobres em N disponível, a adição deste nutriente, por mais baixa que seja se faz necessário, seja esta feita via aplicação de N fertilizante (Morais, 2008), e/ou via consórcios ou rotação de cultura com leguminosas que aportam N para o sistema solo (Quesada, 2001). Pequenas aplicações deste nutriente contribuem para aumentar sensivelmente a produção de biomassa, sem alterar significativamente o balanço energético, tal como observado por Samson et al. (2005), que aplicando 60 kg de N ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, obteve um balanço energético (energia total produzida menos energia total investida) superior a 21:1, o que é muito satisfatório quando comparados com outras culturas com mesma finalidade, indicado anteriormente.

Assim como ocorreu no rendimento de massa seca, os dois genótipos de capim-elfante Roxo e CNPGL 07 1 apresentaram um menor acúmulo de nitrogênio na parte aérea, onde para o caso do genótipo Roxo, somando os dois ciclos acumulou ao redor de 65 kg de N.ha<sup>-1</sup> sem influencia da inoculação. Estudos que referenciem o acúmulo de N para o genótipo CNPGL 07 1 ainda não são encontrados em literatura. Já para o genótipo Roxo, Flores (2009), trabalhando em solos de Cerrado com boa fertilidade e aplicação de 100 kg de N.ha<sup>-1</sup> aplicada em cobertura obteve em média acúmulos próximos a 500 kg de N.ha<sup>-1</sup>, após 180 dias de cultivo, valores relativamente superiores aos encontrados em nossos estudos. Morais (2008), também estudando este genótipo em um Planossolo sob condições de Mata Atlântica obtiveram acúmulos médios superiores a 200 kg de N.ha<sup>-1</sup> após dois ciclos de cultivo.

Os cinco genótipos de capim em estudo, apresentaram um acúmulo médio de nitrogênio na biomassa aérea, nos dois ciclos, ao redor de 110 kg de N.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>. Tratando-se de um solo extremamente pobre em N disponível, estes resultados nos levam a pensar que, guardadas as proporções, deve existir um sistema associado ao cultivo desta espécie que esteja promovendo entrada significativa de nitrogênio no sistema, que esteja permitindo alto acúmulo de N pelas plantas, visto que o estoque de N neste solo não supre os acúmulos obtidos, e que com o seguidos cortes o reservatório do solo tende ser ainda menores. O fenômeno da FBN associado a culturas como esta, em solos tropicais, pode estar assumindo o

papel para a nutrição nitrogenada da cultura, como já observado em trabalhos anteriores (Quesada, 2005; Silva et al., 2010; Reis et al., 2001 e Moraes et al., 2009a), como também para um balanço positivo de C no sistema solo-planta em questão (Urquiaga et al., 2004), e um balanço energético próximo ou até mesmo superior aos encontrados por Samson et al., (2005).

Em relação ao processo de Inoculação com uma mistura de Bactérias diazotróficas (Coquetel de bactérias) isoladas de plantios de cana-de-açúcar comercialmente utilizadas para esta cultura, em capim-elefante, assim como ocorreu para a maioria dos genótipos no acúmulo de massa seca (Tabela 3), o resultado de acúmulo de N (Tabela 4) também não mostraram resposta aos tratamentos de inoculação. Entretanto em estudos conduzidos em Campos dos Goytacazes, RJ, em usinas de cana-de-açúcar, Reis et al. (2009), encontraram resposta significativa à inoculação com coquetel de bactérias diazotróficas na cultura de cana-de-açúcar, especialmente na variedade RB867515, concluindo ainda que este inoculante sob aquelas condições, para esta variedade, é possível substituir em até 100 % a adubação nitrogenada no primeiro ano de cultivo sem redução da produtividade. Estes resultados mostram o potencial da FBN na nutrição nitrogenada desta cultura energética.

#### **4.1.3 Relação carbono/nitrogênio e relação talo/folha.**

As relações Carbono/Nitrogênio (C/N) e Talo/Folha (T/F) foram calculadas através da divisão do teor de carbono pelo teor de nitrogênio acumulado na biomassa seca (C/N) (Pimentel, 1998), e pela divisão do total de biomassa seca de colmo pelo total de biomassa seca de folhas produzidas (T/F), respectivamente, em cada ciclo avaliado. A relação C/N e a T/F da biomassa aérea dos diferentes genótipos de capim deste estudo, interessam substancialmente como indicador da qualidade destes genótipos para fins energéticos, pois observadas estas relações, e conhecendo que normalmente a maior parte do material fibroso e lignificado, se concentra nos colmos, e que geralmente quanto maior a relação C/N mais fibra e mais lignina possui o material, representa assim melhores condições para seu uso energético.

Neste estudo a relação T/F e C/N no 1° e 2° ciclo para os tratamentos de inoculação não foram observadas interações significativa (Tabela 5), entretanto há uma forte influência genotípica nestas variáveis, onde foram observadas diferenças significativas. No primeiro ciclo o genótipo CNPGL 93 41 1 apresentou a maior relação C/N nos dois tratamentos 130,2 e 127,1 com e sem inoculação, respectivamente, apesar de não diferir estatisticamente aos

demais genótipos. A relação T/F também foi superior neste genótipo com 1,59 e 1,72 nos tratamentos com e sem inoculação, respectivamente, apesar de que somente no tratamento sem inoculação ter ocorrido diferença estatística com os demais genótipos.

**Tabela 5** - Relação talo/folha (T/F) e relação carbono/nitrogênio (C/N) na biomassa aérea de 06 genótipos de capim-elefante, cultivados em um Argissolo marcado com <sup>15</sup>N, sob efeito de inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas, em dois ciclos de cultivo.

Genótipo	1° Ciclo		2° Ciclo	
	Inoculado			
	Relação T/F	Relação C/N	Relação T/F	Relação C/N
<b>CNPGL 07 1*</b>	0,91	81,7	1,29	122,3
<b>CNPGL F06 3</b>	1,43 Aa	104,2 Aa	2,14 Aa	135,9 Aa
<b>Cameroon</b>	1,44 Aa	105,7 Aa	1,30 Ab	145,8 Aa
<b>CNPGL93 41 1</b>	1,59 Aa	130,2 Aa	1,76 Aa	135,7 Aa
<b>BAG 02</b>	1,23 Aa	98,9 Aa	1,75 Aa	134,3 Aa
<b>Roxo</b>	1,30 Aa	109,5 Aa	1,26 Ab	124,8 Aa
<b>Média</b>	<b>1,40 A</b>	<b>109,7 A</b>	<b>1,64 A</b>	<b>135,3 A</b>
Genótipo	Não Inoculado			
	Relação T/F	Relação C/N	Relação T/F	Relação C/N
	<b>CNPGL 07 1*</b>	0,94	82,5	1,24
<b>CNPGL F06 3</b>	1,08 Ab	104,4 Aa	2,41 Aa	139,2 Aa
<b>Cameroon</b>	0,96 Ab	112,0 Aa	1,46 Ab	131,2 Aa
<b>CNPGL93 41 1</b>	1,72 Aa	127,1 Aa	1,75 Ab	133,4 Aa
<b>BAG 02</b>	1,01 Ab	96,8 Aa	1,72 Ab	134,2 Aa
<b>Roxo</b>	0,86 Ab	105,4 Aa	1,29 Ab	119,4 Aa
<b>Média</b>	<b>1,13 B</b>	<b>109,1 A</b>	<b>1,72 A</b>	<b>131,5 A</b>
<b>C.V.1</b>	<b>12,3</b>	<b>40,5</b>	<b>23,0</b>	<b>13,0</b>
<b>C.V.2</b>	<b>30,9</b>	<b>9,5</b>	<b>23,6</b>	<b>9,6</b>

\*Resultados para a relação Talo/Folha e Carbono/Nitrogênio deste genótipo não estão inclusos nas análises estatísticas. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (tratamentos) e minúsculas (genótipos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

No segundo ciclo, observou-se um aumento na relação C/N e T/F para a maioria dos genótipos, no entanto somente foram observadas interações significativas para a relação T/F,

se destacando os genótipos CNPGL F06 3, CNPGL 93 41 1 e BAG 02 para o tratamento com inoculação (2,14; 1,76 e 1,75, respectivamente), e o genótipo CNPGL F06 3, para o tratamento sem inoculação com taxa de 2,41. Para a relação C/N os valores variaram entre 119,4 a 145,8 em ambos os tratamentos. Samson et al. (2005), estudando a relação T/F em duas colheitas desta cultura (março e outubro de 2004), não encontraram diferenças para os genótipos Cameroon e Gramafante. Para o genótipo Roxo, Santos et al. (2001b, c), encontraram percentagens de folhas acima de 70%, observando essas maiores percentagens no período das chuvas, e ainda observaram também que quando aumentado esta relação F/T diminuía o acúmulo de matéria seca. Isto mostra também a importância deste parâmetro na seleção de genótipos desta cultura com fins energéticos, desejando-se materiais com valores superiores de colmos em relação às folhas, muito diferente quando estudado a qualidade de material para uso na alimentação animal, que busca uma menor relação T/F.

Deve-se destacar que a parte das características genóticas, o manejo da cultura também afeta as características de qualidade da biomassa da cultura. Bhering (2008), estudando a cultivar Napier roxo observou este comportamento, onde à medida que se aumenta a idade de corte do capim diminui a percentagem de folhas, ou seja, aumenta a relação Talo/Folha.

Brito et al. (1966), avaliando a influência da idade de corte sobre as características de produção e qualidade do capim-elefante, também encontraram teores decrescentes de percentagem de folhas e crescentes de percentagem de colmos para seis cortes, nas idades de 28 a 98 dias, bem como elevação crescente na produção de biomassa seca. Leite et al. (2000), estudando o cultivar Cameroon encontraram aumento nas percentagens de colmos e produtividade com a maturidade do capim-elefante. O que demonstra que a relação T/F é uma variável estritamente relacionada com o manejo que se adota com a cultura, mais importante talvez que a quantidade de N disponível no solo. Esse comportamento foi observado por Santana et al. (1989), com cultivares de capim-elefante, entre elas a cultivar Cameroon, que verificaram redução na percentagem de lâmina foliar e, conseqüentemente, aumento na percentagem de colmos com o envelhecimento das plantas.

Quando estudado esta cultura para a finalidade energética, Quesada (2005), avaliando quatro genótipos de capim-elefante em um Argissolo, após o segundo corte com dez meses de cultivo encontrou, para as cultivares BAG 02, Cameroon e Roxo sem aplicação de N-cobertura, valores de C/N similares aos encontrados neste estudo, 153, 151 e 126, respectivamente. Já em estudos realizados por Morais (2008) em Anchieta-ES, nos genótipos BAG 02, CNPGL F06 3 e Cameroon, os valores para esta relação após 03 ciclos de cultivo,

sem aplicação de N fertilizante, foram de 73,5; 72,5 e 73,5, respectivamente, para cada genótipo. Os valores do parâmetro T/F neste mesmo experimento foram muito similares aos encontrados neste estudo, com exceção das taxas obtidas para o genótipo Cameroon no primeiro ciclo de cultivo, onde esteve abaixo das médias de estudos anteriores. Estas variações ocorridas entre os mesmos genótipos, mesmo sem aplicação de N-fertilizante em cobertura, obedecem principalmente à fertilidade natural do solo.

Para o segundo ciclo, os valores para a relação C/N foram relativamente maiores. Isto se explica devido, como mostrado na Tabela 4, ao menor acúmulo de N na biomassa nos diferentes genótipos, principalmente no compartimento de folha, e ao aumento no rendimento de biomassa seca (Tabela 3) de um ciclo para outro. Esta menor quantidade de N acumulado entre colmos e folhas, faz com que haja um aumento nos valores de relação C/N. Estes genótipos acumulando menos nitrogênio por kg de biomassa produzido, principalmente no compartimento de colmo, conseqüentemente associado a altos valores da relação T/F, são resultados apropriados de qualidade da biomassa (Tabela 6), podendo ser um indicativo da alta qualidade destes materiais para seu uso como fonte de energia alternativa.

#### **4.1.4 Qualidade da biomassa de capim-elefante considerando os teores de fibras (FDA), celulose, lignina e cinzas.**

Atualmente sabe-se que o avanço do estágio de maturação da forrageira implica em maior lignificação da biomassa, de maneira que a produção dos componentes potencialmente digestíveis, como os carboidratos solúveis, proteínas e minerais, tende a decrescer e a fibra aumentar (Gomes, 2003; Leite & Euclides, 1994). Estão apresentados na Tabela 6 os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e seus componentes. Estes resultados são referentes ao primeiro ciclo quando o corte ocorreu com seis meses de cultivo (dezembro/2008 a junho/2009). Pode-se observar que para o compartimento de colmo e folha em média, os valores de FDA, lignina e celulose, foram similares para ambos os tratamentos de inoculação. O que para o cultivo com finalidade energética, estes resultados são muito promissores, e indicam cada vez mais a viabilidade do uso desta espécie como fonte alternativa de energia, possuindo características morfológicas e químicas compatíveis para tal finalidade.

Em relação aos teores de FDA, estes variaram entre 34,4 a 42,1% para os compartimentos de colmo e folha. O genótipo CNPGL 93 41 1 para o compartimento de folha apresentou maior percentagem quando não inoculado, diferindo estatisticamente do tratamento inoculado com coquetel de bactérias diazotróficas. Os genótipos apresentaram

comportamento similar. Os resultados encontrados neste estudo são similares aos teores encontrados por Moraes (2008), quando a cultura de capim-elefante foi cultivada em Planossolo.

**Tabela 6** - Teores de fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e cinzas de seis genótipos de capim-elefante cultivados em um Argissolo marcado com  $^{15}\text{N}$ , durante o 1º ciclo de crescimento da cultura, de dezembro/2008 a junho/2009.

Genótipo	Com Inoculação							
	FDA (%)		Celulose (%)		Lignina (%)		Cinzas (%)	
	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha
<b>CNPGL 07 1*</b>	40,7	34,1	27,7	24,9	12,6	7,1	1,1	2,2
<b>CNPGL F06 3</b>	41,7 Aa	39,0 Aa	28,0 Aa	27,9 Aa	11,8 Aa	8,1 Aa	1,4 Ab	2,6 Aa
<b>Cameroon</b>	41,6 Aa	37,9 Aa	28,0 Aa	27,6 Ba	13,6 Aa	7,6 Aa	0,3 Aa	2,8 Aa
<b>CNPGL9341 1</b>	41,1 Aa	35,6 Ba	26,5 Aa	26,4 Aa	14,4 Aa	7,3 Ba	0,4 Aa	2,1 Aa
<b>BAG 02</b>	41,1 Aa	36,4 Aa	25,2 Aa	27,9 Aa	15,2 Aa	6,3 Ba	0,7 Aa	3,6 Aa
<b>Roxo</b>	41,2 Aa	34,4 Ba	27,8 Aa	26,0 Ba	13,0 Aa	5,9 Aa	0,3 Aa	2,5 Aa
<b>MÉDIA</b>	<b>41,3 A</b>	<b>36,7 B</b>	<b>27,1 A</b>	<b>27,2 A</b>	<b>13,6 A</b>	<b>7,0 A</b>	<b>0,6 A</b>	<b>2,7 A</b>
Genótipo	Sem Inoculação							
	FDA (%)		Celulose (%)		Lignina (%)		Cinzas (%)	
	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha
<b>CNPGL 07 1*</b>	37,9	35,4	25,5	25,5	11,0	6,9	1,4	2,8
<b>CNPGL F06 3</b>	39,2 Aa	38,4 Aa	26,6 Aa	28,2 Aa	11,6 Aa	8,5 Aa	1,2 Ab	2,5 Aa
<b>Cameroon</b>	42,1 Aa	41,4 Aa	28,6 Aa	31,1 Aa	13,1 Aa	7,7 Aa	0,4 Aa	2,5 Aa
<b>CNPGL9341 1</b>	40,2 Aa	39,9 Aa	27,5 Aa	27,3 Aa	12,2 Aa	9,7 Aa	0,5 Aa	2,3 Aa
<b>BAG 02</b>	41,3 Aa	40,1 Aa	28,0 Aa	28,1 Aa	12,5 Aa	8,5 Aa	0,8 Aa	3,5 Aa
<b>Roxo</b>	39,0 Aa	39,3 Aa	24,8 Aa	29,7 Aa	13,1 Aa	7,4 Aa	1,1 Bb	2,2 Aa
<b>MÉDIA</b>	<b>40,3 A</b>	<b>39,8 A</b>	<b>27,1 A</b>	<b>28,9 A</b>	<b>12,5 A</b>	<b>8,4 A</b>	<b>0,8 A</b>	<b>2,6 A</b>
<b>C.V.1</b>	<b>10,3</b>	<b>3,3</b>	<b>5,2</b>	<b>9,2</b>	<b>24,2</b>	<b>16,7</b>	<b>39,6</b>	<b>25,2</b>
<b>C.V. 2</b>	<b>5,8</b>	<b>8,0</b>	<b>8,6</b>	<b>8,3</b>	<b>14,1</b>	<b>17,5</b>	<b>62,7</b>	<b>50,5</b>

\*Resultados de fibras e seus componentes para este genótipo não estão inclusos nas análises estatísticas. Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (tratamentos), e minúsculas (genótipos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Queiroz Filho et al. (2000), estudando a qualidade da biomassa de diferentes genótipos, em diferentes idades de corte, encontraram valores percentuais de 48% para FDA, aos 100 dias de cultivo, média da planta inteira, ficando esses valores um pouco acima dos encontrados neste estudo. Avaliando a produtividade e a composição química de gramíneas tropicais na Zona da Mata de Pernambuco, Santos et al. (2003), encontraram teores médios de FDA para 02 genótipos de capim-elefante de 38,2 e 36,9% para as cv. Pioneiro e Mott, respectivamente. Estes mesmos autores, trabalhando com cultivares de *Panicum maximum* cv. Mombaça e Tanzânia encontraram valores de FDA de 40,5 e 40,0%, respectivamente, e no caso de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu encontraram valores médios de 40,2%; estes teores mesmo de espécies de capins diferentes, também são muito próximos aos encontrados em nosso experimento, o que demonstra uma boa estabilidade desta característica em espécies de gramíneas.

Deresz (1994), Queiroz Filho et al. (2000), e Marins-Costa et al. (2008), avaliando os teores de FDN e FDA em diferentes idades de corte de capim-elefante, observaram aumento destes teores com a maturidade do cultivo. Deresz (1994), estudando o manejo do capim-elefante para produção de leite e carne, observou aos 30 dias de idade, valores de FDN e FDA, respectivamente, de 66,3 e 38,6%, e esses valores aumentaram para 68,2 e 42,5% para FDN e FDA, respectivamente, quando manejada com 45 dias. Fava (2008), avaliando os teores de FDA na época de chuvas e seca no Cerrado Matogrossense, obteve valores para o genótipo CNPGL 93 41 1 de 48,2 e 45,8 % de FDA nos períodos das águas e da seca, respectivamente. Silva et al. (2002), estudando diferentes genótipos deste cultivo provenientes do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa Gado de Leite, e Lavezzo et al. (1985), trabalhando com as cultivares Roxo, Mineiro e Vruckwona, em Butucatu, obtiveram valores de FDA abaixo dos encontrados em nossos estudos. Justificando assim a variabilidade existente nos componentes de fibras, que dependendo das condições edafoclimáticas da região, período de cultivo e intervalo entre cortes, influenciam sensivelmente no acúmulo destes componentes nos tecidos vegetais.

Os teores de celulose não variaram estatisticamente entre genótipos, já na interação entre genótipo e inoculação, o genótipo Cameroon e Roxo apresentaram significativa resposta à inoculação. Os valores de celulose nos compartimentos de colmo e folhas estiveram em média variando entre 24,8 e 31,1 %, resultados que estão de acordo com os obtidos por Morais (2008) e Quesada (2005). Os teores de lignina estiveram em média 13 % para colmo e 7,7 % para folhas, sendo que para o compartimento de folhas quando não inoculados os

genótipos CNPGL 93 41 1 e BAG 02 obtiveram as maiores percentagens de lignina diferindo estatisticamente dos tratamentos inoculados.

Os teores de celulose deste estudo estão próximos aos encontrados por Santos et al. (2001a), quando estudaram a composição química da cv. Roxo cortado e manejado com diferentes alturas de corte. No caso da lignina, os teores encontrados no colmo e folha neste estudo estão um pouco acima dos apresentados por Moraes (2008) e Quesada (2005), quando cultivados para a mesma finalidade, e similares aos encontrados por Rodrigues et al. (2005), na USP - Campus Pirassununga-SP, onde encontraram em média 15,9% de lignina. Estes resultados estão acima dos encontrados por Silva et al. (2007), quando encontraram após 93 dias de rebrota 6,7% de lignina em capim-elefante. Estes resultados também demonstram a variabilidade desta característica nas plantas, afetada também pelas condições de solo e manejo.

Comparando com outras culturas estes valores de lignina, estão bem acima dos encontrados, por exemplo, em genótipos de sorgo (4,6 %) (Pesce et al., 2000), cultivares de capim-colonião (*Panicum maximum*) onde numa média de 11 cultivares aos 60 dias os valores variaram ao redor de 6,1% (Silva, 2009). No caso de capim-brachiária (*Brachiaria decumbens*) com 5,4 e 9,0% nos compartimentos de folha e colmo, respectivamente (Paciullo et al., 2007). Os valores foram semelhantes aos valores de celulose encontrados no bagaço da cana-de-açúcar (25-40%) e de (15-35%) de lignina (Cowling e Kirk, 1976 citado por Menezes et al., 2009). Entretanto outras culturas também utilizadas para a agroenergia possuem valores mais altos destes componentes, como as diversas espécies de Eucalipto. Trugilho (2009) apresenta resultados para diferentes espécies de Eucalipto possuindo teores médios de 22,8 a 30,5% de lignina, dependendo principalmente da espécie e da idade da planta a ser utilizada.

A composição mineral de espécies forrageiras varia com uma série de fatores, entre os quais os mais importantes são o solo e adubações realizadas, diferenças genéticas entre espécies, variedades, influência de estações do ano e intervalo de cortes. Avaliando a fertilização nitrogenada e frequência de cortes no rendimento e na composição química de três gramíneas tropicais entre elas o capim-elefante e o capim-colonião, Vicente-Chandler et al. (1959), observaram que com o aumento do intervalo de cortes; o rendimento e a concentração de lignina aumentaram, enquanto os teores de nutrientes entre eles o potássio diminuiram. Este nutriente que atualmente é considerado um problema para o capim-elefante quando utilizado na produção de carvão, pelos altos teores de potássio apresentados nas cinzas (Flores, 2009).

Para os teores de cinzas, componente indesejável num processo de queima de material para a produção de energia, principalmente durante seu uso para a produção industrial de ferro gusa. Neste estudo os valores médios ficaram abaixo dos 3,5% para a maioria dos genótipos, independente dos tratamentos de inoculação. Deve-se destacar que no caso do genótipo Roxo quando inoculado obteve um percentual de cinzas menor que quando não inoculado. Também diferiu estatisticamente o genótipo CNPGL F06 3 que no compartimento de colmo do tratamento inoculado os valores foram maiores que os demais genótipos (Cameroon, BAG 02, CNPGL 93 41 1 e Roxo). Comparando estes resultados de cinzas, em cultivos de capim-elefante para a mesma finalidade, estes valores estão abaixo dos resultados obtidos por Quesada et al. (2004 e 2005).

Pode-se observar que grande parte dos teores de cinzas (mais de  $\frac{3}{4}$ ) é proveniente do tecido foliar, e como buscamos para esta cultura na agroenergia sempre uma relação T/F cada vez maior, o compartimento de colmo ocupa uma posição muito importante nesta cultura cultivada com fins energéticos. E mostrando que, o processo de inoculação com o coquetel de bactérias diazotróficas, não prejudica em nenhuma instância a qualidade do material em seus diversos componentes, e ainda podem trazer benefícios, com uma possível maior taxa de contribuição da FBN, e também acréscimo nos teores de FDA, celulose e lignina no compartimento do colmo, como mostram os resultados apresentados na Tabela 6.

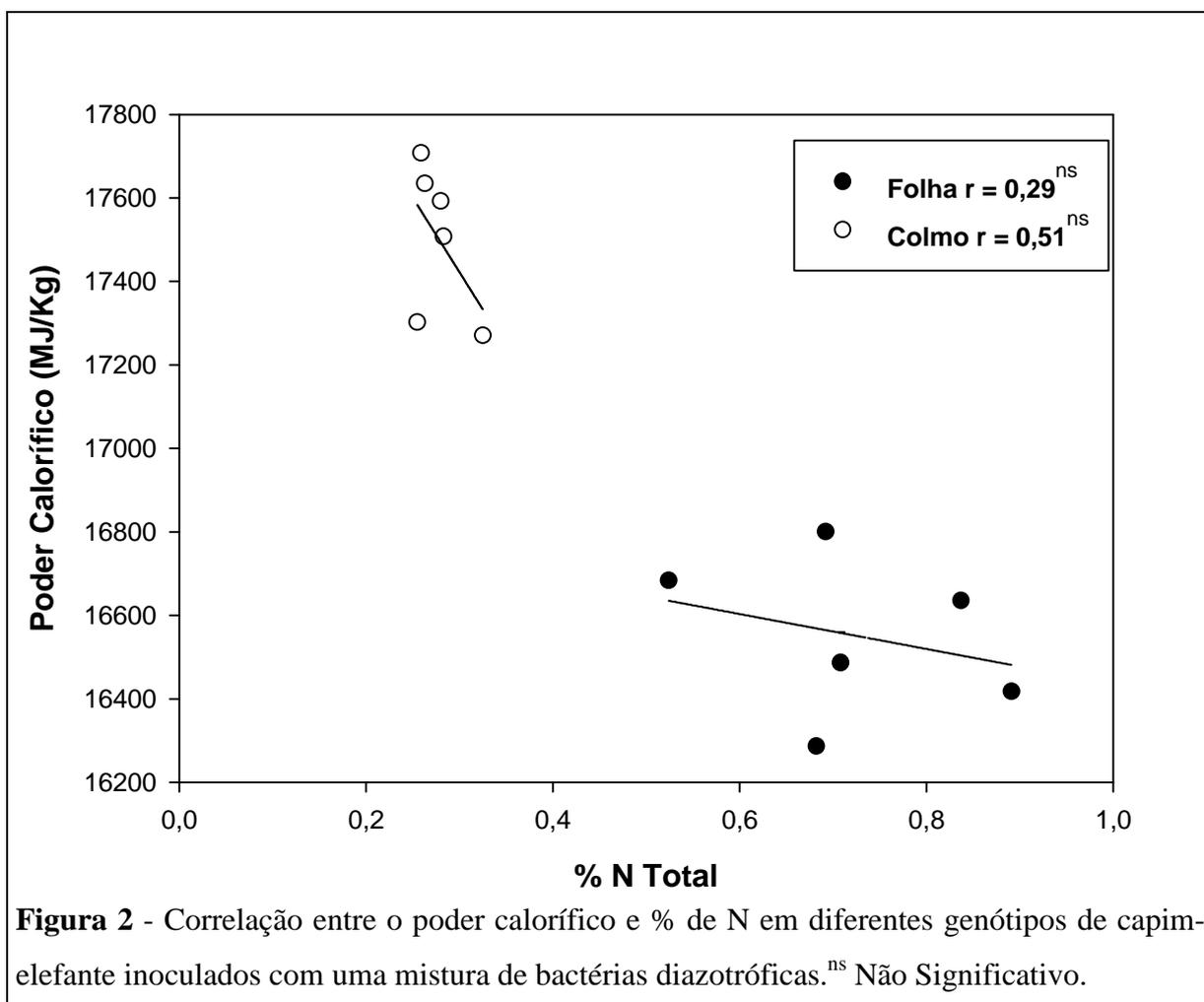
Com exceção dos valores de FDA de colmo do genótipo Roxo sem inoculação, para todos os demais genótipos em estudo, os valores de FDA e lignina, principais responsáveis pelo poder da queima do material, estão de acordo com os encontrados na literatura (Quesada et al., 2004; Quesada, 2005), onde se apresentam sempre maiores que os teores de folhas.

Em grande parte dos trabalhos encontrados na literatura de capim-elefante sobre qualidade da biomassa, principalmente para alimentação animal, trazem estes valores de FDA e seus componentes abaixo dos encontrados neste estudo. Entretanto como apresentados em Andrade & Gomide (1971), estudando o comportamento vegetativo do capim-elefante, demonstraram que o desenvolvimento da planta promovia incremento nos teores de biomassa seca, parede celular, celulose e lignina. E neste mesmo sentido, Hillesheim (1988), estudando o efeito da maturidade sobre a produção e qualidade do capim-elefante cv. Napier encontrou valores crescentes dos teores de biomassa seca para 6 idades de corte, de 45 a 195 dias. Então a principal questão que envolve a qualidade da biomassa em genótipos de capim-elefante para fins energéticos, é o manejo que se adota durante o período de condução da lavoura, onde principalmente maiores intervalos de corte proporcionam aumentos consideráveis nos teores, sobretudo de FDA e lignina.

#### 4.1.5 Poder calorífico superior da biomassa de capim-elefante.

Uma das principais características dos genótipos de capim-elefante para uso como fonte energética é o alto poder calorífico da biomassa seca. O poder calorífico superior (PCS) é aquele em que a combustão se efetua a volume constante e no qual a água formada durante a combustão é condensada e o valor que é derivado desta condensação é recuperado (Briane & Doat, 1985).

Os genótipos de capim-elefante em estudo tiveram um poder calorífico médio acima de 17.000 MJ.kg<sup>-1</sup> (ou 4.000 kcal.kg<sup>-1</sup>), não havendo ajuste significativo para as folhas e colmos (Figura 2). Browning (1963), citado por Cunha et al. (1989), afirma que o poder calorífico é mais alto quanto maior o teor de lignina e extrativos porque os mesmos contêm menos oxigênio que os polissacarídeos presentes na hemicelulose (celulose e hemicelulose). Doat (1977), citado por Vale et al. (2000), trabalhando com espécies tropicais, mostrou também que uma madeira rica em lignina e em extrativos solúveis em compostos orgânicos tem um elevado poder calorífico.



Estes valores de poder calorífico são similares aos encontrados por Flores (2009), quando estudando dois genótipos de capim-elefante encontrou em média  $4.104 \text{ kcal.kg}^{-1}$  para a planta inteira. Estudando a avaliação energética do bagaço da cana-de-açúcar em diferentes níveis de umidade e graus de compactação, Silva & Morais (2008), encontraram valores que variaram de 2.275 a  $4360 \text{ kcal.kg}^{-1}$ , entre 50 e 0 % de umidade respectivamente, valores próximos dos encontrados para o capim-elefante quando a porcentagem de umidade do bagaço se aproxima de 0%. Vilela & Cerize (2009) encontraram no capim *Brachiaria brizantha* taxas de  $3.900 \text{ kcal.kg}^{-1}$ . Estas taxas de poder calorífico encontradas neste estudo para os diferentes genótipos de capim-elefante estão próximas também às encontradas por Castilho & Alzola (1988), citado por Quirino et al. (2004), quando encontraram em *Eucalyptus* spp. taxas de aproximadamente  $4.217 \text{ kcal.kg}^{-1}$ . Estes resultados mostram que associando a qualidade da biomassa e o poder calorífico de genótipos de capim-elefante, apesar de ambos apresentarem valores um pouco abaixo das espécies tradicionalmente utilizadas para a queima em usinas e olarias, como diferentes espécies de *Eucalyptus* spp, mas que como o capim-elefante apresenta elevados rendimentos em genótipos mais adaptados, destacando-se os genótipos CNPGL F06 3 e Cameroon, seguidos BAG 02 e CNPGL 93 41 1, com mínimo utilização de fertilizantes nitrogenados, esta cultura apresenta alto potencial de ser uma nova fonte alternativa de energia renovável, haja visto as altas taxas de balanço energético alcançando valores acima de 21,4:1 (Samson, et al., 2005).

Em relação à taxa de poder calorífico encontrado nos colmos, estes foram em média de  $17.503 \text{ MJ.kg}^{-1}$ , cerca de  $950 \text{ MJ.kg}^{-1}$  acima dos teores encontrados nas folhas, o que expressam mais uma vez as características superiores do compartimento colmos em relação às folhas de capim-elefante, e de acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, mostrando a maior proporção da biomassa aérea nos colmos, reforça a importância desta cultura como fonte de energia renovável.

## 4.2 Eficiência da Inoculação em Dois Genótipos de Capim-Elefante sob Condições de Campo. EXPERIMENTO II.

### 4.2.1 Produção de biomassa

Os resultados apresentados a seguir são referentes à produção de biomassa seca aérea no campo de 02 genótipos de capim-elefante, cultivados em um Planossolo pobre em N disponível, obtidos durante 11 meses de cultivo, no período de maio de 2009 a março de 2010. Os valores do rendimento de biomassa estão apresentados na Tabela 7 e são referentes ao primeiro e segundo ciclo estudado. As produtividades variaram entre 15,1 e 36,7 Mg.ha<sup>-1</sup> para o genótipo BAG 02 e 14,6 a 39,4 Mg.MS.ha<sup>-1</sup> para o genótipo Cameroon. A produção total de matéria seca aérea esteve ao redor de 50,6 e 52,8 Mg de MS.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> para os genótipos BAG 02 e Cameroon, respectivamente.

**Tabela 7** - Rendimento de biomassa seca aérea (Mg.ha<sup>-1</sup>) de 02 genótipos de capim-elefante em um Planossolo em 330 dias de cultivo (maio – setembro/2009; outubro/2009 – março/2010).

Genótipo	Tratamento	1º Ciclo			2º Ciclo			Total
		Colmo	Folha	Total	Colmo	Folha	Total	
<b>BAG 02</b>	Testemunha	9,0 Aa	7,8 Aa	16,8 Aa	22,6 Ab	13,3 Ba	35,9 Aa	<b>52,7 Aa</b>
	Inoculado	8,3Aa	8,4 Aa	16,7 Aa	21,4 Ab	10,3 Bb	31,7 Bb	<b>48,4 Ab</b>
	100 kg.N	8,8 Aa	6,8 Ab	15,6 Aa	23,9 Aa	12,8 Ba	36,7 Aa	<b>52,3 Ba</b>
	Inoc.+100 kg.N	8,3 Aa	6,8 Ab	15,1 Aa	23,9 Aa	9,8 Bb	33,7 Bb	<b>48,8 Bb</b>
	<b>Média</b>	<b>8,6 A</b>	<b>7,5 A</b>	<b>16,1 A</b>	<b>22,9 A</b>	<b>11,9 B</b>	<b>34,5 B</b>	<b>50,6 B</b>
<b>Cameroon</b>	Testemunha	9,0 Aa	7,8 Aa	16,8 Aa	18,8 Bb	16,9 Aa	35,7 Aa	<b>52,5 Ab</b>
	Inoculado	8,7 Aa	5,9 Ba	14,6 Ba	20,3 Ab	15,1 Ab	35,4 Aa	<b>50,0 Ab</b>
	100 kg.N	9,6 Aa	7,0 Aa	16,6 Aa	23,4 Aa	16,0 Ab	39,4 Aa	<b>56,0 Aa</b>
	Inoc.+100 kg.N	8,5 Aa	6,9 Aa	15,4 Aa	19,7 Bb	17,7 Aa	37,4 Aa	<b>52,8 Ab</b>
	<b>Média</b>	<b>8,9 A</b>	<b>6,9 A</b>	<b>15,8 A</b>	<b>20,6 B</b>	<b>16,4 A</b>	<b>37,0 A</b>	<b>52,8 A</b>
	<b>C.V. (%)</b>	<b>10,8</b>	<b>12,2</b>	<b>8,1</b>	<b>5,9</b>	<b>6,0</b>	<b>5,86</b>	<b>4,4</b>

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (genótipos), e minúsculas (tratamentos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Comparando os tratamentos dentro de cada genótipo, pode-se observar que no primeiro ciclo para o genótipo BAG 02 os rendimentos totais foram em geral similares, sem diferenças estatísticas, entretanto dentro do tratamento inoculado apresentou os maiores rendimentos de folha com  $8,4 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ , não diferindo estatisticamente da testemunha com  $7,8 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ . Já para o segundo ciclo este mesmo genótipo apresentou maiores rendimentos quando aplicado o tratamento de  $100 \text{ kg de N}$  produzindo  $36,7 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ , e o rendimento da testemunha de  $35,9 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$  seguido do tratamento Inoculado +  $100 \text{ kg de N}$  com  $33,7 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ . No genótipo Cameroon, embora não respondeu aos tratamentos aplicados, é destacável que a produção de colmo no tratamento com  $100 \text{ kg.N}$  e a produção de folhas nos tratamentos testemunha e inoculado +  $100 \text{ kg.N}$  do segundo ciclo apresentaram os maiores rendimentos.

Magalhães et al. (2006), em estudos com capim-elefante (cv. Napier), observaram que a cultura não respondeu as doses de N aplicadas ( $150, 300$  e  $450 \text{ kg de N.ha}^{-1}$ ). Este trabalho corrobora os resultados obtidos neste estudo, visto que a aplicação de N fertilizante não apresentou respostas significativas em ambos os genótipos para o primeiro e segundo ciclo. Para os tratamentos com o coquetel de bactérias diazotróficas, estes genótipos obtiveram rendimentos médios nos dois ciclos de  $48,4$  e  $50,0 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$ , para BAG 02 e Cameroon, respectivamente.

Levando em consideração os dois genótipos em estudo, pode-se observar que no primeiro ciclo de cultivo quando inoculado o genótipo BAG 02 apresentou um rendimento de folha de  $2,5 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$  maior que o genótipo Cameroon, o que representou um ganho maior que 12% de matéria seca. Nos rendimentos totais, ao final dos 11 meses de cultivo, o genótipo Cameroon teve um acúmulo de matéria seca quase 5% maior que o genótipo BAG 02.

Os resultados encontrados neste experimento são maiores que os obtidos por Quesada (2005), que estudando os genótipos BAG 02 e Cameroon, ambos com aplicação de  $100$  de N fertilizante, a produtividade do genótipo BAG 02 variou ao redor de  $38,3 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$  nos dois ciclos de cultivo. Morais (2008), em estudos conduzidos em Anchieta-ES com aplicação de  $50 \text{ Kg.ha}^{-1}$  de N na forma de uréia para 05 genótipos entre eles BAG 02 e Cameroon, obteve valores de produção de biomassa, para o primeiro ciclo, superiores aos encontrados neste estudo, entretanto, para o segundo ciclo o autor observou uma redução de aproximadamente 30% da produção de matéria seca. Neste presente estudo o primeiro corte foi realizado no período da seca, onde a produtividade correspondeu aproximadamente a 30% do total produzido nos dois ciclos, similar aos obtidos por Souto (1982) e Silva et al., (2010). Estas variações podem ser explicadas pelas condições climáticas, principalmente temperatura

e precipitação, que são consideravelmente mais favoráveis para o desenvolvimento de gramíneas como o capim-elefante no período da águas de que no período da seca.

A falta de resposta à adubação nitrogenada ( $100 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N-uréia), também tem sido observada em trabalhos realizados por Morais (2008) e Magalhães et al. (2006), o qual pode dever-se a uma provável associação desta cultura com bactérias diazotróficas fixadoras de nitrogênio, como já comprovados em estudos anteriores realizados por Quesada (2001), Morais et al. (2009) e Silva et al. (2010), onde esta fonte de N responde por grande parte do acúmulo de N na parte aérea de genótipos de capim-elefante. E ainda, a utilização de inoculante contendo bactérias diazotróficas responsáveis pela FBN em não leguminosas, pode favorecer eficientemente a fixação de  $\text{N}_2$  e disponibilização deste nutriente para as plantas.

Como no presente estudo, o ganho energético da cultura é de fundamental importância, o mais importante é obter elevadas produtividades no campo sem ou com o mínimo uso de adubação nitrogenada, com baixos custos de produção, o que eleva substancialmente o balanço energético envolvido no sistema de produção. Essa pesquisa que envolve diferentes genótipos, que somados aos trabalhos de Quesada (2001, 2005) e de Morais (2008), indicam que estes materiais, se bem manejados, são promissores para se utilizar como uma forma alternativa de energia, onde se buscam altas produtividades no campo, com baixo custo energético de produção. Ravindranath et al. (2006), comenta sobre as diferentes possibilidades e tecnologias que atualmente estão dispostas com o intuito de minimizar os danos causados ao meio ambiente pelo uso de combustíveis fósseis não renováveis, destacando o uso da biomassa, como uma das alternativas mais promissoras. Raison et al. (2006), refletindo sobre as alterações das condições ambientais atuais também destaca a importância da racionalização do uso de combustíveis oriundos de fontes não renováveis, e conseqüentemente a substituição destas fontes por meios de energia renováveis, entre elas o uso da biomassa.

Fazendo uma comparação destes genótipos de capim-elefante, com outras culturas que atualmente também são utilizadas para esta mesma finalidade energética, estas produtividades em média acima de  $50 \text{ Mg de MS.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$ , são muito superiores as produtividades encontradas por outras gramíneas tropicais como capim Brachiária com média de  $37,5 \text{ Mg de MS.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$  (IGCC, 2010), ou outras gramíneas de clima temperado como *Panicum virgatum* com modestas  $12 \text{ a } 14 \text{ Mg de MS.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$  (SAMSON, 2004), ou ainda, outras culturas de maior porte, como os diversos cultivares de eucalipto com produtividade média entre  $7 \text{ a } 17 \text{ Mg de MS.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$  (SBS, 2010), visto que ainda, esta última leva no mínimo 04 anos para o primeiro corte. Esse comportamento de produção é expressão da capacidade

genética do *Pennisetum* em produzir grande quantidade de biomassa seca dependendo apenas de condições climáticas, de solo e do seu manejo (Souto, 1982; Fagundes *et al.*, 2005).

#### **4.2.2 Acúmulo de nitrogênio na biomassa.**

Os teores de nitrogênio total acumulado pela parte aérea das plantas de capim-elefante estão apresentados na Tabela 8. Os resultados mostram-se similares e acompanham de maneira geral os rendimentos de matéria seca de colmo e folha nos dois ciclos de cultivo da cultura (Tabela 7). Os valores de acúmulo de N nos dois ciclos variaram ao redor de 440 Kg.ha<sup>-1</sup>.

Neste estudo não foi observada interação significativa entre genótipos e tratamentos de inoculação no acúmulo de N pela biomassa aérea da cultura. Não obstante isso, é destacável que o genótipo BAG 02, no 1º ciclo, apresentou um acúmulo alto de N de 156 Kg.N.ha<sup>-1</sup>. Para o segundo ciclo de cultivo este mesmo genótipo acumulou no colmo, no tratamento com Inoculação + 100 kg.N, mais de 86 Kg.N.ha<sup>-1</sup>, superando significativamente os outros tratamentos. No genótipo Cameroon, durante o 1º e 2º ciclo de cultivo, o acúmulo de N no colmo e folhas para o tratamento inoculado foram estatisticamente menores que os demais tratamentos.

Quesada (2001), aplicando 100 kg.N.ha<sup>-1</sup> para 03 genótipos desta cultura (Gramafante, Cameroon, BAG 02 e a testemunha absoluta Roxo), encontrou valores de acúmulo de N na biomassa aérea entre 144 a 484 kg.N.ha<sup>-1</sup> nos períodos de chuva e seca. Flores (2009), avaliando o genótipo Paraíso e Roxo sob condições de elevada fertilidade com tratamentos também de 100 kg.N.ha<sup>-1</sup> encontrou valores médios de acúmulo de N em colmo e folha de 403 e 539 kg.N.ha<sup>-1</sup> para os genótipos paraíso e roxo, respectivamente.

Como pode-se observar na Tabela 8, os valores de acúmulos de N para os tratamentos sem aplicação de N-uréia em cobertura, são consideravelmente altos, quando comparados com outros trabalhos de literatura (Quesada, 2005 e Moraes, 2008), e que não apresentaram em linhas gerais, diferenças com os demais tratamentos adubados (exceção para o genótipo Cameroon inoculado). Este fato pode ser explicado em parte, devido muito provavelmente à contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio, uma vez que o Planossolo onde foi cultivado o capim-elefante é essencialmente pobre em N disponível. Leite *et al.* (2008), estudando o efeito da inoculação com o coquetel de bactérias diazotróficas sobre acúmulo de N total em diferentes variedades de cana-de-açúcar na região Norte Fluminense, verificaram que tanto o processo de inoculação quanto de re-inoculação não promoveram incrementos no

conteúdo total de nitrogênio na parte aérea das plantas, mas que os microorganismos nativos mostraram ativa contribuição na nutrição nitrogenada da cultura.

**Tabela 8** - Total acumulado de Nitrogênio (kg.ha<sup>-1</sup>) pela parte aérea de dois genótipos de capim-elefante cultivados em um Planossolo, durante 11 meses de cultivo.

Genótipo	Tratamento	1º Ciclo			2º Ciclo		
		Colmo	Folha	Total	Colmo	Folha	Total
<b>BAG 02</b>	Testemunha	31,4 Aa	113,5 Aa	144,9 Aa	44,8 Ab	126,5 Aa	171,3 Ba
	Inoculado	28,0 Aa	113,8 Aa	141,8 Aa	52,2 Ab	119,7 Aa	171,9 Aa
	100 kg.N	41,6 Aa	114,3 Aa	155,9 Aa	63,9 Ab	141,9 Aa	205,8 Ba
	Inoc.+100 kg.N	48,7 Aa	132,6Aa	181,3 Aa	86,2 Aa	125,9 Aa	212,1 Aa
	<b>Média</b>	<b>37,4 A</b>	<b>118,5 A</b>	<b>155,9 A</b>	<b>61,8 A</b>	<b>128,5 B</b>	<b>190,3 B</b>
<b>Cameroon</b>	Testemunha	33,8 Ab	122,9 Aa	156,6 Aa	56,9 Aa	164,6 Aa	221,5 Aa
	Inoculado	31,1 Ab	83,9 Ab	114,9 Ab	49,4 Aa	132,5 Aa	181,9 Ab
	100 kg.N	60,2 Aa	116,5 Aa	176,7 Aa	85,3 Aa	179,3 Aa	264,6 Aa
	Inoc.+100 kg.N	53,1 Aa	117,1 Aa	170,2 Aa	73,2 Aa	172,8 Aa	246,0 Aa
	<b>Média</b>	<b>44,5 A</b>	<b>110,1 A</b>	<b>154,6 A</b>	<b>66,2 A</b>	<b>162,3 A</b>	<b>228,5 A</b>
	<b>C.V.</b>	<b>30,1</b>	<b>19,6</b>	<b>19,5</b>	<b>30,7</b>	<b>22,9</b>	<b>15,4</b>

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (genótipos), e minúsculas (tratamentos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Comparando os dois genótipos em estudo pode-se observar que no final de 11 meses de cultivo, em dois cortes observou-se um acúmulo de 346 e 383 kg de N.ha<sup>-1</sup> para BAG 02 e Cameroon, respectivamente.

Este considerável aumento nos acúmulos de N nos dois genótipos entre os ciclos colhidos, diferenças de quase 50% de um ciclo para o outro, é justificado pelas melhores condições climáticas ocorridas entre os meses de setembro/2009 e março/2010 (Figura 1), considerando que este período é chamado das águas (2º Ciclo), chuvas frequentes, dias mais longos e temperaturas elevadas, que são condições ideais para o crescimento e desenvolvimento de gramíneas C<sub>4</sub> como o capim-elefante. Este aumento de acúmulo de N entre os genótipos BAG 02 e Cameroon também foi observado nos estudos desenvolvidos por Quesada (2001), quando cultivou estes genótipos no período seco e das chuvas.

Neste estudo observa-se a influência da adubação nitrogenada nos acúmulos de N das folhas e colmos. Flores (2009), com e sem aplicação de 100 kg de N.ha<sup>-1</sup> obteve valores de

acúmulo de N sempre maiores nos tratamentos fertilizados, apesar de não ter encontrado diferenças significativas. Em um estudo realizado por Martello et al. (2000), avaliando a influência da adubação nitrogenada para a produção de biomassa seca de capim-elefante cv. Guaçu observaram aumento da extração de N por essa cultura em função do aumento das doses de nitrogênio aplicadas, atingindo na dose de 240 kg.ha<sup>-1</sup> uma extração equivalente acima de 300 kg.ha<sup>-1</sup> de N. Pegoraro et al. (2009), estudando o manejo da água e do nitrogênio em cultivo de capim-elefante sob doses crescente de N (100, 200, 300, e 400 Kg.ha<sup>-1</sup> de N aplicado anualmente no período de verão), obteve incrementos no acúmulo de N da ordem 77% superior na dose de N mais alta comparado com o efeito da dose de 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N, em ambos os sistemas de manejo com e sem irrigação.

Estes altos valores observados para acúmulo de nitrogênio também já foram observados em trabalhos anteriores (Morais, 2008 e Samson et al., 2005). Quesada (2005) em estudos num Argissolo com diferentes genótipos, incluindo os genótipos escolhidos para este experimento, em dois ciclos, obteve resultados abaixo aos deste estudo, principalmente no genótipo BAG 02 que não acumulou mais de 238 kg de N.ha<sup>-1</sup>, mesmo sob adubação nitrogenada. Moraes et al. (2009c), em estudo com 05 genótipos de capim-elefante durante 03 ciclos de cultivo, em dois tipos de solo, obteve valores médios de acúmulo de N em torno de 292 kg de N.ha<sup>-1</sup>, sem aplicação de N fertilizante em cobertura.

#### **4.2.3 Relação talo/folha e relação carbono/nitrogênio.**

A relação Carbono/Nitrogênio (C/N) e a relação Talo/Folha (T/F) são parâmetros de interesse para avaliar a capacidade que o capim-elefante tem de acumular energia, e a qualidade da biomassa, pois os talos (colmos) possuem melhores características quando a finalidade de uso do capim é como fonte de energia. Os resultados apresentados na Tabela 9 são referentes a estas relações.

No genótipo BAG 02, no primeiro ciclo, na relação T/F não observou-se diferenças estatísticas entre os tratamentos, já para a relação C/N neste genótipo, nos tratamentos com inoculação e testemunha, apresentaram relação em torno de 53 diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. No segundo ciclo a maior relação T/F para este mesmo genótipo BAG 02 foi observado no tratamento Inoculado + 100 kg.N, com valor de 2,34 sendo a maior taxa; e para a relação C/N neste genótipo, não foram observadas diferenças estatísticas apresentando em média uma relação de 84,3.

Para o cultivar Cameroon, no primeiro ciclo, assim como ocorreu para o genótipo BAG 02, não foram observadas diferenças estatísticas na relação T/F tendo em média para os tratamentos uma taxa de 1,33. Na relação C/N neste mesmo ciclo observou-se diferenças estatísticas significativas onde o tratamento inoculado apresentou a maior relação de 60,3. No segundo ciclo deste mesmo genótipo, as maiores relações T/F foram encontradas nos tratamentos com 100 kg.N e inoculada, com taxa de 1,45 e 1,33, respectivamente. Já para a relação C/N neste ciclo, o maior valor foi encontrado também no tratamento com inoculação, 91,6, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

**Tabela 9** - Relação talo/folha (T/F) e carbono/nitrogênio (C/N) na biomassa de dois genótipos de capim-elefante, cultivados em um Planossolo durante 11 meses de cultivo.

Genótipo	Tratamento	1º Ciclo		2º Ciclo	
		T/F	C/N	T/F	C/N
BAG 02	Testemunha	1,16 Aa	52,7 Aa	1,69 Ad	94,9 Aa
	Inoculado	0,98 Ba	53,1 Aa	2,04 Ab	83,3 Aa
	100 kg.N	1,29 Aa	45,6 Ab	1,88 Ac	84,2 Aa
	Inoc.+ 100 kg.N	1,24 Aa	38,7 Ab	2,34 Aa	74,7 Aa
	<b>Média</b>	<b>1,17 A</b>	<b>47,5 A</b>	<b>1,99 A</b>	<b>84,3 A</b>
Cameroon	Testemunha	1,16 Aa	48,9 Ab	1,14 Bb	72,8 Bb
	Inoculado	1,56 Aa	60,3 Aa	1,33 Ba	91,6 Aa
	100 kg.N	1,37 Aa	42,7 Ab	1,45 Ba	69,5 Bb
	Inoc.+ 100 kg.N	1,24 Aa	41,22 Ab	1,12 Bb	69,4 Bb
	<b>Média</b>	<b>1,33 A</b>	<b>48,3 A</b>	<b>1,26 B</b>	<b>75,8 A</b>
<b>C.V.</b>		<b>19,3</b>	<b>16,2</b>	<b>6,4</b>	<b>15,8</b>

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (genótipos), e minúsculas (tratamentos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Assim como observado por Quesada (2005), os resultados da relação C/N para os tratamentos sem aplicação de N-fertilizante, nos dois ciclos de cultivo, apresentaram maiores valores desta relação que os tratamentos adubados (com exceção no 2º ciclo para o genótipo BAG 02 com 100 kg.N), mesmo às vezes sem apresentarem diferenças significativas.

Uma comparação feita entre os dois genótipos apesar de que na média do primeiro ciclo não terem existido diferenças estatísticas, para o tratamento inoculado o genótipo Cameroon teve uma taxa maior de T/F com valor de 1,56 diferindo do 0,98 do genótipo

BAG 02 inoculado. Já para o segundo ciclo também para a relação T/F, as maiores taxas foram encontradas em todos os tratamentos para o genótipo BAG 02. Para a relação C/N não foram observadas diferenças estatísticas entre os genótipos com média de 47,5 e 48,3 para as cultivares BAG 02 e Cameroon, respectivamente, durante o primeiro ciclo de cultivo. Entretanto para o segundo ciclo, o genótipo BAG 02 obteve em geral os maiores valores da relação C/N.

Para a finalidade energética os valores apresentados para a relação C/N estão em média abaixo dos encontrados em estudos anteriores (Quesada, 2005 e Morais, 2008), entretanto os resultados deste estudo são similares aos encontrados por Quesada (2004), que avaliou quatro genótipos com aplicação de N fertilizante e usando crotalária como adubação verde. A relação C/N como discutido no **item 4.1.3**, é calculada através da divisão do teor de carbono (Pimentel, 1998) pelo teor de nitrogênio acumulado na biomassa seca, então vistos os altos rendimentos de biomassa encontrados em todos os tratamentos com médias superiores  $50 \text{ Mg.MS.ha}^{-1}$  após 11 meses de cultivo (Tabela 7), e os altos acúmulos de N na parte aérea destes dois genótipos, superando neste mesmo período valores em média maiores que  $345 \text{ kg.N.ha}^{-1}$  (Tabela 8), é de se esperar que esta relação C/N seja, por exemplo, menores dos valores encontrados no experimento I deste mesmo estudo.

Santana et al. (1989), trabalhando com três cultivares de capim-elefante (Cameroon, Mineiro e Napier de Goiás), submetidas a três intervalos de cortes (4, 8 e 12 semanas), verificaram incrementos na produção de biomassa seca e na porcentagem de colmos com a idade da cultura. Queiroz Filho et al. (2000), estudando o manejo de capim-elefante em capineiras, encontraram que a frequência de corte também afetou o rendimento e a qualidade da forragem colhida. Leite et al. (2000), avaliando a produção e o valor nutritivo do capim-elefante, cultivar Cameroon, em diferentes idades, observou aumento linear na fração de colmos com o aumento de idade entre cortes de 60 e 120 dias. A partir disso, de acordo com esses autores, em geral, o aumento do intervalo de cortes resulta em incrementos na produção de biomassa seca, porém, paralelamente, ocorre declínio no valor nutritivo da forragem produzida, devido ao aumento da fração de colmos em relação às folhas, o que para fins energéticos esse comportamento é muito favorável.

#### **4.2.4 Qualidade da biomassa de capim-elefante: Teores de fibras e cinzas.**

O sistema de uso de detergentes atualmente é o mais utilizado para se medir o teor de fibra nos alimentos. A fração FDN (fibra em detergente neutro) dos alimentos mede a

quantidade total de fibra e quantifica diferenças entre alimentos, de uma forma mais racional, pois mensura os três maiores componentes indigestíveis ou incompletamente digestíveis das plantas: hemicelulose, celulose e lignina. Os resultados de FDN e cinzas da biomassa de capim-elefante obtidos neste estudo estão apresentados da Tabela 10, e são referentes ao primeiro ciclo de cultivo, com cinco meses de crescimento da cultura no campo. Pode-se observar que para os compartimentos tanto de folhas como de colmos dentro de cada genótipo não encontrou-se interações significativas em nenhuma das variáveis. Os resultados mostram a estabilidade destas características na biomassa desta cultura, sendo pouco afetada pelo genótipo da planta.

Para o genótipo BAG 02, os teores de FDN estiveram em média ao redor de 73,4 e 74,6 % para colmo e folha, respectivamente, e para o genótipo Cameroon os valores variaram ao redor das taxas de 72,8 e 76,9 % para colmo e folha, respectivamente. Os teores de FDN tanto para colmo quanto para folhas encontram-se acima dos apresentados por Flores (2009), que avaliando a aplicação de doses de N nos genótipos Paraíso e Roxo, sob condições do Cerrado, obteve valores médios de FDN abaixo de 60%. Porém, os resultados deste estudo são semelhantes aos encontrados por Deresz et al. (2006), que estudaram a composição química de capim-elefante cv. Napier no município de Valença-RJ.

**Tabela 10** - Teores de fibras em detergente neutro (FDN) e de cinzas na biomassa aérea de dois genótipos de capim-elefante, cultivados em um Planossolo pobre em N disponível, durante o primeiro ciclo de crescimento da cultura (Maio/2009 à Setembro/2009).

Genótipo	Tratamento	FDN (%)		Cinzas (%)	
		Colmo	Folha	Colmo	Folha
<b>BAG 02</b>	Testemunha	72,5 Aa	74,1 Aa	0,9 Aa	1,5 Aa
	Inoculado	73,6 Aa	76,6 Aa	1,2 Aa	1,9 Aa
	100 kg.N	74,5 Aa	69,6 Aa	0,8 Aa	1,3 Aa
	Inoc. + 100 kg.N	73,0 Aa	78,2 Aa	1,8 Aa	2,4 Aa
	<b>Média</b>	<b>73,4 A</b>	<b>74,6 A</b>	<b>1,2 A</b>	<b>1,8 A</b>
<b>Cameroon</b>	Testemunha	73,5 Aa	77,5 Aa	1,2 Aa	2,2 Aa
	Inoculado	73,4 Aa	77,6 Aa	0,5 Aa	1,9 Aa
	100 kg.N	72,4 Aa	74,5 Aa	0,6 Aa	2,3 Aa
	Inoc. + 100 kg.N	71,8 Aa	77,9 Aa	0,8 Aa	2,7 Aa
	<b>Média</b>	<b>72,8 A</b>	<b>76,9 A</b>	<b>0,8 A</b>	<b>2,3 A</b>
	<b>C.V.</b>	<b>2,0</b>	<b>5,9</b>	<b>62,2</b>	<b>30,6</b>

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas (genótipos), e minúsculas (tratamentos) na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 0,05.

Santos et al. (2003), avaliando os teores de FDN de espécies de *Pennisetum purpureum* (cv. Pioneiro e cv. Mott), *Panicum maximum* (cv. Mombaça e cv. Tanzânia) e *Brachiaria brizantha* (cv. Marambu) na Zona da Mata de Pernambuco, obtiveram para cultivares de *Pennisetum* spp. valores abaixo dos encontrados neste estudo. Magalhães et al. (2009), também estudando o efeito de doses de nitrogênio em três genótipos de capim-elefante, observaram teores médios de FDN em torno de 70%, não encontrando efeitos significativos da adubação nitrogenada para esse parâmetro avaliado. Cabral et al. (2006) e Queiroz Filho et al. (2000), estudando o teor de FDN no genótipo Roxo verificaram valores crescentes à medida que se aumenta o intervalo entre cortes.

As principais alterações que ocorrem na composição química das plantas forrageiras são aquelas decorrentes do processo de crescimento vegetativo, em que, à medida que a planta envelhece, a proporção dos componentes potencialmente digestíveis tende a diminuir e, a de fibras aumentarem, como destacado em Cabral et al. (2006), que avaliando os teores de proteína bruta (PB) e FDN do capim-elefante genótipo Roxo obtido em diferentes idades de corte, na baixada cuiabana, observou que tanto no período da seca quanto no período das

águas os teores de FDN aumentavam e os teores de PB diminuíaam com a maturidade do capim-elefante. Similares resultados também foram encontrados nos estudos conduzidos por Martins-Costa et al., (2008).

Neste estudo pode-se observar valores relativamente altos de FDN em relação a outros encontrados na literatura com capim-elefante (Flores, 2009; Lavezzo, et al., 1985; Magalhães et al., 2009). Embora alguns trabalhos da literatura mostrar que a aplicação de N faz com que aumente os teores de FDN (Mistura et al. 2007 e 2001), em geral, na prática esses valores não têm mostrado efeitos acentuados devidos à adubação nitrogenada (Moir, 1974; Andrade et al., 2003; Ribeiro, 1995; Ribeiro et al., 1999; Magalhães et al., 2009; Flores, 2009), o que corrobora estes resultados, onde não foram observadas diferenças significativas com e sem aplicação de N, e mostrando também que a aplicação do inoculante não modificou as características dos componentes de fibras totais dos genótipos de capim-elefante.

As respostas das características de qualidade da biomassa ao nitrogênio são dependentes da forrageira, sendo que a produtividade, o valor nutritivo e a persistência são características inerentes a cada espécie, sendo, portanto, atributos dependentes da constituição genética, das condições climáticas e edáficas, e do manejo adotado (Dias, et al., 2000).

Para os teores de cinzas, também não foram observadas interações significativas entre os genótipos e entre os tratamentos em estudo, sendo que para colmos os teores estiveram entre 0,5 e 1,8%, e para o compartimento de folhas entre 1,3% e 2,7%. Para a finalidade agroenergética que propõe-se para esta cultura, no processo de queima deste material o componente de cinzas se torna indesejável, ou seja, quanto menos cinzas melhor. Os valores apresentados neste estudo para os dois genótipos em avaliação, estão em média abaixo de 3,5%, somando os compartimentos de folha e colmo (com exceção do genótipo BAG 02 no tratamento Inoculado + 100 kg.N), que são valores baixos e muito satisfatórios para uso da biomassa como fonte direta de energia (Queima). Para a mesma finalidade de cultivo, estes valores estão abaixo dos apresentados por Quesada et al. (2004). Estes baixos teores de cinzas são de extrema importância e de grande valia para a finalidade de nossos estudos, pois esta característica tem relação direta com a qualidade da biomassa, e assim, quanto menor a percentagem nos tecidos, maior o poder de queima da biomassa. Estes resultados corroboram com os obtidos por Morais (2008), e indica a alta similaridade fisiológica entre os genótipos deste estudo.

## 5. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais em que foi conduzido este estudo pode-se concluir que:

- 1) Os genótipos CNPGL F06-3 e Cameroon obtiveram os maiores rendimentos de biomassa em solos pobres em N disponível, podendo ser recomendados para uso como fonte alternativa e renovável de energia.
- 2) Em ambos os experimentos os genótipos não apresentaram resposta significativa à inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas recomendadas para cana de açúcar, na maioria das variáveis avaliadas.
- 3) O poder calorífico, os teores de fibras, lignina e celulose foram elevados e semelhantes para todos os genótipos, em estudo. Os teores de cinzas permaneceram abaixo dos níveis críticos aceitáveis, em todos os genótipos estudados. Isto evidencia a multifuncionalidade do capim-elefante, pois um nível reduzido de cinzas é requisito importante para sua aplicabilidade energética em fornos de produtos cerâmicos e aciarias;
- 4) Os genótipos em estudo, previamente selecionados de trabalhos anteriores, apresentaram semelhança em quase todas as características de qualidade da biomassa, sendo então a produtividade a variável mais indicada para escolha dos genótipos a serem recomendados para produção de energia alternativa no campo.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

- 1) A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) tem se mostrado como uma ferramenta importante para a diminuição dos gastos energéticos associados a culturas como o capim-elefante, além de proporcionar outros benefícios para a agricultura. No entanto, como inicialmente proposto no plano de trabalho desta Dissertação, as atividades com relação às análises de  $\delta^{15}\text{N}$  essenciais para a quantificação da FBN não foram possíveis de serem realizadas até o momento. Isto ocorreu em decorrência de problemas técnicos com o equipamento analítico utilizado, o Espectrômetro de Massas de Razão Isotópica do Laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia. Entretanto, todo o material para análise já foi preparado e sistematizado, e está aguardando a confirmação dos testes de operacionalidade, estabilidade e calibração do referido equipamento para serem realizados. De modo a enriquecer os resultados aqui apresentados e ampliar a discussão sobre o efeito da FBN no cultivo de capim-elefante, os resultados de quantificação isotópica serão certamente incluídos em publicações futuras.
- 2) O inoculante utilizado em nossos experimentos foi desenvolvido desde o seu início por bactérias isoladas em cana-de-açúcar e com foco de recomendação para esta cultura. Assim, não sabemos os reais efeitos que estas bactérias endofíticas e rizosféricas podem causar nos genótipos de capim-elefante.
- 3) Para pesquisas futuras, com os resultados de isolamento de bactérias em capim-elefante realizados pela Embrapa-Agrobiologia, é possível trabalhar posteriormente com um inoculante específico com bactérias isoladas, para esta própria cultura.
- 4) Resultados favoráveis imediatos, em pesquisas com bactérias diazotróficas, são difíceis de serem atingidos, e muitas vezes são mal interpretados devido principalmente a baixa taxa de sobrevivência dessas bactérias após a aplicação do inoculante, e ao pouco conhecimento das interações complexas planta-microrganismo. Isto reforça a necessidade de se desenvolver um processo eficiente de integração da prática de inoculação nos sistemas agrícolas de produção a fim de se obter resultados estáveis, crescentes e mais consistentes.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, P.B.; ALCANTARA, V. B. G. de; e ALMEIDA, J. E. de. Estudo de vinte e cinco prováveis variedades de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 37, n. 2, p. 279-302, 1980.
- ALVES, B. J. R. **Aplicação da técnica de análise de solutos nitrogenados da seiva para a quantificação da fixação biológica de nitrogênio em *Desmodium ovalifolium* CV. Itabela**. 179f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ, 1996.
- ALVES, B. J. R. et al. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, (Embrapa-CNPAP. Documentos, 46) p. 409-449. 1994.
- ANDRADE, A.C.; FONSECA D.M.; LOPES, R.S.; JÚNIOR, D.N.; CECON, P.R.; QUEIROZ, D.S.; PEREIRA,D.H.; e REIS, S.T. Análise de crescimento do capim elefante ‘napier’ adubado e irrigado. **Revista Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.29, n.2, p.415-423, 2005.
- ANDRADE, J.B.; FERRARI JR., E; e POSSENTI, R.A. et al. Produção e composição de genótipos de cana-de-açúcar. **Boletim da Indústria Animal**, v.60, n.1, p.11-22, 2003.
- ANDRADE, I.F. & GOMIDE, J.A. Curva de crescimento e valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) “A-146 TAIWAN”. **Revista Ceres**, v.18, n.100, 1971.
- ARMSTRONG, A. P., BARO, J., DARTOY, J., GROVES, A. P., NIKKONEN, J., and RICKEARD, D. J. *Energy and Greenhouse Gas Balance of Biofuels for Europe—An Update*. CONCAWE Ad Hoc Group on Alternative Fuels, European Com 2130, munity, Brussels, 2002.
- BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R.S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A.S.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; NOGUEIRA, E.M.; ARAÚJO, J.L.S.; BALDOTTO, L.E.B.; SOARES, L.H.B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, T.L.G.; ALVES, B.J.R.; JAMES, E.K.; JANTÁLIA, C.P.; FERREIRA, P.C.G.; VIDAL, M.S.; e BODDEY, R.M. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família Poaceae (antiga gramínea). In RIBEIRO, M.R.; NASCIMENTO, C.W.A.; RIBEIRO FILHO, M.R.; CANTALICE, J.R.B. (Org.). **Tópicos em Ciência do Solo** (Topics in Soil

- Science). 1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira em Ciência do Solo, v. VI, p. 203-272, 2009.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L. e DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **Inter. J. Syst. Bacteriol.**, 36:86-93, 1986.
- BALDANI, J.I.; KRIEG, N.R.; BALDANI, V.L.D. & DOBEREINER, J. The genus *Azospirillum*. In: **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, Volume 2, 2<sup>nd</sup> Edition, 1998.
- BALDANI, J.I.; POT, T.B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M. & DÖBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **Inter. J. Syst. Bacteriol.**, 46:802-810, 1996.
- BHERING, M.; CABRAL, L.S.; ABREU, J.G.; SOUZA, A.L.; ZERVOUDAKIS, J.T.; RODRIGUES, R.C.; PEREIRA, G.A.C.; REVERDITO, R.; e OLIVEIRA, I.S. Características agrônômicas do capim-elefante roxo em diferentes idades de corte na Depressão Cuiabana. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, 2008.
- BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in sugarcane: A key to energetically viable biofuel production. **CRC Crit. Rev Plant Sci.** 14: 263-279, 1995.
- BODDEY R.M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. **CRC Crit. Rev. Plant Sci.** 6:209-266. 1987.
- BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R.; e URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada as plantas utilizando o isótopo <sup>15</sup>N. In: **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**, eds. HUNGRIA, M. & ARAÚJO, R.S. EMBRAPA-CNPAP, 1994.
- BODDEY, R.M., POLIDORO J.C., RESENDE A.S., ALVES B.J.R. & URQUIAGA S. Use of the <sup>15</sup>N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N<sub>2</sub> fixation to grasses and cereals. **Australian Journal of Plant Physiology**, 28(9): 889-895, 2001.
- BOGDAN, A.V. Tropical pastures and fodder plants (Grasses and Legumes). London: Longman, 1977. p. 236-241 (Tropical Agricultural Séries).
- BOTREL, M.A.; PEREIRA, A.V.; FREITAS, V.P. et al. Potencial forrageiro de novos clones de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.334-340, 2000.

- BOUTON, J.H.; ALBRECHT, S.L.; ZUBERER, D.A. Screening and selection of pearl millet for root associated bacterial nitrogen fixation. **Field Crop Research**, Amsterdam, v. 11, p. 131-139, 1985.
- BRASIL, BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL, Ministério das Minas e Energia, 2009. Disponível: <http://ben.epe.gov.br/downloads/BEN2009>.
- BREMNER, J.M. Inorganic forms of nitrogen. In: Methods of soil Analysis. (Black, C.A) **Am. Soc. Agron.** Madison, Wisconsin, USA. 1965.
- BRIANE, D. & DOAT, J. Guide technique de la carbonisation: la fabrication du charbon de bois. Aix-en-Provence, ÉDISUD, 1985. 180p.
- BRITTO, D. P. P. S. de; ARONOVICH, S.; RIBEIRO, H. Comparação entre 2 variedades de capim elefante e de 6 diferentes espaços de tempo entre os cortes das plantas. **Boletim do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuária do Centro-Sul**, Rio de Janeiro, n. 4, p. 1681-1687, 1966.
- BRUNKEN, J.N. A systematic study of *Pennisetum purpureum*, (Graminea). **Am. J. Bot.** New York, 64 (2), 1977.
- BURRIS, R. H. The acetylene reduction technique. In: STEWART, W. D. P., (Ed.). Nitrogen fixation by free-living microorganisms. Cambridge: Cambridge University, 1975. p. 249-258. (International Biological Programme, 6).
- CABRAL, L.D.; BHERING, M.; ABREU, J.G.; REVERDITO, R.; PEREIRA, G.A.C.; KAISER, J.; MIRANDA, L.; ZERVOUDAKIS, T.; SOUZA, A.L. Teores de proteína bruta e FDN do capim elefante roxo obtido em diferentes idades de corte na baixada cuiabana. ZOOTEC – Centro de Convenções de Pernambuco, 2006.
- CAMPOS, J. M. S. de. (2007) **Obtenção de híbridos hexaplóides e análise genômica de *Pennisetum sp.* por citometria de fluxo**. Tese de Doutorado, Lavras: UFLA, 115 p. 2007.
- CARVALHO, L.de A. *Pennisetum purpureum*, Schumacher - Revisão. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1985. 86p. (EMBRAPA-CNPGL. Boletim de Pesquisa, 10).
- CARVALHO, M. M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D. F.; e CARVALHO, L. de A. **Capim-elefante: produção e utilização**. 2. ed. revisada. Brasília: Embrapa-SPI Juiz de Fora, 1997.
- CAVALCANTE, V.A. & DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, 108:23-31, 1988.
- CUNHA, M.P.S.C.; PONTES, C.L.F.; CRUZ, I. A.; CABRAL, M. T. F. D.; CUNHA NETO, Z.B.; e BARBOSA, A.P.R. Estudo químico de 55 espécies lenhosas para geração de

- energia em caldeiras. In: 3º encontro Brasileiro em madeiras e em estruturas de madeira: **Anais**, v.2, p. 93-121, São Carlos, 1989.
- COWLING, E.B. & KIRK, T.K. Properties of cellulose and lignocellulose materials and substrats for enzymatic conversion processes. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 6:95-123, 1976.
- DERESZ, F. Manejo de pastagem de capim-elefante para a produção de leite e carne. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM-ELEFANTE, 2, Juiz de Fora, 1994. **Anais ... Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL**, 1994.
- DERESZ, F.; PAIM-COSTA, M.L.; CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; ABREU, J.B.R. Composição química, digestibilidade e disponibilidade de capim-elefante cv. Napier manejado sob pastejo rotativo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.3, p 863-869, 2006.
- DIAS, P.F.; ROCHA, G.P.; ROCHA FILHO, R.R.; LEAL, M.A.A; ALMEIDA, D.L.; e SOUTO, S.M. Produção e valor nutritivo de gramíneas forrageiras tropicais, avaliadas no período das águas, sob diferentes doses de nitrogênio. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.24, n.1, 2000.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRYS, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 212, p. 155-164, 1999.
- DÖBEREINER, J. & DAY, J.M. Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and nitrogen-fixing sites. In INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION. Pullman. Washington State University, **Anais....Washington**, p 518-538, 1975.
- DÖBEREINER J. History and new perspectives of diazotrophs in association with nonleguminous plants. *Symbiosis*, Rehovot, v. 13, p. 1-13, 1992.
- DOMMELEN, VAN A.; KEIJERS, V.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M. (Methyl) ammonium transport in the nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, v. 180, p. 2652-2659, 1998.
- ERIKSEN, J. & HØGH-JENSEN, H. Variations in the natural abundance of <sup>15</sup>N in ryegrass/white clover shoot material as influenced by cattle grazing. **Plant and Soil** 205, 67-76, 1998.
- FAGUNDES, J.L., FONSECA, D.M., GOMIDE, J.A., NASCIMENTO JUNIOR, S.D., VITOR, C.M.T., MORAIS, R.V., MISTURA, C., REIS, G.C. e MARTUSCELLO,

- J.A. Acúmulo de forragem em pasto de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40: 397-403, 2005.
- FALLIK, E.; OKON, Y.; EPSTEIN, E.; GOLDMAN, A.; FISHER, M. Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillum brasiliense* inoculated maize roots. **Soil Biology and Biochemistry**, London, v. 2, p. 147 – 153, 1988.
- FARIA, V. P.; MATTOS, W. R. S.; SILVEIRA FILHO, S.; e SILVEIRA, A. C. Observações preeliminares sobre três variedade africanas de capim-elefante. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, ed. 7. Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, p. 28-29, 1970.
- FAVA, A.R. **Avaliação de clones de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para utilização em capineira no cerrado matogrossense**. Dissertação 76 p. Universidade Federal de Mato Grosso, 2008.
- FLORES, R.A. **Produção de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para fins energéticos no cerrado: resposta a adubação nitrogenada e idade de corte**. Dissertação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, p.66, 2009.
- GARCIA DE SALOMONE, I.E.; DÖBEREINER, J; URQUIAGA, S; BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by <sup>15</sup>N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 249-256, 1996.
- GOLÇALVEZ, D. A. **Efeito da Maturidade e da rebrotação sobre a produção, composição e valor nutritivo de quatro cultivares de *Pennisetum Purpureum***. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 183 p. 1980.
- GOLDEMBERG,J.; MONACO, L.C.; e MACEDO, I.C. The Brazilian Fuel-Alcohol Program in Renewable Energy-Sources for Fuels and Electricity, eds Johansson, T.B.; Kelly, H.; Reddy, A.K.N.; Williams, R.H., Island Press, Washington. 1993.
- GOMES, V. M. **Disponibilidade e valor nutritivo de braquiária vedada para uso na região semi-árida de Minas Gerais**. 2003. 99 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- HANNA, W.W. Melhoramento do capim-elefante. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; PEREIRA, A.V. (Ed.). **Biologia e Manejo do Capim-elefante**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999.
- HILLESHEIM, A. Manejo do gênero *Pennisetum* sob pastejo. In: SIMPOSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 9, 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1988.

- HØGH-JENSEN, H. & SCHJOERRING, J.K. Measurement of biological dinitrogen fixation in grassland: Comparison of the enriched  $^{15}\text{N}$  dilution and the natural  $^{15}\text{N}$  abundance methods at different nitrogen application rates and defoliation frequencies. **Plant and Soil**, v. 166, 1994.
- IPCC . Intergovernmental Panel on Climate Change Working Group II, chapter 19, 3rd. Session, Montreal, 16-20 de Outubro, WMO, UNEP, draft. 1995.
- JAUHAR, P. P. Cytogenetics and breeding of pearl millet and related species. New York: Alan R. Liss, 1981.
- JENKINSON, D.S.; FOX, R.H.; RAYNER, J.H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen – the so-called “priming” effect. **Journal of Soil Science**, v. 36, 1985.
- JOHANSSON, T.B.; KELLY, H.; REDDY, A.K.N.; WILLIAMS, R.H.; Eds. Renewable Energy - Sources for Fuels and Electricity, Island Press, Washington DC. 1993.
- KAPULNIK, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. Yield response of spring wheat cultivars (*Triticum aestivum* and *T. turgidum*) to inoculation with *Azospirillum brasilense* under field conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.4, p. 27-35, 1987.
- KATIVU, S.; MITHEN, R. *Pennisetum* in Southern África. Plant Genetic Resources Newsletter, v. 73/74, p.1-8, 1987.
- KAUTER, D.; LEWANDOWSKI, I.; e CLAUPEINA, W. Quantity and quality of harvestable biomass from Populus short rotation coppice for solid fuel use. A review of the physiological basis and management influences. **Biomass and Bioenergy**, v.24 (6), 411–427. 2006.
- LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Indoles-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, London, v.8, p. 298-300, 2000.
- LAVEZZO, W.; LAVEZZO, O.E.N.M.; e GARCIA, E.A. Estudo comparativo das variedades Roxo, Mineiro e Vruckwona de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) II. Composição bromatológica pelo método tradicional e análise da fração fibrosa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22., 1985, Camboriú. **Anais...** Camboriú: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1985.
- LEITE, G. G. & EUCLIDES, V. P. Utilização de pastagens de *Brachiaria* spp. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 267-297.
- LEITE, J.M; MORAIS, R.F; SOUZA, B.J;ALVES, B.J.R; BODDEY R.M; SOARES, L.H.B; e URQUIAGA, S.S; Rendimento de biomassa e contribuição da FBN em cinco

- genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum), In: XXXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Gramado, 2007. **Anais...** Gramado.2007. CD-ROM.
- LEITE, J.M; MORAIS, R.F; BARROS JÚNIOR, J.C.; ALVES, B.J.R.; REIS, V.M.; e URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio em duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com mistura de bactérias diazotróficas. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 28.; Reunião Brasileira sobre micorrizas, 12.; Simpósio Brasileiro de microbiologia do Solo, 10.; Reunião Brasileira de Biologia do Solo, 7., 2008. Londrina. Desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental. Fertbio 2008: **Anais...**Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Embrapa Soja; Universidade Estadual de Londrina, 2008. 1 CD ROM.
- LEITE, R.M.B.; QUEIROZ FILHO, J.L.; e SILVA, D.S. Produção e valor nutritivo do capim-elefante cultivar Cameroon em diferente idades. **Agropecuária Técnica**, vol.21, n. 1/2, 2000.
- LEMUS, R; BRUMMER, E.C; MOORE, K.J; MOLSTAD, N.E; BURRAS, C.L; BARKER, M.F. Biomass yield and quality of 20 switchgrass populations in southern Iowa, USA: **Biomass & Bioenergy**, v. 23, p. 433 – 442, 2002.
- LIMA, F.P.; MARTINELLI, D.; SARTINI, H.J.; PARES JUNIOR, M.F.; BIONDI, P. Pastejo competitivo entre quatro gramíneas tropicais em latossolo roxo, na engorda de bovinos da raça Nelore. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v.26, n. único, p.189-197, 1969.
- LIN, W.; OKON, Y.; HARDY, R.W.F. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*, **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 45, p. 1775-1779, 1993.
- LUCCI, C.S.; ROCHA G.L. da; e FREITAS E.A.N. de. Produção de leite em regime exclusivo de pastagens de capins fino e napier. **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v.29, n.1, p. 45-51, 1972.
- MAGALHÃES, J.A.; LOPES, E.A.; RODRIGUES, B.H.N.; COSTA, N.L.; BARROS, N.N.; e MATTEI, D.A. Influencia da adubação nitrogenada e da idade de corte sobre o rendimento forrageiro do capim-elefante. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 91-96, 2006.
- MAGALHÃES, J. A.; RODRIGUES, B. H. N.; CARNEIRO, M. S. de S.; ANDRADE, A. C.; COSTA, N. L.; PINTO, M. do S. de C.; e FILHO, W. de J. E. M. Influência da adubação nitrogenada e da idade de corte sobre os teores de proteína bruta e fibra em

- detergente neutro de três cultivares de capim elefante, **REDVET – Revista Eletrônica de Veterinária**, v.10, n. 4, Abril/2009.
- MARTELLO, V. P.; WERNER, J. C.; COLOZZA, M. T.; LEITE, V. B. de O.; NARCISIO SOBRINHO, J. Doses de nitrogênio para maximização da produção de capim elefante cv. Guaçu no período das secas. **Boletim de Indústria Animal**. v.57, n.2, p.151-161, 2000.
- MARTINS-COSTA, R.H.A.; CABRAL, L.S.; BHERING, M.; ABREU, J.G.; ZERVOUDAKIS, J.T.; RODRIGUES, R.C.; e OLIVEIRA, I.S. Valor nutritivo do capim-elefante obtido em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p. 397-406, 2008.
- MCKENDRY, P. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource technology*; v. 83;p. 37–46. 2002
- McLAUGHLIN, S. B. & WALSH, M. E. Evaluating environmental consequences of producing herbaceous crops for bioenergy. **Biomass and Bioenergy**, v.14, p.317-324, 1998.
- MCCLURE, J. P.; COST N. D.; KNIGHT, H. A. Multiresource inventories-a new concept for forest survey. USDA For. Servo Res. Pap. SE-191, Southeast. For. Exp. Stn., Asheville, N.C. 1979.
- MENEZES, C.R.; SILVA, I.S.; DURRANT, L.R. Bagaço de cana: fonte para produção de enzimas ligninocelulolíticas. **Revista Estudos Tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 68-78, 2009.
- MISTURA, C. **Doses crescentes de nitrogênio e fósforo na produção e qualidade do capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Mott.** 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2001.
- MISTURA, C; FAGUNDES, J.L; FONSECA, L.M; MOREIRA, C.L.M; JÚNIOR, D.M; JÚNIOR, J.R. Disponibilidade e qualidade do capim-elefante com e sem irrigação adubado com nitrogênio e potássio na estação da seca: **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 372 – 379, 2006.
- MISTURA, C; FONSECA, D.M.; MOREIRA, L.M; FAGUNDES, J.L.L.; MORAIS, R.V.; QUEIROZ, A.C.; e RIBEIRO JÚNIOR, J.I. Efeito da adubação nitrogenada e irrigação sobre a composição químico-bromatológica das laminais foliares e da planta inteira de capim-elefante sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1707 – 1714, 2007.
- MOA/DOE Project Expert Team. 1998. *Assessment of Biomass Resource Availability in China*, pp. 1–19. China Environmental Science Press, Beijing. Mohsenin, N., and

- Zaske, J. 1975. Stress relaxation and energy requirements in compaction of unconsolidated materials. *J. Agricultural Engineering Re* 2410 search 11: 193–205
- MOIR, K.W. The constancy of the digested cell wall in grasses. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.83, n.2, p.259-258, 1974.
- MORAIS, R.F. **Potencial produtivo e eficiência da fixação biológica de nitrogênio de cinco genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), para uso como fonte alternativa de energia**. Tese de Mestrado, UFRRJ, p. 87, 2008.
- MORAIS, R. F.; SOUZA, B. J. de.; LEITE, J. M.; SOARES, L. H. de B.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Elephant grass genotypes for bioenergy production by direct biomass combustion. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 133-140, fev. 2009.
- MORAIS, R.F.; ZANETTI, J.B.; PACHECO, B.M.; JANTÁLIA, C.P.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Produção e qualidade da biomassa de diferentes genótipos de capim-elefante cultivados para uso energético. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4, n. 2, 2009b.
- MORAIS, R.F.; SOARES, L.H.B.; JANTÁLIA, C.P.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; e URQUIAGA, S. Potencial produtivo e eficiência da fixação biológica de nitrogênio em diferentes genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach) para uso como fonte alternativa de energia. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009c. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa & Desenvolvimento 41)
- MOREIRA, L. M. et al. Absorção e níveis críticos de fósforo na parte aérea para manutenção da produtividade de capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Napier), **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.30, p. 1170-1176, 2006.
- MOZZER, O. L. Avaliação e seleção de forrageiras para a Zona da Mata de Minas Gerais. In: **Relatório Técnico do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite**, 1981-1985. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, p. 81-88, 1986.
- MOZZER, O.L. & LOBATO NETO, J. **Manejo de Capim-elefante sob pastejo**. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, p. 4, 1989. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 5).
- NEYRA, C.A & DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation in grasses. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 29, p. 1-38, 1977.
- OLIVARES, F.L. **Taxonomia, ecologia e mecanismos envolvidos na infecção e colonização de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. Híbrido) por bactérias**

- endofíticas do gênero *Herbaspirillum*. Tese (Doutorado) - UFRRJ, Seropédica, R.J, 1997.
- OLIVEIRA, A.L.M., URQUIAGA S., DOBEREINER J. & BALDANI J.I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant & Soil**. 242: 205-215, 2002.
- OTERO, J.R. de. **Informações sobre algumas plantas forrageiras**. 2 ed. Rio de Janeiro: SAI, 1961. 334p. (Série Didática, 11).
- PACIULLO, D.S.C.; CARVALHO, C.A.B.; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; LOPES, F.C.F.; e ROSSIELLO, R.O.P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 573-579, 2007.
- PEGORARO, R.F.; MISTURA, C.; WENDLING, B.; FONSECA, D.M.; FAGUNDES, J.L. Manejo da água e do nitrogênio em cultivo de capim-elefante. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.2, p. 461-467, 2009.
- PEOPLES, M.B., FAIZAH A.W., RERKASEM B. & HERRIDGE D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. ACIAR, Monograph No. 11, Canberra, 76p, 1989.
- PEOPLES, M.B.; HERRIDGE D.F.; LADHA, J.K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.174, p. 3-28, 1995.
- PEREIRA, A.V.; MARTINS, C.E.; CRUZ FILHO, A.B. et al. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Juiz de Fora: Fundação MT, 2001. p. 549-602.
- PEREIRA, J.R. & OLIVEIRA, L.O.B. Efeito de duas doses de nitrogenio na produção de matéria seca e proteína bruta no capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), v. 26, n. 1, p. 28-32, 1976.
- PERSELLO-CARTINEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, Oxon, v. 26, p. 189-199, 2003.
- PESCE, D.M.C.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; RODRIGUEZ, N.M.; e BORGES, I. Análise de vinte genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), de portes médio e alto, pertencentes ao ensaio nacional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 978-987, 2000.

- PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. Seropédica: EDUR, 1998. 159p.
- PUPO, N. I. H; 1950 – **Manual de pastagens forrageiras: Formação, conservação, utilização** – Campinas, SP: Instituto Capineiro de Ensino Agrícola, 1979. Edição de 1981.
- QUEIROZ FILHO, J.L.; SILVA, D.S.; NASCIMENTO, I.S. Produção de matéria seca e qualidade do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cultivar roxo em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, 2000.
- QUEIROZ FILHO, J.L., SILVA, D.S., NASCIMENTO, I.S. Produção de matéria seca de cultivares e qualidade de cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 27(2):262-66. 1998
- QUESADA, D.M. **Seleção de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN)**. Tese de Mestrado, UFRRJ, Seropédica, R.J. 140p, 2001.
- QUESADA, D.M. **Parâmetros quantitativos e qualitativos da biomassa de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com potencial para uso energético, na forma de carvão vegetal**. 65f. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.
- QUESADA, D.Q.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M. & URQUIAGA, S. Parâmetros qualitativos de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para a produção de energia através da biomassa. **Circular Técnica 8**, Seropédica, RJ. Novembro, 2004.
- QUESADA, D. M.; RESENDE, A. S.; XAVIER, R.P.; COELHO, C. H. M.; REIS, V. M.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R. & URQUIAGA, S. Efeito da adubação verde e N-fertilizante no acúmulo de biomassa e fixação biológica de nitrogênio em genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) **Revista Agronomia**, Seropédica, v. 37, n. 2, p. 53-58, 2003.
- QUIRINO, W. F.; VALE, A. T. do; ANDRADE, A. P. A. de; ABREU, V. L. S.; e AZEVEDO, A. C. dos S. Poder calorífico da madeira e de materiais ligno-celulósicos. **Revista da Madeira**. n. 89, p. 100-106, 2005.
- QUIRINO, W.F.; VALE, A.T.; ANDRADE, A.P.A.; ABREU, V.L.S.; e AZEVEDO, A.C.S. Poder Calorífico da Madeira e de Resíduos Lignocelulósicos. **Biomassa & Energia**, v.1, n.2, 2004.

- RAISON, R.J. Opportunities and impediments to the expansion of forest bioenergy in Australia. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, p. 1021-1024, 2006.
- RAVINDRANATH, N.H; BALACHANDRA, P; DASAPPA, S; e RAO, K.U. Bioenergy technologies for carbon abatment. **Biomass and Bioenergy**, Rotterdam, v.30, p. 826-837, 2006.
- REIS, V.M. Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22p. (Documentos, 232).
- REIS, V. M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm tress. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 19, p. 227-247, 2000.
- REIS, V. M.; OLIVARES, F.L.; OLIVEIRA, A.L.M.; REIS JUNIOR, F. B.; BALDANI, J.I.; e DÖBEREINER, J. Technical approaches to inoculate micropropagated sugar cane plants were *Acetobacter dizotrophicus*. **Plant and Soil**, 206:205-211, 1999.
- REIS, V. M.; REIS JUNIOR, F. B. ; QUESADA, D. M. ; OLIVEIRA, O. C. A. ; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation associated with tropical pasture grasses. **Aust. J. Pl. Phys.**, v. 28, p. 837-844, 2001.
- REIS, V.M.; URQUIAGA, S.; PEREIRA, W.; SILVA, M.F.; HIPÓLITO, G.; OLIVEIRA, R.P.; MORAIS, R.F.; LEITE, J.M.; SCHULTZ, N.; e BAPTISTA, R.B. Eficiência agronômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo. Seropédica-EMBRAPA Agrobiologia (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 45), 2009.
- RIBEIRO, K.G., GOMIDE, J.A. e PACCIULLO, D.S.C. 1999. Adubação nitrogenada do capim Elefante cv MOTT. Valor nutritivo ao atingir 80 e 120cm de altura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.6, p.1194 - 1202, 1999.
- RIBEIRO, K.G. **Rendimento forrageiro e valor nutritivo do capim-elefante “Anão”, sob cinco doses de nitrogênio ao atingir 80 e 120 cm de altura**. Viçosa, MG: UFV, Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 60p.1995.
- ROBERTSON, T. and SHAPOURI, H. Biomass: an Overview in the United States of America, Proceodings First Biomass Conference of the America: Energy, Enviroment, Agrivulture, and Industry, Agosto 30 - Setembro 2, Burlington, Vermont, U.S.A. 1993.
- RODRIGUES, L.R. de A.; PEDREIRA, J.V.S.; e MATTOS H.B. de. Adaptação ecológica de algumas plantas forrageiras. **Zootecnia, Nova Odessa**, v.13, n.4, p. 201-218, 1975.

- RODRIGUES, P.H.M.; BORGATTI, L.M.O.; GOMES, R.W.; PASSINI, R.; e MEYER, P.M. Efeito da adição de níveis crescentes de polpa cítrica sobre a qualidade fermentativa e o valor nutritivo da silagem de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1138-1145, 2005.
- RUSCHEL, AP.; MATSUI, E.; ORLANDO FILHO, J. & BITTENCOURT, V.C. Closed system nitrogen balance studies in sugarcane utilizing <sup>15</sup>N – ammonium sulphate. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF THE SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 16, São Paulo, 1977. Proceedings. São Paulo, ISSCT, p.1539-47, 1978.
- SAMSON, R., DRISDELLE, M., MULKINS, L., LAPOINTE, C., and DUXBURY, P. The use of switchgrass biofuel pellets as a greenhouse gas offset strategy. **In:** 2530 Bioenergy 2000: Proceedings of the 9th Biomass Conference of the Americas, October 2000. Buffalo, New York, 2000.
- SAMSON, R; MANI, S; BODDEY, R; SOKHANSANJ, S; QUESADA, D; URQUIAGA, S; REIS, V; HO LEM, C. The potential of C<sub>4</sub> perennial grasses for developing a global BIOHEAT industry. **Critical reviews in plant sciences**. 24:1-35, 2005.
- SANTANA, J.P.; PEREIRA, J.M.; ARRUDA, N.G. Avaliação de cultivares de capim-elefante (*Pennisetumpurpureum* Schum.) no Sul da Bahia. I. Agrossistema Cacaueiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.18, n.3, 1989.
- SANTOS, E. A. dos.; SILVA, D. S. da.; e QUEIROZ FILHO, J. L. de. Composição química do capim-elefante cv. roxo cortado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 30, p 18-23, 2001a.
- SANTOS, E.A.; SILVA, D.S.; e QUEIROZ FILHO, J.L. de. Aspectos produtivos do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) cv. Roxo no Brejo Paraibano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 30, p 31-36, 2001b.
- SANTOS, E.A.; SILVA, D.S.; e QUEIROZ FILHO, J.L. de. Perfilhamento e algumas características morfológicas do capim-elefante cv. Roxo sob quatro alturas de corte em duas épocas do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 30, p 24-30, 2001c.
- SANTOS, M.V.F.; DUBEUX JÚNIOR, J.C.B.; SILVA, M.C.; SANTOS, S.F.; FERREIRA, R.L.C.; MELLO, A.C.L.; FARIAS, I.; e FREITAS., E.V. Produtividade e composição química de gramíneas tropicais na zona da mata de Pernambuco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n. 32, n.4, p. 821-827, 2003.

- SARTINI, H.J.; MARTINELLI, D.; PARES JUNIOR, M.F.; E BIONDI, P. Pastejo baixo comparado com pastejo alto visando a produção de carne em pastagens de elefante Napier (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v.27/28, p.295-303 1970/1971.
- SCHANK, S. C.; DIZ, D. A.; BATES, D. B.; and THOMPSON, K. E. Genetic improvement of napier grass and hybrids with pearl millet. **Biomass and Bioenergy**, v. 5, p. 35-40, 1993.
- SCHEMER, M.R.; VOGEL, K.P.; MITCHELL, R.B.; PERRIN, R.K. Net energy of cellulosic ethanol from switch grass. **PNAS**, v.105, n.2, p. 464-469, 2008.
- SHEARER, G. & KOHL, D.H. N<sub>2</sub> fixation in field settings: estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance. **Aust. J. Plant Physiol.**, 13, 699-756, 1986.
- SILVA, L.F.P. **Maturidade e lignificação em gramíneas tropicais, utilizadas na alimentação de ruminantes**. Tese (livre-docência) Universidade de São Paulo, 2009.
- SILVA, L.L.G.G.; ALVES, G.C.; RIBEIRO, J.R.A.; URQUIAGA, S.; SOUTO, S.M.; FIGUEIREDO, M.V.B.; e BURITY, H.A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes idades de corte. **Revista Archivos de Zootecnia**, vol. 59, p. 21-30, 2010.
- SILVA, M.B. & MORAIS, A.S. Avaliação energética do bagaço de cana em diferentes níveis de umidade e graus de compactação. XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção. Rio de Janeiro, 2008.
- SILVA, M.M.P.; VASQUEZ, H.M.; SILVA, J.F.C.; BRESSAN-SMITH, R.E.; ERBESDOBLER, E.D.; e SOARES, C.S. Composição bromatológica, disponibilidade de forragem e índice de área foliar de 17 genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) sob pastejo, em Campos dos Goytacazes, RJ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 313-320, 2002.
- SILVA, P.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; DETMANN, E.; PAIXÃO, M.L. Valor energético do capim-elefante em diferentes idades de rebrota e estimativa da digestibilidade in vitro da fibra em detergente neutro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 3, p. 711-718, 2007.
- SMITH J.L.; MYUNG H. Rapid procedures for preparing soil and KCl extracts for <sup>15</sup>N analysis. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, v. 21, n. 17 and 18: 2173-2180, 1990.

- SOARES, L.H.B.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; e BODDEY, R.M. Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. (Embrapa Agrobiologia - Circular Técnica, 27).
- Sociedade Brasileira de Silvicultura (SBS), <http://www.sbs.org.br/> Acesso em junho 2010.
- SOMERS, E. VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signaling: a love parade beneath our feet. **Critical Review in Microbiology**, Boca Raton, v. 30, p. 205-240, 2004.
- SOUZA, S.R. & FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. cap. 09, Viçosa, 2006.
- SOUTO, S.M. **Variação estacional da fixação de N<sub>2</sub> e desnitrificação em gramíneas forrageiras tropicais**. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 1982.
- S. SOBRINHO, F.; PEREIRA, A. V.; LEDO, F. I. S.; BOTREL, M. A.; e OLIVEIRA, J. S.; XAVIER, D. F. Avaliação agronômica de híbridos interespecíficos entre capim-elefante e milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 873 – 880, 2005.
- TRUGILHO, P.F. Densidade básica e estimativa de massa seca e de lignina na madeira em espécies de *Eucalyptus* spp. **Ciência e Agrotecnologia**: Lavras, v. 33, n. 5, p. 1228-1239, 2009.
- URQUIAGA S.; CRUZ K.H.S.; and BODDEY R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 56:105-114. 1992.
- URQUIAGA. S.; GILLER K. E.; e CADISCH, G. Tracing mechanisms of nitrogen transfer from legume to grass in tropical pastures. In *Soil Management in Sustainable Agriculture*, eds. H. Lee and H. Cook, pp. 104±112. Wye College, Wye, 1994.
- URQUIAGA, S.; ALVES, B.; BODDEY, R.M. Capim-elefante: Uma nova fonte alternativa de energia. **Ambiente Brasil** ([www.ambientebrasil.com.br](http://www.ambientebrasil.com.br)), 2004.
- URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Produção de biocombustíveis - A questão do balanço energético. **Revista de Política Agrícola**, no. 5, Ano XIV: 42-46. Brasília, DF. 2005.
- VALE, A.T.; BRASIL, M.A.M.; CARVALHO, C.M.; e VEIGA, R.A.A. Produção de energia do fuste de *Eucalyptus grandis* Hill Ex Maiden e *Acacia mangium* Willd em diferentes níveis de adubação. **Revista Cerne**, v. 6, n.1, p. 83-88, 2000.

- VALLIS, I.; HAYDOCK, K.P.; ROSS, P.J.; and HENZELL E. F. Isotopic studies on the uptake of nitrogen by pasture plants. **Australian Journal of Agricultural Research** 18, 865-877, 1967.
- VAN SOEST, P.J. & WINE, R. H. (1968) Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **J. Assoc. Official Agr. Chem.**, 51:780-785.
- VICENTE-CHANDLER, J.; CARO-COSTAS, R.; PEARSON, R.W.; ABRUNA, F.; FIGARELLA, J.; and SILVA, J. The intensive management of tropical forages in Puerto Rico. Puerto Rico: University Puerto Rico – Agricultural Experimental Station, 1974. 152p. (Bulletin, 187).
- VICENTE-CHANDLER, J.; SILVA, S.; and FIGARELLA, J. The effect of nitrogen fertilization and frequency of cutting on the yield and composition of three tropical grasses. **Agron. J.**, 51(3).1959.
- VILELA, H & CERIZE, D. **Capim Elefante Paraíso na geração de energia**. <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos/2009>, Acesso em março de 2010.
- WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, p. 487-511, 2001.
- XAVIER, D.F.; BOTREL, M.A.; VERNEQUE, R.S.; FREITAS, V.P.; e BODDEY, R.M. Estabilidade da produção de forragem de cultivares de capim-elefante em solo com baixa disponibilidade de nitrogênio. **Artículo Científico: Pasturas tropicales**, vol. 20, n. 2, 1998.