

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

DISSERTAÇÃO

**Produtividade e Qualidade Tecnológica da
Cana-de-açúcar Inoculada com Bactérias
Diazotróficas**

Willian Pereira

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**PRODUTIVIDADE E QUALIDADE TECNOLÓGICA DA CANA-DE-
AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS**

WILLIAN PEREIRA

Sob a Orientação da Professora
Veronica Massena Reis

e Co-orientação do Professor
Segundo Urquiaga

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

Ficha Catalográfica

633.61

P436p

T

Pereira, Willian, 1983

Produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas / Willian Pereira – 2011. 70 f.: il.

Orientador: Veronica Massena Reis.

Dissertação(mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f. 43-53.

1. Cana-de-açúcar - Cultivo – Teses. 2. Cana-de-açúcar – Inoculação – Teses. 3. Cana-de-açúcar – Bacteriologia – Teses. 4. Cana-de-açúcar - Crescimento – Teses. 5. Cana-de-açúcar – Variedades – Teses. 6. Microorganismos fixadores de nitrogênio – Teses I. Reis, Verônica Massena, 1961-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

WILLIAN PEREIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 03/02/2011

Veronica Massena Reis. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Fábio Lopes Olivares. Dr. UENF

Eduardo Lima. Dr. UFRRJ

DEDICATÓRIA

À minha família pelo amor, cuidado, educação e formação.

Aos amigos, presentes de Deus,

Aos que mesmo sem condições lutaram e venceram.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai, soberano, criador da vida.

A Jesus Cristo, amigo certo nas horas incertas.

À minha linda família: pai, mãe e irmão pelo amor e por sempre acreditarem em mim.

À Thábata Lessa, minha inspiração.

À Aliança Bíblica Universitária (ABU) pela formação e pelos momentos valiosos proporcionados.

Ao amigo Alessandro Clementino pela amizade e força na caminhada.

Aos amigos sempre presentes mesmo na ausência!

À orientadora Veronica Massena Reis, pela orientação, confiança, suporte e exemplo de superação.

Ao Dr. Segundo Urquiaga pelo exemplo de dedicação a pesquisa.

Aos pesquisadores da Embrapa Agrobiologia sempre dispostos a ajudar.

À excelente equipe de trabalho: Guilherme Hipólito, José Marcos Leite, Nivaldo Schutz, Renan Pedula, Valfredo Chaves, Jailson Silva, Ygor Maia, Rafael Butke, Fabrício Giori, Jadson Guedes, Bruno Porto, obrigado pelas contribuições fundamentais que vocês deram!

Aos técnicos Wilson e Lúcio, ao sempre presente Geraldo Baêta e todos os colegas do laboratório de Gramíneas.

Aos funcionários da Embrapa Agrobiologia pela colaboração e suporte.

Ao engenheiro agrônomo Gleuber Teixeira pela amizade e contribuição no trabalho.

A Raízen, pelo suporte através de toda estrutura e por disponibilizar todo o pessoal.

A Embrapa Agrobiologia, pela formação e toda estrutura de trabalho.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela formação acadêmica e pessoal.

Ao Curso de Pós-graduação em Agronomia - Ciência do Solo, pela oportunidade e excelente formação.

Ao CNPq pela bolsa e auxílio financeiro.

RESUMO

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

A descoberta de alternativas para a nutrição nitrogenada e promoção de crescimento em plantas de cana-de-açúcar é um assunto de interesse na redução de emissão de gases de efeito estufa e no aumento do balanço energético na produção do etanol de cana. Alternativas vindas da própria natureza são potenciais para ganhos de produtividade de forma sustentável. Uma dessas alternativas é a aplicação de bactérias capazes de promover o crescimento vegetal através de mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a produção de fitormônios. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade e qualidade tecnológica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com uma mistura de bactérias diazotróficas no ciclo da cana-planta e da cana-soca, sendo neste segundo caso associada com doses crescentes de nitrogênio. Dois experimentos foram instalados em duas usinas de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. O ensaio em cana-planta foi instalado em abril de 2008 e o ensaio em soqueira foi avaliado por dois anos tendo início em novembro de 2008. No experimento de cana-planta foram utilizadas sete variedades de cana-de-açúcar: RB72454, RB867515, RB855453, RB92579, RB935744, SP81-3250 e CTC-15, inoculadas e não inoculadas. As parcelas foram constituídas de seis sulcos de 10 m, com espaçamento de 1,40 m, total de 84 m² por parcela. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições. Em cana-soca foi utilizada a variedade SP80-3280. Foram utilizadas doses do inoculante (10^5 e 10^6 cel mL⁻¹) associadas a doses de nitrogênio (50, 100 e 150 kg ha⁻¹ de N). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas com cinco repetições. A aplicação do inoculante foi realizada mecanicamente com um conjunto trator e pulverizador. Foram avaliados, além dos parâmetros agrônômicos, parâmetros tecnológicos e econômicos. No experimento em cana-planta, a inoculação promoveu significativo aumento de produtividade de colmos na variedade RB72454. Não foram observadas respostas nas demais variedades estudadas quanto a produtividade, mas respostas significativas foram observadas quanto aos atributos tecnológicos. A inoculação promoveu aumento significativo no ATR nas variedades RB72454, RB855453, RB92579 e SP81-3250. No experimento em soqueira foram observados incrementos na produtividade de colmos, acúmulo de N e houve resposta significativa em alguns atributos tecnológicos na variedade SP80-3280. A inoculação promoveu aumento na produtividade e a aplicação mecânica mostrou ser eficiente e rentável para o produtor. Os resultados demonstram a viabilidade da tecnologia para a cana-de-açúcar com ganhos em produtividade e principalmente ganhos ambientais.

Palavras-chave: Inoculante. Promoção de crescimento. Variedades de cana-de-açúcar.

ABSTRACT

PEREIRA, Willian. **Productivity and technological quality of sugar cane inoculated with diazotrophs**. 2011. 70p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The discovery of alternatives to nitrogen nutrition and growth promotion in plants of cane sugar is a matter of interest in reducing emissions of greenhouse gases and increasing energy balance for ethanol production from sugar cane. Alternatives are coming from the very nature of potential for productivity gains in a sustainable manner. One such alternative is the use of bacteria capable of promoting plant growth through mechanisms such as biological nitrogen fixation (BNF) and the production of hormones. The aim of this study was to evaluate the yield and technological quality of varieties of sugar cane inoculated with a mixture of diazotrophs in the cycle of plant cane and ratoon cane, and in this second case associated with increasing levels of nitrogen. Two experiments were conducted on two plants sugar cane in São Paulo. The test plant cane was installed in April 2008 and the test was evaluated stumps for two years beginning in November 2008. In the experiment of sugarcane plant were tested seven varieties of cane sugar: RB72454, RB867515, RB855453, RB92579, RB935744, SP81-3250 and CEC-15, inoculated and uninoculated. The plots consisted of six furrows of 10 m, with spacing of 1.40 m, total 84 m² per plot. The experimental design was randomized blocks with four replications. In ratoon cane was used SP80-3280. Doses were used in inoculation (10⁵ and 10⁶ cel mL⁻¹) linked to nitrogen (50, 100 and 150 kg ha⁻¹ N). The experimental design was a randomized block in split plot with five replications. The application of the inoculant was done mechanically with a tractor and sprayer. Were assessed, and the agronomic parameters, agribusiness and economic parameters. In the experiment in plant cane, inoculation caused a significant increase in the crop yield in the variety RB72454. No responses were observed in other studied varieties for yield, but significant responses were observed for technological attributes. Inoculation caused a significant increase in the ATR in varieties RB72454, RB855453, RB92579 and SP81-3250. In the ratoon experiment increases were observed in the crop yield and there was a significant response in some technological attributes in the variety SP80-3280. Inoculation increased the productivity and mechanical application is efficient and profitable for the producer. The results demonstrate the feasibility of technology for the cane sugar with gains in productivity and environmental gains mainly.

Key words: Inoculant. Growth promotion. Sugar cane varieties.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Cana-de-açúcar no Brasil: Situação Atual e Perspectivas.....	3
2.2 Adubação Nitrogenada na Cana-de-açúcar	4
2.4 Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal.....	5
2.3 Bactérias Promotoras de Crescimento Associadas a Cana-de-açúcar.....	6
2.5 Estudos com Inoculação de Bactérias Diazotróficas em Cana-de-açúcar.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Preparo do Inoculante.....	10
3.2 Produtividade e Qualidade Tecnológica de Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas Com Bactérias Diazotróficas no Ciclo da Cana-planta - Experimento I.....	11
3.2.1 Caracterização e preparo do solo	11
3.2.2 Variedades.....	11
3.2.3 Tratamentos e delineamento experimental	12
3.2.4 Inoculação e plantio	12
3.2.5 Colheita.....	12
3.2.6 Análise estatística.....	13
3.3 Produtividade, Qualidade Tecnológica e Rendimento Econômico da Cana-de-açúcar Sob Inoculação com Bactérias Diazotróficas Associadas a Doses de N no Ciclo da Cana-soca - Experimento II	13
3.3.1 Caracterização e histórico da área.....	13
3.3.2 Características da variedade.....	14
3.3.3 Delineamento experimental e tratamentos.....	14
3.3.4 Metodologia de aplicação do inoculante.....	15
3.3.6 Colheita e avaliações.....	16
3.3.8 Análise estatística.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1 Produtividade e Qualidade Tecnológica de Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas com Bactérias Diazotróficas no Ciclo da Cana-planta - Experimento I	18
4.1.1 Produtividade de colmos.....	18
4.1.2 Análise tecnológica.....	19
4.2 Produtividade de Colmos, Qualidade Tecnológica e Rendimento Econômico da Cana-de-açúcar Sob Inoculação com Bactérias Diazotróficas Associadas a Doses de N no Ciclo da Cana-soca - Experimento II.....	24
4.2.1 Avaliação de falhas	24
4.2.2 Balanço hídrico climatológico	24
4.2.3 Produtividade de colmos e acúmulo de fitomassa seca	25
4.2.4 Acúmulo de nitrogênio	30
4.2.5 Análise tecnológica.....	32
4.2.6 Margem de contribuição agrícola (MCA).....	36
5 CONCLUSÕES	41
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
7 ANEXO	54

1 INTRODUÇÃO

A crescente necessidade de ampliar de modo sustentável o uso de fontes renováveis de energia, encontra no etanol de cana-de-açúcar uma alternativa viável e com significativo potencial de expansão. A cana-de-açúcar está presente na história do Brasil desde o início de sua colonização. Possui historicamente enorme importância social e econômica sendo responsável por diversos ciclos de riqueza ao longo da história nacional. Atualmente, a cana-de-açúcar ocupa no Brasil uma área de mais de oito milhões de hectares. Em 2008, o setor faturou cerca de US\$ 28,2 bilhões, equivalente a quase 2,2% do PIB nacional. No mesmo ano, o setor manteve aproximadamente um milhão de empregos formais. Da matriz energética brasileira 45,5% é renovável e 17,4% é derivado da cana-de-açúcar (MME, 2011). Da terra disponível para a agricultura (340 milhões de hectares), apenas 0,9% é ocupada pela cana-de-açúcar, apresentando um grande potencial de expansão sem competir com áreas destinadas a produção de alimentos ou com áreas de florestas.

A cana-de-açúcar é responsável pelo consumo de 14% do fertilizante utilizado no Brasil. Os fertilizantes são responsáveis por 22% da energia fóssil consumida (MJ tc^{-1}) e por 11% da emissão de gases de efeito estufa na produção de cana-de-açúcar (MACEDO; SEABRA; SILVA, 2008). Com isso, a produção de fertilizantes tem recebido atenção especial, principalmente fertilizantes nitrogenados, que além das suas emissões de óxido nítrico (N_2O) um dos principais gases de efeito estufa, demanda grandes quantidades de energia no seu processo produtivo. Uma molécula de N_2O na atmosfera tem um potencial de efeito estufa 298 vezes maior do que a de CO_2 (IPCC, 2007). No manejo da cana-de-açúcar as emissões mais importantes de N_2O são esperadas pela aplicação no solo de fertilizantes nitrogenados, tortas e outras fontes de nitrogênio (SOARES et al., 2009).

As culturas agrícolas são dependentes da aplicação de fertilizantes, sejam eles de origem mineral ou orgânica. O desenvolvimento de novas tecnologias que visem a redução e/ou aumento da eficiência no uso de fertilizantes, especialmente os nitrogenados, é essencial para sustentabilidade do sistema de produção em expansão. Frente a isso, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), um processo bioquímico pelo qual bactérias associadas à planta conseguem transformar o N_2 do ar em adubo, é cada vez mais importante. Na FBN, bactérias com capacidade de fixar o nitrogênio utilizam parte da energia derivada da fotossíntese das plantas para transformar o N_2 do ar em amônia, que fica disponível para utilização pelas plantas. Ou seja, espécies vegetais capazes de se associarem de forma eficiente com bactérias diazotróficas são adubadas naturalmente com nitrogênio, contribuindo para uma enorme economia de energia fóssil.

A cana-de-açúcar se beneficia desta associação. No fim dos anos 50, Döbereiner (1959) encontrou elevada população de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Beijerinckia*, no solo dos canaviais. Nos anos 70, vários experimentos mostraram contribuições significativas da fixação de N_2 às plantas de cana-de-açúcar (RUSCHEL et al., 1978). Dez anos mais tarde, em trabalhos conduzidos utilizando técnicas de balanço de N total e diluição isotópica de ^{15}N , foi comprovado que várias cultivares de cana eram capazes de obter contribuições de N através da FBN associada à cultura (LIMA et al., 1987). Praticamente no mesmo período, com a introdução do meio de cultivo semi-sólido para isolamento de bactérias, houve a possibilidade de descoberta de novos gêneros de bactérias diazotróficas (DÖBEREINER, 1992). A descoberta de bactérias endofíticas colonizando plantas de cana-de-açúcar em populações elevadas como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (REIS; OLIVARES; DÖBEREINER, 1994), *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* (OLIVARES et al., 1996) espécies do gênero *Azospirillum* e novas espécies

de do gênero *Burkholderia* (REIS et al., 2004) possibilitou o entender algumas relações estabelecidas entre a planta e a bactéria.

Nesta época, estudos mostraram que além da FBN, essas bactérias eram capazes de promover o crescimento das plantas através de diferentes mecanismos. Como uma dupla troca, onde as bactérias se beneficiam por colonizarem um ambiente protegido contra vários estresses bióticos e abióticos, e em contrapartida podem promover o crescimento da planta hospedeira através de diversos mecanismos. A promoção do crescimento ocorre de forma direta ou indireta, sendo efeitos diretos como a produção de fitormônios, síntese de sideróforos, solubilização de fósforo, aceleração dos processos de mineralização e através de mecanismos indiretos, como o antagonismo a fitopatógenos, entre outros.

O aumento da contribuição da FBN na cana-de-açúcar e/ou ganhos na promoção do crescimento do sistema radicular, com conseqüente maior absorção de água e nutrientes pode contribuir para a obtenção de maior produtividade, aumento do balanço energético e redução nas emissões de gases de efeitos estufa no sistema cana-de-açúcar. Esses ganhos podem ser obtidos através da obtenção de genótipos com maior associação com microrganismos e/ou seleção e inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal que apresentam potencial para promoção de crescimento da cana-de-açúcar.

Nesse contexto, foi lançado em 2008 o primeiro inoculante a base de microrganismos promotores de crescimento para a cana-de-açúcar, fruto de mais de 25 anos de pesquisa. Juntou-se o conhecimento acumulado ao longo dos estudos com microrganismos fixadores de nitrogênio e montou-se um arranjo de espécies de características diferentes, capazes de colonizar e promover o crescimento desta planta. Porém, diversos questionamentos ainda estão sem respostas, como a eficiência do inoculante em diferentes genótipos de cana-de-açúcar, a resposta da inoculação em associação com doses de nitrogênio fertilizante e a viabilidade operacional e econômica da tecnologia desenvolvida.

Os objetivos deste trabalho foram:

- Avaliar a eficiência da inoculação com bactérias diazotróficas quanto a produtividade de colmos e qualidade tecnológica de variedades comerciais de cana-de-açúcar no ciclo da cana-planta.
- Avaliar a eficiência da inoculação com bactérias diazotróficas associadas a doses de N quanto a produtividade de colmos, qualidade tecnológica e rendimento econômico da cana-de-açúcar no ciclo da cana-soca.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar no Brasil: Situação Atual e Perspectivas

O Brasil mantém a hegemonia na produção da cana-de-açúcar e continua como o principal produtor mundial e líder na produção e exportação de açúcar. A atual área plantada é de oito milhões de hectares, o que corresponde a 31,4% da produção mundial (CONAB, 2011; FAO, 2009). Outros países com grande produção são a Índia, China e Tailândia, com área de 4,4, 1,6 e 0,9 milhões de hectares (FAO, 2009). Entre os principais Estados brasileiros produtores se destacam São Paulo, Minas Gerais e Paraná com 54, 8,4 e 8% da área plantada, respectivamente. Nos últimos anos os Estados com maior expansão da cultura foram Minas Gerais e Goiás.

A produção brasileira de cana-de-açúcar na safra 2010/2011 foi de 624 milhões de toneladas (CONAB, 2011). A produção de etanol atingiu a marca de 24,3 bilhões de litros, sendo que a tendência para o consumo interno de etanol em 2020 é de 50 bilhões de litros (UNICA, 2008). A bioeletricidade gerada a partir do bagaço da cana-de-açúcar cada vez mais se destaca como importante produto das usinas. Em 2008, cerca de 30 usinas negociaram 544 MW médios para a venda anual durante 15 anos. Outro produto comercializado derivado da produção são as leveduras. Cerca de 10% das leveduras utilizadas na produção de etanol (na fermentação do caldo de cana) são posteriormente recuperadas e destinadas à composição de ração animal. Quanto aos créditos de carbono dos 68 projetos brasileiros registrados pela UNFCCC (*United Nations Framework Convention on Climate Change*) no mercado de créditos de carbono 24 são do setor sucroenergético, os quais geraram redução estimada de 473,9 mil toneladas de CO₂ (US\$ 3,5 milhões). Além dos produtos mencionados novas tecnologias e novos produtos já se encontram em fase piloto ou de demonstração como o etanol celulósico, ou de segunda geração, o diesel a partir de cana e o biobutanol que nos próximos anos tornarão o setor sucroenergético ainda mais competitivo.

Recentemente NEVES et al. (2010) apresentaram dados sobre a cadeia produtiva de açúcar e álcool no Brasil, utilizando os dados de 2008 como ano base do trabalho. Os autores ressaltaram que o produto interno bruto (PIB) do setor sucroenergético foi de US\$ 28,2 bilhões, equivalente a quase 2,2% do PIB nacional. As usinas faturaram US\$ 22,6 bilhões com todos os produtos comercializados no setor e foram assim divididos: US\$ 12,4 bilhões com etanol (55%); US\$ 9,8 bilhões com açúcar (43%); US\$ 389,6 milhões com bioeletricidade (1,7%); e US\$ 67,1 milhões com leveduras, aditivos e crédito de carbono (0,3%). A indústria de insumos agrícolas (antes da fazenda) faturou com o setor US\$ 9,3 bilhões e após a fazenda este valor foi de US\$ 6,4 bilhões. A cana-de-açúcar respondeu por 14% das vendas de fertilizantes agrícolas, totalizando US\$ 2,3 bilhões (3.140 mil toneladas). As vendas de corretivos para as lavouras canavieiras foram estimadas em US\$ 50,6 milhões, com consumo de 3 mil toneladas. Do montante desembolsado com defensivos pelos agricultores nas lavouras de cana-de-açúcar, 73,5% foram gastos com herbicidas, 22,8% com inseticidas e 3,7% com fungicidas. Além disso, a compra de tratores, implementos, peças e serviços, colhedoras, caminhões pesados, carrocerias e as operações mecanizadas movimentaram cifras significativas para o setor.

As perspectivas são de expansão para o setor sucroalcooleiro. A demanda interna de açúcar continua a crescer quando relacionado com o consumo direto, ou associados a setores industriais processadores dessa matéria prima. Para o etanol, o grande potencial de mercado está nas possibilidades de expansão do mercado interno e principalmente para o mercado

externo. Internamente a grande demanda pelo etanol está relacionada com o sucesso comercial dos veículos flex, atualmente maior participação na venda total de veículos leves nacionais. E para o mercado externo em função do aumento nos preços do petróleo e da demanda por energia renovável, criada pelas perspectivas de redução do efeito estufa com o uso desses combustíveis (VEIGA FILHO; FRONZAGLIA; TORQUATO, 2008; UNICA, 2008).

2.2 Adubação Nitrogenada na Cana-de-açúcar

Atualmente estima-se que a demanda mundial de nutrientes fertilizantes seja de 169.680 milhões de toneladas e do montante atual, 61% correspondentes aos fertilizantes nitrogenados (FAO, 2010). No Brasil, a cana-de-açúcar ocupa o segundo lugar em consumo de fertilizantes entre as culturas com cultivo em grandes extensões de áreas, porém, considera-se que a utilização de fertilizantes na cultura de cana-de-açúcar no Brasil seja baixa (aproximadamente 0,425 tonelada por hectare).

A necessidade de expansão da cultura, seja pelo aumento de área ou pelo aumento em produtividade, necessitará de um aumento do consumo de fertilizantes. Essa situação já foi observada nos últimos anos, mesmo em alguns momentos onde a relação de troca tonelada do produto/kg do fertilizante era desfavorável (NEVES et al., 2010).

Entre os principais nutrientes exigidos pela cana-de-açúcar destaca-se o nitrogênio. Este elemento é um nutriente essencial para as plantas e faz parte de todos os aminoácidos, proteínas e ácidos nucléicos participando direta ou indiretamente de vários processos bioquímicos (MALAVOLTA et al., 1997). A cana-de-açúcar é uma cultura altamente extrativa em nitrogênio. A cana-planta, com produtividade de 100 Mg ha⁻¹ de colmos acumula, dependendo da variedade, entre 180 e 250 kg por hectare de nitrogênio e no caso da cana-soca este valor é normalmente menor, variando no máximo entre 120 e 180 kg ha⁻¹ de N (ORLANDO FILHO et al., 1980; SAMPAIO et al., 1984; URQUIAGA et al., 1992). Na maior parte do Brasil as doses de nitrogênio aplicadas tanto para a cana-planta quanto para a cana-soca são consideradas baixas. As quantidades deste nutriente adicionadas ao solo anualmente raramente ultrapassam 70 a 120 kg ha⁻¹ nas soqueiras e na cana planta são ainda menores de 30 a 90 kg ha⁻¹ (ESPIRONELO et al., 1996; SAMPAIO et al., 1984; PENATTI et al., 1997).

A resposta da cana-planta à adubação nitrogenada é considerada baixa, diversos estudos mostraram que a resposta da cana planta ao fertilizante nitrogenado é menor e menos freqüente que no ciclo da cana soca (FRANCO et al., 2010; CANTARELLA E RAIJ, 1985; AZEREDO et al., 1986). Vários fatores são atribuídos a essa baixa resposta, como a mineralização da matéria orgânica do solo e dos restos culturais, às condições climáticas como pluviosidade e temperatura mais favoráveis na ocasião do plantio (cana de ano e meio), à melhoria do solo após a reforma dos canaviais associada a calagem, à incorporação dos restos culturais da cultura anterior, à adubação feita na reforma do canavial, ao maior vigor do sistema radicular da cana-planta em relação ao da soqueira, às perdas de nitrogênio fertilizante seja por volatilização ou lixiviação, à contribuição do nitrogênio estocado no tolete e pela fixação biológica de nitrogênio (AZEREDO et al., 1986; TRIVELIN et al., 1995; ORLANDO FILHO et al., 1999; URQUIAGA et al., 1992).

Em cana-soca a resposta a adubação nitrogenada é maior e muito mais freqüente que a resposta observada em cana-planta (VITTI et al., 2008). Nos estágios iniciais da soqueira a maior compactação do solo, a baixa temperatura e umidade favorecem uma menor atividade microbiana e menor imobilização do N. Além disso, a decomposição da matéria orgânica de alta relação C:N (restos culturais e raízes) em um período de grande exigência pela cultura faz

com a adição de N no solo seja acompanhada de uma rápida resposta da soqueira em crescimento e produtividade (ANJOS, 1995). Segundo Vitti et al. (2007) áreas de colheita da cana-de-açúcar sem queima prévia poderá passar por ajustes com possível aumento das doses de N das adubações devido à alta relação C:N da palhada da cana-de-açúcar depositada na superfície do solo, o que leva à imobilização de N do solo e do fertilizante (se aplicado) pelos microrganismos, diminuindo sua disponibilidade. Porém, com o passar do tempo e conseqüente decomposição da palhada, o nitrogênio será liberado e disponibilizado para a utilização da cultura.

Mesmo com as doses de N aplicadas sendo consideradas baixas quando comparadas com outros países, o fertilizante nitrogenado é um dos responsáveis pelo consumo de energia fóssil e emissão de gases de efeito estufa no ciclo produtivo da cana-de-açúcar (MACEDO, SEABRA E SILVA, 2008). A produção dos fertilizantes nitrogenados além de demandar grandes quantidades de energia no seu processo produtivo é responsável por emissões de N₂O, um dos principais gases de efeito estufa (BODDEY et al., 2008). Uma molécula de N₂O na atmosfera tem um potencial de efeito estufa 298 vezes maior do que a de CO₂ (IPCC, 2007). No manejo da cultura as emissões mais importantes de N₂O são esperadas pela aplicação no solo de fertilizantes nitrogenados, tortas e outras fontes de nitrogênio (SOARES et al., 2009).

A descoberta de alternativas para a nutrição nitrogenada e promoção de crescimento em plantas de cana-de-açúcar é um assunto de interesse na redução de emissão de gases de efeito estufa e no aumento do balanço energético na produção do etanol de cana. Alternativas vindas da própria natureza apresentam potencial para ganhos de produtividade de forma sustentável. Uma dessas alternativas é a aplicação de bactérias capazes de promover o crescimento vegetal através de mecanismos como a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a produção de fitormônios

2.4 Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal

Bactérias promotoras do crescimento vegetal podem ser encontradas na rizosfera e no interior dos tecidos atuando no crescimento (AHMAD et al., 2008). Diversos gêneros de bactérias são capazes de se associarem intimamente com plantas colonizando tecidos internos, sendo denominadas de endofíticas. Essas bactérias são benéficas às plantas e possuem a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos do vegetal, sem causar sintomas de doenças (NETO et al., 2003). O estímulo ao crescimento se dá através mecanismos de forma direta ou indireta. Os mecanismos de ação direta incluem, a fixação biológica de nitrogênio, produção de fitormônios (GLICK et al., 1999), síntese de sideróforo (BAR-NESS et al., 1992), solubilização de fósforo e zinco (SUNDARA et al., 2002; SARAVANAN et al., 2007), entre outros. Já os mecanismos de ação indireta incluem a redução de fatores de estresses como etileno endógeno (ENYEDI et al., 1992), supressão de organismos deletérios do ambiente endofítico através de competição ou antibiose (NEJAD e JOHNSON, 2000) e antagonismos a fitopatógenos (BLANCO et al., 2005).

Para as bactérias capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, a capacidade de colonizar nichos específicos no interior dos tecidos das plantas permite que estas bactérias estejam protegidas das altas taxas de oxigênio, inibidor da enzima nitrogenase. Permite também, que essas bactérias tenham acesso facilitado e com menor competição a fontes de carbono. Além de serem beneficiadas, as bactérias podem contribuir pela fixação do nitrogênio atmosférico diretamente nos tecidos das plantas. As bactérias se beneficiam por colonizarem um ambiente protegido, contra vários estresses bióticos e abióticos, em contrapartida podem promover o crescimento da planta hospedeira através de diversos mecanismos (SEVILLA; KENNEDY,

2000). Bactérias endofíticas colonizam nichos ecológicos similares ao de fitopatógenos o que os torna adequados como agentes de biocontrole (HALLMANN et al. 1997). Em alguns casos, eles também podem acelerar a emergência das plântulas, promoverem o estabelecimento das plantas sob condições adversas e aumentar o crescimento da planta (BENT; CHANWAY, 1998).

Segundo Strobel; Daise (2003) das quase 300.000 espécies de plantas que existem na terra, cada planta individual é anfitriã de endófitos. Os autores ressaltam que apenas algumas destas plantas já foram completamente estudadas em relação à biologia dos seus endófitos. Destaca-se que, a oportunidade de encontrar novas e benéficas espécies de microrganismos endofíticos em meio a diversidade de plantas em diferentes ecossistemas é considerável.

2.3 Bactérias Promotoras de Crescimento Associadas a Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é capaz de associar com uma grande diversidade de bactérias promotoras do crescimento vegetal. Ao longo dos anos de estudo foram encontradas bactérias na rizosfera e colonizando tecidos internos das plantas. As bactérias de rizosfera ou de vida livre foram as primeiras a serem isoladas sendo demonstrado o seu potencial na associação com cana-de-açúcar (DOBEREINER; RUSCHEL, 1958; DOBEREINER, 1959). Análises de amostras de solos de canaviais de diferentes regiões do Brasil levaram ao isolamento do gênero *Beijerinckia* e descrição de uma nova espécie, *Benjerinckia fluminensis*. Esta espécie ocorreu predominantemente em solos cultivados com cana-de-açúcar indicando haver influência da planta no desenvolvimento da bactéria. Estas duas espécies de bactérias colonizam preferencialmente o rizoplane e a rizosfera de plantas de cana-de-açúcar, em que os exudados, principalmente açúcares, estão envolvidos nesta associação, pois as bactérias são encontradas principalmente em áreas onde estes compostos são liberados (DOBEREINER; RUSCHEL, 1958).

Nos anos 70, vários experimentos foram conduzidos utilizando-se N₂ (gás) marcado com o isótopo ¹⁵N, onde foram detectadas contribuições significativas da fixação de N₂ às plantas de cana-de-açúcar (RUSCHEL et al., 1978). Já no fim da década de 80, em trabalhos conduzidos utilizando técnicas de balanço de N total e diluição isotópica de ¹⁵N, foi comprovado que várias cultivares de cana são capazes de obter grandes contribuições de N através da FBN associada à cultura (LIMA et al., 1987). Praticamente no mesmo período, com a introdução do meio de cultivo semi-sólido, houve a possibilidade de descoberta de novos gêneros de bactérias diazotróficas (DOBEREINER, 1992). Descobriu-se que o interior das plantas abrigava um grande número de bactérias diazotróficas, e estudos mostraram que estes organismos possuem maior capacidade de contribuição que as bactérias rizosféricas. Essas bactérias isoladas de tecidos internos foram denominadas de endofíticas. Diversos gêneros de bactérias foram isolados de tecidos da cana-de-açúcar, sendo os principais como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (CAVALCANTE; DOBEREINER, 1988), *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* (OLIVARES et al., 1996), espécies do gênero *Azospirillum* e espécies de do gênero *Burkholderia* (REIS et al., 2004).

As associações destas bactérias com a cana-de-açúcar é relacionada à especificidade entre o genótipo da bactéria e o genótipo vegetal. E estas associações ocorrem em diferentes graus de interação (OLIVARES et al. 1997). Bactérias diazotróficas com baixa especificidade geralmente colonizam as regiões superficiais da planta e colonizam diversas espécies vegetais. Já as bactérias que colonizam os tecidos internos possuem baixa sobrevivência no solo e possuem um espectro restrito de plantas hospedeiras (BALDANI et al., 1997). Ainda não se sabe quais bactérias são as principais responsáveis ou mais eficientes na promoção de

crescimento na cana-de-açúcar. Um dos motivos é a quantidade de bactérias já foram isoladas da cana-de-açúcar e os diversos fatores que influenciam na dinâmica planta-bactéria.

Estudos indicaram que a FBN pode contribuir em até 60% de todo o N acumulado pelas plantas (BODDEY et al., 2001). Resultados confirmados em levantamentos feitos em áreas de produção nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Pernambuco (POLIDORO, 2001). Neste estudo, inúmeras variedades foram analisadas pela técnica de abundância natural de ^{15}N . Foi observada uma contribuição da FBN em torno de 30%, com variação de 0 a 60%, com as variedades RB72454 e SP80-1842, apresentado os melhores resultados. Porém, trabalhos realizados com cana-de-açúcar mostraram que a promoção do crescimento das plantas pode não ser, necessariamente, atribuído somente à FBN, mas, provavelmente à produção de fitormônios pelas bactérias. Este efeito de estimulação do crescimento no desenvolvimento inicial das raízes pode ser responsável pelo desenvolvimento nos primeiros estádios de crescimento da planta. Porém, como ressalta Dobbelaere e Croonenborghs (2002), os fitormônios estimulam o crescimento das raízes em baixas concentrações, porém, causam efeito inibitório em altas, sugerindo que a inoculação com grande número de células bacterianas viáveis pode causar inibição, ao invés de estimular o crescimento das raízes.

2.5 Estudos com Inoculação de Bactérias Diazotróficas em Cana-de-açúcar

A busca por microrganismos mais eficientes na promoção do crescimento direcionou os estudos para seleção e inoculação de estirpes eficientes visando a maior promoção do crescimento vegetal. Diversos grupos iniciaram estudos de inoculação com bactérias promotoras de crescimento. Duas estratégias foram identificadas para a intensificação do uso de microrganismos a favor da produção vegetal, sendo uma baseada na ativação de comunidades microbianas nativas pelo manejo do solo e do ambiente e uma segunda abordagem, que tem sido amplamente explorada pela pesquisa mundial, que se fundamenta no isolamento e reinoculação de microrganismos alvos em ensaios experimentais de seleção de estirpes (OLIVARES, 2009).

Em cana-de-açúcar, estes estudos de reinoculação foram iniciados com a aplicação de estirpes da espécie *Gluconacetobacter diazotrophicus* em cana micropropagada. A técnica foi descrita por Reis et al. (1999) onde diversas modificações foram feitas no meio de cultivo Murashige; Skoog (1962), tradicionalmente utilizado para a propagação vegetal. A metodologia aprimorada estipulou a inoculação da bactéria no final do período de enraizamento em meio sem hormônios ou vitaminas e com a concentração de sais e sacarose reduzida 10 vezes. A inoculação de bactérias diretamente no meio de cultura, durante o crescimento e diferenciação dos meristemas modificados, favoreceu o estabelecimento dessas bactérias. O resultado destes estudos de infecção e colonização das plantas de cana-de-açúcar por bactérias diazotróficas endofíticas, vem garantindo elevadas populações bacterianas nestas plantas.

Utilizando esta metodologia diversos estudos foram realizados e resultados positivos quanto a promoção de crescimento e fornecimento de nitrogênio foram observados. Reis et al. (1994) observou que a inoculação com as estirpes PSP-32 e PAL5 de *Gluconacetobacter diazotrophicus* na variedade de cana-de-açúcar SP70-1143 mostrou que as bactérias foram responsáveis pelo fornecimento das necessidades de nitrogênio utilizadas pelas plantas. Baldani et al. (2000) observou aumentos de até 28% no peso da matéria fresca da parte aérea com a inoculação de *G. diazotrophicus*. Resultados bastante promissores também foram obtidos quando plantas micropropagadas de cana-de-açúcar foram inoculadas com a mesma

estirpe de *Gluconacetobacter diazotrophicus* em associação com doses de nitrogênio (MORAES; TAUKE-TORNISIELO, 1997).

Estudos com estirpes de outras espécies de bactérias diazotróficas também foram realizados. Em experimento de inoculação com as estirpes Z67 e HRC54 de *Herbaspirillum seropedicae* em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar da variedade CB 45-3, foi observado um incremento significativo no acúmulo de massa fresca de raiz e parte aérea aos 24 dias após a inoculação. O mesmo ocorreu no acúmulo de massa fresca de parte aérea aos 64 dias após a inoculação, em relação às plantas não inoculadas (OLIVARES, 1997). O mesmo autor observou diferenças significativas no acúmulo de massa fresca de raízes de plantas inoculadas com a estirpe HCC103 de *Herbaspirillum rubrisubalbicans* em contraste com a testemunha nitrogenada e as estirpes M2 e M4 de *Herbaspirillum* spp. Os efeitos positivos da inoculação das estirpes de *Herbaspirillum* spp no crescimento de raízes e da parte aérea puderam ser visualmente percebidos. Efeitos semelhantes no crescimento de raízes de cana-de-açúcar inoculadas com *Herbaspirillum* foram também observado por Reis Jr. et al. (1996).

Canuto et al. (2000), estudando o efeito da inoculação de bactérias em cana-de-açúcar e crescidas em vaso tipo Leonard, observaram que as estirpes PAL3 e PAL5 *Gluconacetobacter diazotrophicus*, HCC103 *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e HRC80 *Herbaspirillum seropedicae* aumentaram a área radicular em comparação às demais estirpes inoculadas. Em experimentos de vaso com solo, os mesmos autores observaram que a estirpe HRC80 e a mistura das estirpes PAL5 X HCC103 apresentaram um maior acúmulo de massa seca de raiz em comparação ao controle não inoculado.

Na Índia, Muthukumarasamy et al. (2006) avaliando a inoculação de *Burkholderia vietnamiensis* (estirpe MG43), *Gluconacetobacter diazotrophicus* (estirpe ATCC49037), *Herbaspirillum seropedicae* (estirpe ATCC35892), nas variedades de cana-de-açúcar Co 86032 e Co 86027, verificaram que a inoculação da estirpe MG43 promoveu uma produção de fitomassa seca de 191 e 175 Mg ha⁻¹, com aumentos de 20 e 19 %, para as variedades Co 86032 e Co 86027, respectivamente.

A busca por uma maior sinergia e aumento dos ganhos na promoção do crescimento direcionou os estudos para a inoculação não apenas com um inóculo simples, mas com um conjunto de estirpes de bactérias com comprovados efeitos promotores de crescimento. Estes estudos foram inicialmente desenvolvidos por Oliveira et al. (2002). A mistura das espécies diazotróficas endofíticas, estirpes: PAL5^T (*G. diazotrophicus*), CBAmC (*Azospirillum amazonense*), HRC54 (*Herbaspirillum seropedicae*), HCC103 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*) e PPe8^T (*Burkholderia tropica*) inoculadas em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar, crescidas em vaso com solo, durante doze meses, mostraram que estas bactérias foram responsáveis por cerca de 30% da FBN nas plantas, dependendo de combinação de bactérias usadas.

Oliveira et al. (2006) avaliaram o efeito da inoculação de misturas bacterianas em duas variedades de cana SP70-1143 e SP81-3250 em três solos contrastantes quanto à fertilidade natural: Planossolo, Latossolo e Nitossolo, com baixa, média e alta fertilidade natural respectivamente e verificaram que o efeito da inoculação sobre a FBN e a produção dos colmos foi maior na variedade SP70-1143 crescidas num Planossolo sem fertilização nitrogenada. Oliveira et al. (2009) utilizando uma combinação hibridização in situ por fluorescência (FISH) e a técnica de contagem do número mais provável (NMP) para avaliar a colonização de plântulas cana por inóculos mistos, observou que a maior colonização por três das cinco espécies estudadas foi obtida com uma mistura de inóculo. Todas as espécies bacterianas inoculados puderam ser detectadas utilizando as sondas FISH 12 h após a inoculação bacteriana.

Porém, todos os trabalhos citados foram desenvolvidos em cana micropropagada, sistema pouco utilizado nas áreas comerciais com cana-de-açúcar. Estudos posteriores foram realizados utilizando toletes (propagação vegetativa). Em condições controladas e utilizando mini-toletes (uma gema), Pereira et al. (2008) observaram resposta significativa no acúmulo de fitomassa seca na variedade RB72454 inoculada com a mesma mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas selecionada por Oliveira et al. (2002). Reis et al. (2009) utilizando o mesmo inóculo, também observou a mesma resposta na variedade RB867515.

O desafio da pesquisa foi então desenvolver estudos e metodologias de inoculação no campo, através da principal forma de plantio atualmente em cana-de-açúcar, o plantio via propagação vegetativa com toletes de três gemas. A metodologia inicialmente utilizada para a inoculação dos toletes foi via imersão em solução inoculante. Os primeiros resultados mostraram respostas positivas, porém variáveis, em condições de campo. Silva et al. (2009) obtiveram respostas positivas com incremento significativo de produtividade na variedade RB72454. Mais recentemente, Reis et al. (2009) desenvolveram estudos de inoculação via imersão em três regiões do Estado do Rio de Janeiro. Estes autores observaram respostas significativas na variedade RB867515.

Devido a baixa eficiência operacional do processo de inoculação via imersão dos toletes outras formas de inoculação foram testadas. Prado JR. (2008) testando duas variedades de cana RB72454 e IACSP936006 inoculadas com bactérias diazotróficas a campo, obteve resposta para a variedade RB72454 inoculada com uma concentração ao redor de 10^7 células mL^{-1} de *Gluconacetobacter diazotrophicus* estirpe PAL5, por pulverização no momento do corte no sulco de plantio, sobre a produtividade de colmos, favorecida tanto pela presença de N como pela inoculação. Já a variedade IACSP 936006 apresentou diferenças entre os tratamentos apenas com 15% de significância.

A inoculação em cana-planta é facilitada sendo realizada na instalação da cultura, com diversas possibilidades de aplicação. A principal forma de inoculação em experimentação, como mostrado anteriormente, é realizada em plantas micropropagadas e no plantio por propagação vegetativa com imersão ou pulverização dos toletes. Um dos principais desafios quanto a aplicação do inoculante em cana-de-açúcar refere-se, principalmente, aos ciclos posteriores ao ciclo da cana-planta. Poucos são os dados de eficiência agrônômica obtidos em cana soca pela aplicação de bactérias diazotróficas. Oliveira et al. (2006) apresentou dados de produtividade em soqueiras, entretanto, os resultados referem-se aos efeitos residuais da inoculação, uma vez que não houve reinoculação. Em soqueira, a cultura já está instalada tendo necessidade de algum ponto de ferimento na planta para penetração das bactérias devido a baixa sobrevivência no solo (OLIVEIRA, 2003). Devido a complexidade de variáveis, a interação de microorganismos com plantas necessita de estudos de longo prazo e que utilizem diversas variedades e formas de aplicação, visando qualificar o efeitos da aplicação destes organismos benéficos ao crescimento vegetal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Preparo do Inoculante

O inoculante utilizado neste estudo foi composto por um coquetel de bactérias diazotróficas inicialmente selecionado por Oliveira et al. (2002, 2006). Na Tabela 1 são descritas as espécies, identificação das estirpes e origem do isolamento. Todas as bactérias utilizadas neste estudo foram cedidas pelo laboratório de coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia.

Tabela 1. Bactérias que compõe o inoculante para cana-de-açúcar – espécie, estirpe e origem do isolamento.

Espécie	Estirpe	Origem do isolamento
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR11281 ^T	Raízes - <i>Saccharum</i> sp. (híbrido)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR11335	Raízes - <i>Saccharum</i> sp. (SP70–1143)
<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	BR11504	Colmos - <i>Saccharum</i> sp. (SP70–1284)
<i>Burkholderia tropica</i>	BR11366 ^T	Gemas - <i>Saccharum</i> sp. (SP71–1406)
<i>Azospirillum amazonense</i>	BR11145	Colmos - <i>Saccharum</i> sp. (CB45–3)

O pré-inóculo foi preparado a partir de colônias isoladas e cultivadas em tubos de ensaio, sob agitação a 175 rpm, a 30°C por 24 horas. Na Tabela 2 são apresentados os gêneros e as condições de cultivo.

Tabela 2. Gênero e condições de cultivo das bactérias diazotróficas que compõe o inoculante para cana-de-açúcar.

Gêneros	Meio de cultivo	pH
<i>Gluconacetobacter</i>	LGIP + 10 mmol L ⁻¹ de NH ₄ SO ₄ ,	5,5
<i>Herbaspirillum</i>	JNFb + 1 g NH ₄ Cl	5,8
<i>Azospirillum</i>	LGI + 1 g de KNO ₃	6–6,2
<i>Burkholderia</i>	JMV + 10 mmol L ⁻¹ de glutamato de sódio	5,0

Foi utilizado 1 mL de suspensões celulares do pré-inóculo para a inoculação em 200 mL de meio líquido NFb modificado (BURDMAN et al., 1998), com: 5 g L⁻¹ de sacarose e pH 6–6,2 – (*Azospirillum*); 100 g L⁻¹ de sacarose e pH 5,5 – (*Gluconacetobacter*); 5 g L⁻¹ de manitol, pH 5–5,4 – (*Burkholderia*); 5 g L⁻¹ de ácido málico, pH 5,8 – (*Herbaspirillum*). Foi adicionado 1 mL de frutose a 0,7% (1:10) em tampão fosfato 0,5 mol L⁻¹ esterilizado em filtro Millipore 0,2 µm. Os meios inoculados ficaram sob agitação a 175 rpm, a 30°C por 24 horas.

Após o crescimento dos microrganismos foi feita leitura das absorbâncias a 436 nm e a contagem das células foi realizada em câmara de Neubauer, sendo as células ajustadas para 10⁸ células mL⁻¹ por estirpe. Posteriormente foram adicionados 75 mL do inóculo em 175 g do veículo (turfa moída, neutralizada e esterilizada) embalado em sacos de polietileno. Cada grama de turfa conteve no mínimo 10⁸ cel de cada estirpe. Os sacos plásticos foram mantidos a 30°C por sete dias. O produto final foi composto por cinco pacotes (250 g) contendo as cinco estirpes individualizadas, somaram 1.250 g de inoculante turfoso.

Nos dois experimentos foi utilizada a dose do inoculante recomendada pela Embrapa (REIS et al., 2009). Tanto para a cana-planta, quanto para a cana-soca, os pacotes contendo cinco estipes foram diluídos proporcionalmente em 200 L de água. Após a diluição a população estimada ficou em torno de 10^5 cel mL⁻¹. Em cana-soca foram utilizadas duas doses do inoculante: primeira dose, cinco pacotes (1.250 g) diluídos em 200 L – aproximadamente 10^5 cel mL⁻¹; e segunda dose, 10 pacotes (2.500 g) diluídos em 200 L de água – aproximadamente 10^6 cel mL⁻¹. Para efeito didático a primeira dose será chamada de dose 1 e a segunda de dose 2.

3.2 Produtividade e Qualidade Tecnológica de Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas Com Bactérias Diazotróficas no Ciclo da Cana-planta - Experimento I

3.2.1 Caracterização e preparo do solo

O experimento foi conduzido na safra agrícola 2008/2009. O experimento foi instalado em abril de 2008 na fazenda “Mil e Cem”, zona 409, talhão 08 pertencente a Usina Univalem do Grupo COSAN, localizada na cidade de Valparaíso, região Noroeste do Estado de São Paulo. A área de estudo recém desbravada era destinada a produção de gado de corte, sob cobertura de pastagem. O solo da área foi caracterizado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 1999). As análises químicas para fins de fertilidade foram realizadas em duas profundidades de 0-25 – 25-50 cm (Tabela 3).

Tabela 3. Análise química do solo da área do experimento de inoculação na Usina Univalem antes do plantio.

Prof -cm-	pH CaCl ₂	M.O g dm ⁻³	P --mg dm ⁻³ --	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al mmol _c dm ⁻³	SB	T	V ---- % ---	m
0-25	5,10	13,0	3,0	0,0	2,7	19,0	7,0	0,0	19,0	28,7	47,7	60,1	0,0
25-50	4,70	9,0	2,0	0,0	2,0	11,0	3,0	0,0	23,0	16,0	39,0	41,0	0,0

O preparo do solo consistiu de uma aração, seguida de gradagem e sulcação. Foi aplicado 400 kg ha⁻¹ de fosfato reativo e 100 kg ha⁻¹ de k₂O, na forma de KCl no fundo do suco de plantio. As parcelas não foram adubadas com N fertilizante.

3.2.2 Variedades

Foram utilizadas sete variedades comerciais de cana-de-açúcar: RB855453, SP81-3250, RB867515, RB92579, CTC-15, RB72454 e RB935744, todas provenientes da área de cultivo da Usina Univalem. A área plantada segundo o censo varietal desenvolvido por Chapola et al. (2010) para a região Centro-Sul e as características agroindustriais das variedades utilizadas no estudo são apresentadas a seguir.

RB855453 – 7,6% da área plantada - Maturação precoce com alta produtividade agroindustrial. Adequada para colheita mecânica devido ao seu hábito de crescimento ereto. Boa brotação de soca em colheita mecanizada sem queima. Ausência de tombamento. Excelente resposta a maturadores, muito rica em colheita de meio para final de safra e boa brotação de soqueira em ambientes favoráveis (HOFFMANN et al. 2008).

SP81-3250 – 17,6% da área plantada - Maturação média e alto teor de sacarose. Boa produtividade agrícola em cana-planta e soca, com capacidade de se adaptar a diferentes solos

e climas.. Perfilhamento intermediário e crescimento inicial vigoroso com bom fechamento das entrelinhas; tem boa brotação de soqueira (GOMES, 2003).

RB867515 – 19,7% da área plantada - Maturação média e alto teor de sacarose. Alta velocidade de crescimento, porte alto, hábito de crescimento ereto, alta densidade de colmo. Alta produtividade agrícola e boa brotação na cana-planta e na soca, perfilhamento médio e bom fechamento de entrelinhas (HOFFMANN et al. 2008).

RB92579 – 1,9% da área plantada– Maturação média e alto teor de sacarose. Boa brotação, alto perfilhamento em cana-planta e soca, bom fechamento de entrelinhas. Alta produtividade agrícola e não apresenta restrição a ambiente de produção (BARBOSA et al. 2003).

CTC-15 – 1,2% da área plantada - Maturação média/tardia e alto teor de sacarose. Destaca-se pela alta produtividade agrícola e tolerância à seca, com excelente longevidade das soqueiras. É recomendada para colheita a partir do meio da safra, nos diversos ambientes de produção. Floresce medianamente e isoporiza pouco nas condições do Centro-Sul, florescimento mediano nas condições do Nordeste. Responde bem a maturadores químicos (CTC, 2007).

RB72454 – 1,6% da área plantada - Maturação média/tardia e alto teor de sacarose. Ampla adaptabilidade, alta estabilidade e alta produtividade agrícola. Perfilhamento médio na cana-planta. Boa brotação na cana-planta e soca com despalha a fogo; má brotação em soqueira colhida mecanicamente; bom fechamento. Susceptível a ferrugem alaranjada. Boa opção para ambientes de baixa produção e responsiva nos melhores ambientes de produção (HOFFMANN et al. 2008).

RB935744 – 3,3% da área plantada - Maturação tardia e médio teor de sacarose. Material rústico, excelente sanidade e muito produtivo. Desenvolvimento rápido, hábito de crescimento ereto. Boa brotação da soqueira, perfilhamento médio e bom fechamento das entrelinhas (HOFFMANN et al. 2008).

3.2.3 Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos utilizados foram: sete variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas (7x2). O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram constituídas de seis sulcos de 10 m, com espaçamento de 1,40 m, total de 84 m² por parcela. O experimento ocupou uma área de 4.704 m².

3.2.4 Inoculação e plantio

Os colmos das diferentes variedades foram cortados selecionados e utilizados como toletes de três gemas. A inoculação dos toletes foi realizada em uma caixa d'água com capacidade para 5.000 litros de água, onde cinco doses (cinco sacos contendo as estirpes) foram misturadas em 1.000 litros de água. Nesta solução os toletes foram imersos por tempo de 1 hora. Decorrido o tempo os toletes foram extraídos da solução e plantados. A solução restante não foi reutilizada no processo de inoculação.

Os toletes foram plantados com uma densidade de 18 gemas por metro linear de sulco de plantio. Após a distribuição dos toletes no sulco de plantio, foi aplicado o inseticida Regent (250 g ha⁻¹). A cobertura foi realizada manualmente.

3.2.5 Colheita

O experimento foi colhido em junho de 2009, 14 meses após o plantio. A colheita foi realizada manualmente sendo colhidas e pesadas as quatro linhas centrais da parcela. Os

parâmetros analisados foram a produtividade de colmos (TCH) e os parâmetros agroindústrias descritos a seguir segundo Lavanholi et al. (2008):

Brix – parâmetro mais utilizado na indústria de açúcar e álcool que expressa a porcentagem de (peso/peso) dos sólidos solúveis contidos em uma solução pura de sacarose. Determinado por refratometria.

Pureza – é a porcentagem de sacarose contida nos sólidos solúveis, reflete a relação entre teor de sacarose e todos os demais sólidos solúveis. Quando se utilizam Pol e Brix diz-se pureza aparente. A pureza é um parâmetro calculado e não avaliado diretamente por equipamentos ou aparelhos.

Pol – representa a porcentagem aparente de sacarose contida numa solução de açúcares. É o principal parâmetro da determinação de qualidade da cana-de-açúcar e corresponde a 14 – 24% do total de açúcares da cana. Determinado por métodos sacarimétricos.

Fibra – é a matéria insolúvel contida na cana. A determinação do teor de fibra é feita de acordo com o CONSECAN (1998), a partir do bagaço úmido obtido após a extração do caldo da amostra de 500 g de cana desfibrada para extração do caldo.

Açúcares redutores (AR) – termo empregado para designar os açúcares (glicose e frutose, principalmente) que apresentam a propriedade de reduzir o cobre do estado cúprico para cuproso. A avaliação é realizada por titulação contra uma solução composta de sulfato de cobre e tartarato de duplo de sódio e potássio em meio alcalino. A quantificação do teor de açúcares redutores do caldo será em função da quantidade de caldo que for utilizada na titulação.

Açúcar total recuperável (ATR) – representa a quantidade de açúcares redutores totais recuperada da cana. É um dos parâmetros do sistema de pagamento de cana implantado em alguns estados produtores. Está diretamente relacionado com Pol e AR.

3.2.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAEG 9.1, para verificação da normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros dos dados pelos testes Lilliefors e Cochran e Bartlett, respectivamente e o software SISVAR 4.3. Os resultados foram submetidos a análise de variância utilizando o Scott Knott a 90% de confiança.

3.3 Produtividade, Qualidade Tecnológica e Rendimento Econômico da Cana-de-açúcar Sob Inoculação com Bactérias Diazotróficas Associadas a Doses de N no Cclo da Cana-soca – Experimento II

3.3.1 Caracterização e histórico da área

O experimento foi conduzido nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010. A implantação foi realizada em novembro de 2008 na Fazenda Arca de Noé, zona 361, talhão quatro, na Usina Diamante/Raízen, localizada no município de Jaú, São Paulo. O solo da área foi caracterizado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 1999). As análises químicas para fins de fertilidade foram realizadas em duas profundidades de 0-25 – 25-50 cm (Tabela 4).

O talhão possuía o histórico de sete safras agrícolas (1999-2006) com a variedade SP80-1842. Após o sétimo corte a área foi renovada. Na ocasião as operações realizadas foram duas gradagens, aplicação e incorporação de 3,1 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico e aplicação de 0,5 Mg ha⁻¹ da fórmula 10-25-25. Após estas operações foi realizado novo plantio em outubro de 2006 com a variedade SP80-3280. O primeiro corte (cana-planta) foi realizado em outubro de 2007, com média de produtividade de 100 Mg ha⁻¹. O segundo corte

(primeira soca) foi realizado em novembro de 2008 (média de 74,87 Mg ha⁻¹) - dados fornecidos pelo departamento de desenvolvimento agrônômico da Usina Diamante.

Após o segundo corte do talhão, o experimento foi instalado (instalado na segunda soca – novembro de 2008). O experimento foi colhido 11 meses após o plantio. Decorridos 30 dias após a colheita o experimento foi reinstalado (terceira soca – novembro de 2009) sendo novamente colhido em novembro de 2010.

Tabela 4. Análise química do solo da área do experimento de inoculação em soqueira na Usina Diamante na instalação (2008) e na reinstalação (2009).

2008												
Prof	pH	M.O.	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
cm	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----			mmol _c dm ⁻³	-----			----- % ----	
0-25	5,50	12,0	12,0	0,70	24,0	7,0	0,0	19,0	31,7	50,7	62,50	0,0
25-50	5,40	13,0	8,0	0,70	23,0	10,0	0,0	23,0	33,7	56,7	59,00	0,0
2009												
Prof	pH	M.O.	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V	m
cm	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----			mmol _c dm ⁻³	-----			----- % ----	
0-25	5,30	15,0	9,0	1,30	20,0	10,0	0,0	23,0	31,3	54,3	57,64	0,0
25-50	4,70	9,5	4,0	0,40	6,0	4,0	0,0	21,0	10,4	31,4	33,12	0,0

3.3.2 Características da variedade

A variedade SP80-3280 é uma variedade de maturação média, mas também colhida em final de safra. É considerada exigente quanto ao ambiente de produção. Apresenta estabilidade em diferentes locais de produção e boa previsibilidade de resposta ambiental (RAIZER e VENCOVSKY, 1999). Destaca-se pelo alto teor de sacarose e produtividade em soqueira; o seu perfilhamento é intermediário e o fechamento das entrelinhas é bom, devido ao crescimento inicial vigoroso. O teor de fibra é alto, tombamento regular e a exigência em fertilidade do solo é mediana; tem boa brotação de soqueira. Apresenta sensibilidade média a herbicidas e resistência ao carvão, mosaico e ferrugem e é tolerante à escaldadura; não tem mostrado sintomas da síndrome do amarelecimento; apresenta suscetibilidade à broca. Representa 2,6% da área plantada na região Centro-Sul (CHAPOLA et al., 2010).

3.3.3 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas com cinco repetições. Nas parcelas foram avaliadas as duas doses do inoculante dose 1 e inoculante dose 2 (descritas no item 3.1) e nas sub-parcelas três doses de nitrogênio (50, 100 e 150 kg de N ha⁻¹). Foram incluídas testemunhas sem inoculação e sem adubação nitrogenada totalizando 12 tratamentos. Como fonte de nitrogênio aplicado nos tratamentos com doses de N, foi utilizado nitrato de amônio (33% de N) aplicado manualmente. Em todas as parcelas foi aplicado o equivalente a 80 e 100 kg ha⁻¹ de K₂O, no primeiro e segundo ano respectivamente, sendo utilizado como fonte cloreto de potássio (60% de K₂O).

A unidade experimental foi composta por parcelas com seis linhas de cana-de-açúcar com oitenta metros de comprimento, com espaçamento de 1,40 m entre linhas, resultando em uma área de 672 m² na parcela. As sub-parcelas consistiram de seis linhas com 20 m de

comprimento ocupando uma área de 168 m² em cada sub-parcela. Considerando um espaçamento de 2 metros entre sub-parcelas, o experimento ocupou uma área total de 11.004 m².

3.3.4 Metodologia de aplicação do inoculante

Para a aplicação do inoculante buscou-se uma metodologia mais próxima da realidade que pode ser adotada futuramente em usinas de cana-de-açúcar. A aplicação foi realizada com um conjunto trator e pulverizador adaptado para aplicação de nematicida e inseticida em soqueira (Figura 1). O implemento desenvolvido pela empresa ConsultiAgro possui três discos de corte que abrem um suco de pequena espessura sobre a soqueira. A operação não gera danos a soqueira. Pulverizadores acoplados ao implemento aplicaram o produto no sulco aberto ocasionando uma porta de entrada para as bactérias inoculadas. Nos tratamentos sem aplicação do inoculante procedeu-se o corte da soqueira como nos demais tratamentos. O implemento foi regulado para aplicação de 200 L ha⁻¹.



Figura 1. Conjunto trator e pulverizador utilizado para aplicação de nematicida e inseticida em soqueira adaptado para aplicação do inoculante em cana-soca.

O que diferenciou as aplicações de 2008 e 2009 foi o momento de aplicação do inoculante. No primeiro ano a aplicação foi feita cinco dias após o corte, onde ainda não havia brotação e emergência das plantas (Figura 2a). No segundo ano o experimento foi instalado 28 dias após o corte, onde as plantas já estavam com cerca de 40 cm de altura (Figura 2b).

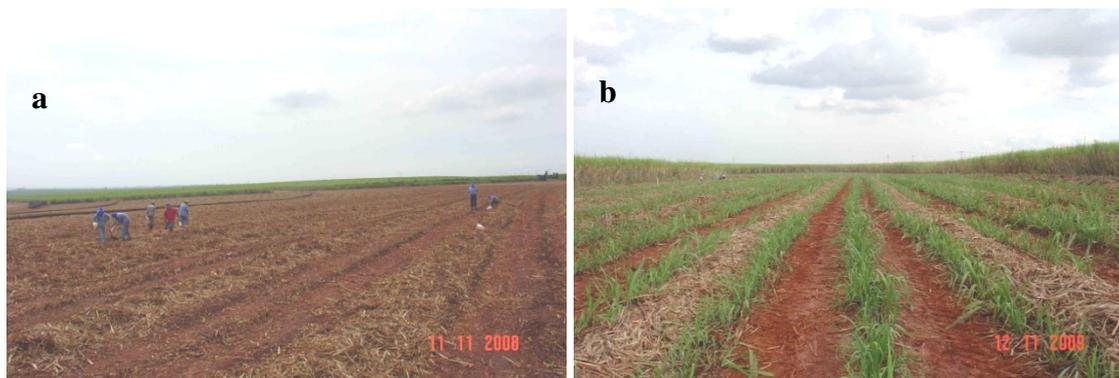


Figura 2. a) Instalação do ensaio de eficiência agrônômica do inoculante em cana-soca cinco dias após a colheita. b) Reinstalação do ensaio vinte e oito dias após a colheita.

3.3.6 Colheita e avaliações

a) Avaliação de falhas

Em maio de 2009 e em julho de 2010 foram realizadas quantificações de falhas no experimento. Para esta avaliação foi adotada a metodologia segundo Stolf (1986). Essa metodologia define falha como a projeção entre duas canas consecutivas ao longo da linha, sendo consideradas somente falhas maiores que 0,5 m. Foram quantificadas as falhas das quatro linhas centrais da parcelas. Para esta avaliação foi utilizado um gabarito de 0,5 m e uma trena. Os parâmetros avaliados foram a porcentagem (F%) e o tamanho médio (TM) de falhas. A porcentagem de falhas corresponde ao comprimento total das falhas dividido pelo comprimento total do trecho avaliado, no caso 80 m; e o tamanho médio corresponde ao comprimento dividido pelo número das falhas encontradas.

b) Balanço hídrico

Para elaboração dos balanços hídricos climatológicos foram utilizados dados ambientais da região, coletados em estações metrológicas automatizadas pelo Dr. Glauber Gava (APTA-SP). Os cálculos de evapotranspiração da cultura, pluviometria, déficits e excedentes hídricos foram realizados com o uso de planilhas eletrônicas disponibilizadas pelo Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP (ROLIM et al., 1998).

c) Produtividade

A primeira colheita foi realizada em novembro de 2009 e a segunda em novembro de 2010. A produtividade de colmos por hectare (TCH) de todas as parcelas (cinco blocos) foi avaliada mediante o corte mecânico e pesagem dos colmos em caminhão instrumentado do Departamento Agrícola/Desenvolvimento Agrônômico da Usina da Barra/Cosan (Figura 3). As seis linhas da parcela foram cortadas e pesadas, sendo utilizadas apenas as quatro linhas centrais para o cálculo da produtividade.

d) Acúmulo de fitomassa seca

Para a estimativa de produção da fitomassa seca da parte aérea, colheram-se em todas as parcelas plantas de cana-de-açúcar em 2 m de linha, sendo separadas em ponteiros, folhas secas e colmos. Nessas amostras foi determinada a massa de material natural diretamente do campo. Dessa amostragem retirou-se subamostras que acondicionadas em sacos plásticos foram levadas para o setor de experimentação da usina para determinação da biomassa fresca. As amostras foram levadas para estufas de circulação fechada a 65°C até a estabilização das massas, onde foi obtida a massa seca de material vegetal. Os resultados foram extrapolados para kg ha⁻¹ considerando o espaçamento de 1,40 m.



Figura 3. a) Colheita mecânica no primeiro ano do experimento de eficiência agrônômica do inoculante em cana-soca. b) Digital inserido dentro do caminhão instrumentado destacando a pesagem de uma linha de 20 m.

e) Acúmulo de nitrogênio

Após estabilizar as massas, as amostras do primeiro ensaio (2008/2009) foram moídas em moinho de facas do tipo Wiley e levadas para análise de N no laboratório de análise químicas da Embrapa Agrobiologia, pelo método Kjeldahl (ALVES et al. 1994). Com os resultados de acúmulo de massa seca de colmo, ponteiro e folhas secas (palha) e com as concentrações de nitrogênio correspondente obteve-se a extração de nitrogênio pela parte aérea. Nesse trabalho são apresentados os dados de acúmulo de N do primeiro ano do ensaio.

f) Parâmetros tecnológicos

Previamente a colheita foram separadas amostras de 10 colmos de cana por parcela, destinadas a avaliação dos parâmetros tecnológicos: Brix, pureza, Pol da cana, fibra, açúcares redutores (AR), açúcar total recuperável (ATR) e rendimento de açúcar por hectare, obtido pela multiplicação do TCH pelo ATR.

g) Margem de contribuição agrícola (MCA)

A MCA representa a diferença entre a receita bruta obtida com os produtos e os custos variáveis do sistema de produção (FERNANDES, 2003). Para o cálculo da MCA utilizaram-se os dados do preço do ATR da cotação de dezembro de 2009 (0,3267 kg ATR⁻¹) e de dezembro de 2010 (0,3766 kg ATR⁻¹); CCT (corte, carregamento e transporte) médio da Usina Diamante – R\$ 21,20 t⁻¹; custo da tonelada do nitrato de amônio em 05/2010 – R\$ 685,00 t⁻¹ ou R\$ 2,07 kg⁻¹ de N e em 02/2011 - R\$ 721,00 t⁻¹ ou R\$ 2,18 kg⁻¹ de N; custo do inoculante - R\$ 50,00 – valor baseado em informações de empresas produtoras de inoculante. O valor foi estimado levando em conta a composição do produto (cinco estirpes), embalagem, frete, custo de desenvolvimento, o custo de comercialização. Neste cálculo, também foram inseridos os custos da aplicação do inoculante e do nitrogênio. A aplicação do N em cobertura foi estimada em R\$ 65,00 ha⁻¹ e a aplicação do inoculante em R\$ 55,00 ha⁻¹. Ao final foram calculadas as contribuições marginais de cada tratamento, ou seja, a lucratividade ou prejuízo em relação ao tratamento sem adubação nitrogenada e sem inoculação.

3.3.8 Análise estatística

Foram utilizados o software SAEG 9.1 para verificação da normalidade e homogeneidade das variâncias dos erros dos dados pelos testes Lilliefors e Cochran e Bartlett, respectivamente e o software SISVAR 4.3. Os resultados foram submetidos a análise de variância utilizando o teste F a 99, 95 e 90% de confiança e para avaliar o efeito das doses de N associadas às doses de inoculante foi feita a análise de regressão polinomial.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produtividade e Qualidade Tecnológica de Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas com Bactérias Diazotróficas no Ciclo da Cana-planta – Experimento I

4.1.1 Produtividade de colmos

As variedades mais produtivas na média dos tratamentos inoculados e não inoculados foram as variedades RB92579, RB935744 e SP81-3250, com médias de produtividade de 127,98, 127,52 e 119,89 Mg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 5). Não se observou diferença significativa entre o tratamento inoculado e o não inoculado na média dos dois tratamentos. Porém, no desdobramento entre variedade e inoculação observou-se que a aplicação do inoculante promoveu aumento significativo na produtividade na variedade RB72454, com incremento de 12,8 Mg ha⁻¹ de colmos. Incrementos de produtividade também foram observados nas variedades RB935744 e SP81-3250, porém, não diferindo estatisticamente.

Tabela 5. Avaliação da produtividade de colmos de variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta na Usina Univalem.

Variedade	Produtividade de colmos (Mg ha ⁻¹)		
	Não Inoculado	Inoculado	Média
RB855453	97,67 B a	94,64 C a	96,15 C
SP81-3250	117,72 A a	122,05 A a	119,89 A
RB867515	111,56 A a	109,51 B a	110,53 B
RB92579	127,27 A a	128,70 A a	127,98 A
CTC-15	115,08 A a	110,00 B a	112,54 B
RB72454	102,85 B b	115,66 B a	109,25 B
RB935744	123,97 A a	131,07 A a	127,52 A
Média	113,73 a	115,95 a	114,84
CV (%)		8,0	

Valores médios de quatro repetições. Valores seguidos da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 10% de probabilidade.

A variedade RB72454 é considerada uma variedade com capacidade de associação com bactérias fixadoras de nitrogênio. Estudos desenvolvidos por Urquiaga et al. (1992) e Boddey et al. (2001) evidenciaram que a FBN contribui na nutrição nitrogenada em diversas variedades de cana-de-açúcar, entre elas a RB72454. Silva et al. (2009) testando diferentes veículos de inoculação, mas utilizando o mesmo inoculante e a mesma metodologia de inoculação utilizada neste estudo, observou resposta significativa na produtividade de colmos na variedade RB72454 na cana-planta.

Uma das possíveis explicações para esta contribuição é o direcionamento no melhoramento genético da RB72454 para solos de baixa fertilidade, o que pode ter contribuído indiretamente para uma maior associação com organismos fixadores de nitrogênio (BALDANI et al., 2002). A RB72454 já foi a principal variedade plantada no Brasil, principalmente pela sua estabilidade e adaptabilidade aos diversos ambientes de produção,

porém, nos últimos anos observou-se um declínio na área plantada decorrente entre outros fatores, a má brotação em soqueira em cana-crua e suscetibilidade a ferrugem alaranjada. Ressalta-se, porém, sua importância em cruzamentos visando a obtenção de genótipos com capacidade de associação com bactérias diazotróficas.

A inoculação com o coquetel de bactérias diazotróficas no ciclo da cana-planta não promoveu aumento de produtividade de colmos nas demais variedades em estudo, indicando haver certa especificidade entre variedade e inóculo. Esta especificidade foi citada por REIS et al. (2006), que ressaltaram que a resposta a inoculação é dependente do genótipo da planta. Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003) em estudo de inoculação no México observaram resposta à inoculação pela estirpe PAL5^T de *Gluconacetobacter diazotrophicus* na variedade MEX 57-473, demonstrando a interação entre estirpe bacteriana e variedade de cana. Estudos de inoculação desenvolvidos na Índia, também mostraram certa especificidade entre bactéria e genótipo de cana-de-açúcar. No estudo foi observado que a inoculação da estirpe MG43, de *Burkholderia vietnamiensis* promoveu ganhos de produtividade de 19e 20% nas variedades Co 86027 e Co 86032, respectivamente, sendo esta estirpe mais eficiente que outras utilizadas no mesmo experimento (GOVINDARAJAN et al., 2006).

Foi observado no presente estudo, um decréscimo na produtividade da variedade CTC-15. Este resultado deixa um questionamento de um possível efeito negativo da inoculação nesta variedade. A CTC-15 é uma das principais variedades de cana-de-açúcar recém lançadas pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC). É uma variedade em expansão em novas áreas de plantio com potencial produtivo promissor. Ressalta-se que os efeitos tanto positivos, quanto negativos da inoculação são decorrentes não só da relação planta/bactéria, mas de diversos outros fatores que podem estar envolvidos no processo. Resultados com redução de produtividade foram observados por Oliveira et al. (2006) onde a inoculação promoveu significativa redução na produtividade da variedade SP81-3250 no ciclo da cana-planta em Planossolo, não sendo observado este resultado em Latossolo ou em Nitossolo.

4.1.2 Análise tecnológica

A inoculação promoveu resposta significativa na redução dos açúcares redutores nas diferentes variedades na média dos dois tratamentos. No desdobramento entre variedades e inoculação foi observada resposta significativa em algumas variedades na qualidade tecnológica, com efeitos no Brix, fibra e Pol. Incrementos no ATR e TAH foram observados, porém, não diferiram estatisticamente do controle (Tabela 6).

A maioria das variedades manteve o padrão de resposta quanto ao período de maturação e acúmulo de sacarose. A variedade precoce RB855453 se destacou na maioria dos parâmetros avaliados acumulando mais sacarose que as demais. Já a variedade tardia RB935744 foi a variedade com menor desempenho quanto ao acúmulo de sacarose. Resposta já esperada, uma vez que o experimento foi colhido em junho, quase início de safra. Os genótipos de maturação média mantiveram respostas dentro do esperado, com exceção da RB72454 que apresentou significativo acúmulo de sacarose em relação as demais variedades de maturação média.

A inoculação não afetou o Brix na maioria das variedades, sendo observado um efeito diferenciado na variedade RB72454, onde o tratamento não inoculado foi superior ao tratamento com a aplicação de bactérias diazotróficas. O incremento significativo na produção de colmos desta variedade pode estar diretamente relacionado com a redução do Brix.

Foi observada redução significativa nos teores de fibras nas variedades RB72454 e RB92579 no tratamento inoculado. Existe relação direta entre o Brix e o teor de fibras, quanto maior o Brix, menor o teor de fibras. Entretanto, isso não foi observado neste estudo, onde a

inoculação na variedade RB72454, que promoveu a redução no Brix e também redução no teor de fibras, quando comparado com o tratamento não inoculado. A redução deste parâmetro é interessante do ponto de vista industrial devido ao maior rendimento na moagem dos colmos. Porém, segundo Lavanholi et al. (2008), do ponto de vista agrícola, as variedades mais ricas em fibras tem maior resistência ao tombamento, mesmo quando submetidas a despalha a fogo, e geralmente são mais resistentes a penetração de pragas do colmo.

Na média, a inoculação promoveu significativa redução nos teores de açúcares redutores quando comparado com o tratamento não inoculado. No desdobramento variedade e inoculação, foi observada redução significativa neste parâmetro na variedade SP81-3250. Segundo Orlando Filho e Zambello Júnior (1980), os teores de açúcares redutores no caldo decrescem com a maturação da planta, isto é, a medida que ocorre o aumento dos teores de sacarose ocorre a redução linear inversa dos açúcares redutores. Do ponto de vista comercial, os açúcares redutores são substâncias precursoras de cor, aumentando a cor do açúcar com conseqüente depreciação comercial.

Tabela 6. Avaliação dos atributos tecnológicos de sete variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta.

Trat	RB855453	RB867515	RB92579	SP81-3250	RB72454	CTC-15	RB935744	Média	CV%
-----Brix%-----									
Cont	19,57 Aa	17,30 Ca	17,85 Ba	18,07 Ba	19,40 Ba	17,52 Ca	15,35 Da	17,86 a	
Inoc	19,92 Aa	17,25 Ba	18,40 Ba	17,85 Ba	18,05 Ab	17,37 Ba	15,33 Ca	17,74 a	3,3
Méd	19,75 A	17,27 D	18,12 C	17,96 C	18,72 B	17,45 D	15,34 E	17,80	
-----Fibra%-----									
Cont	13,52 Aa	12,62 Ba	13,03 Aa	12,41 Ba	12,81 Ba	13,11 Aa	12,19 Ba	12,82 a	
Inoc	13,36 Aa	13,09 Aa	12,26 Bb	12,41 Ba	12,09 Bb	13,15 Aa	12,60 Ba	12,72 a	3,4
Méd	13,44 A	12,86 B	12,65 B	12,41 B	12,50 B	13,13 A	12,39 B	12,77	
-----Pol%-----									
Cont	13,73 Aa	12,07 Ba	12,63 Ba	12,47 Bb	13,51 Aa	12,43 Ba	10,74 Ca	12,59 a	
Inoc	14,37 Aa	11,93 Ca	13,18 Ba	13,18 Ba	14,03 Ba	12,23 Ca	11,34 Da	12,82 a	4,3
Méd	14,05 A	12,00 C	12,91 B	12,83 B	13,77 A	12,35 C	11,04 D	12,71	
-----AR%-----									
Cont	0,61 Ba	0,65 Aa	0,62 Ba	0,67 Aa	0,56 Ba	0,58 Ba	0,71 Ba	0,63 a	
Inoc	0,57 Ba	0,65 Aa	0,61 Aa	0,56 Bb	0,53 Ba	0,60 Aa	0,66 Aa	0,60 b	9,3
Méd	0,59 B	0,65 A	0,61 B	0,61 B	0,54 C	0,59 B	0,68 A	0,61	
-----ATR (kg t ⁻¹)-----									
Cont	136,47 Aa	120,94 Ba	126,02 Ba	124,97 Ba	133,33 Aa	124,04 Ba	108,45 Ca	124,66 a	
Inoc	142,12 Aa	119,59 Ca	131,09 Ba	130,71 Ba	138,74 Ba	122,08 Ca	112,79 Da	128,06 a	3,9
Méd	139,30 A	120,26 C	128,56 B	127,84 B	136,04 A	123,06 C	110,62 D	126,53	

Médias de 4 repetições. Valores seguidos da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 10% de probabilidade.

Na média geral das variedades, os maiores valores de Pol foram observados para RB855453 e RB72454, com média de 14,05 e 13,7%, respectivamente. No desdobramento dos tratamentos houve resposta significativa à inoculação na variedade SP81-3250. Oliveira (2003) observou resposta significativa no acúmulo de sacarose na variedade SP70-1011, quando inoculada com a mesma mistura de bactérias diazotróficas utilizadas no presente estudo. Este autor sugeriu que outros mecanismos estão envolvidos na promoção do

crescimento e desenvolvimento da cana-de-açúcar, além da FBN. Gomes (1997) estudou quatro genótipos de cana de açúcar quanto a população de bactérias nativas, das espécies *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum*, e não observou correlação entre as populações e a composição de açúcares nas diferentes partes da planta durante o ciclo de cana-planta.

Houve diferença significativa entre as diferentes variedades estudadas quanto ao ATR. Na média os maiores valores foram observados nas variedades RB855453 e RB72454. Na média dos dois tratamentos não foi observada significativa diferença entre o tratamento inoculado e o tratamento não inoculado. Foi observado incrementos no ATR em algumas variedades inoculadas, porém, não diferindo estatisticamente do tratamento não inoculado.

Quanto a produtividade de açúcar por hectare, não foram observadas respostas significativas na média dos tratamentos e no desdobramento entre eles (Figura 4). Observou-se significativa diferença entre variedades. Comparando o tratamento inoculado com o não inoculado os incrementos na produtividade de açúcar observados nas variedades RB935744, SP81-3250, RB72454 e RB92579 foram 1,36, 1,29, 1,12 e 0,8 Mg ha⁻¹, porém não diferindo estatisticamente. Na média, a variedade com maior produção de açúcar foi a RB92579 com 16,46 Mg ha⁻¹, diferindo das demais.

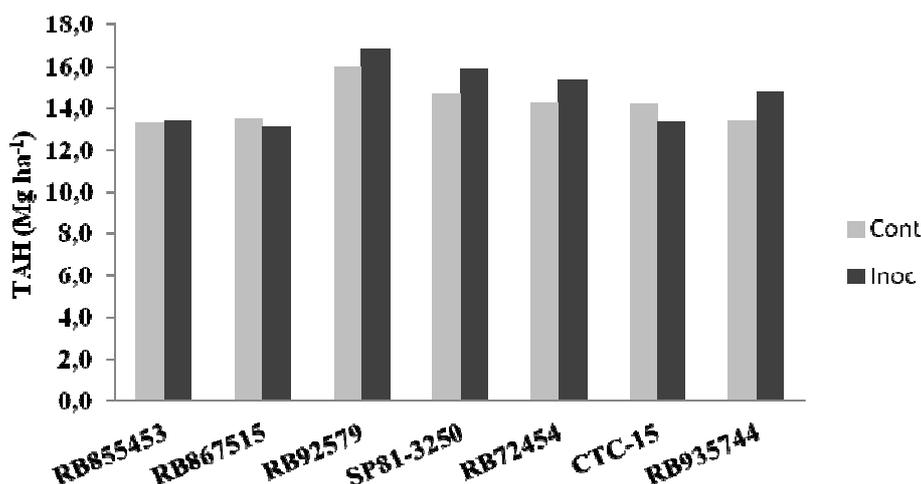


Figura 4. Avaliação da produtividade de açúcar por hectare (Mg ha⁻¹) de sete variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta. A ausência de letras na coluna indica que não houve diferença estatística entre os tratamentos. Coeficiente de variação: 8,5%.

Uma segunda análise dos atributos tecnológicos foi realizada sem a variedade CTC-15. Observou-se significativo efeito da inoculação em alguns parâmetros, inclusive na produtividade de açúcar. A maioria dos genótipos estudados apresentou redução nos açúcares redutores ($p < 0,05$), incremento no acúmulo de sacarose (Pol) ($p < 0,05$), ATR ($p < 0,06$) e TAH ($p < 0,06$) ao se omitir a variedade CTC-15, que apresentou redução nestes atributos (Figura 5).

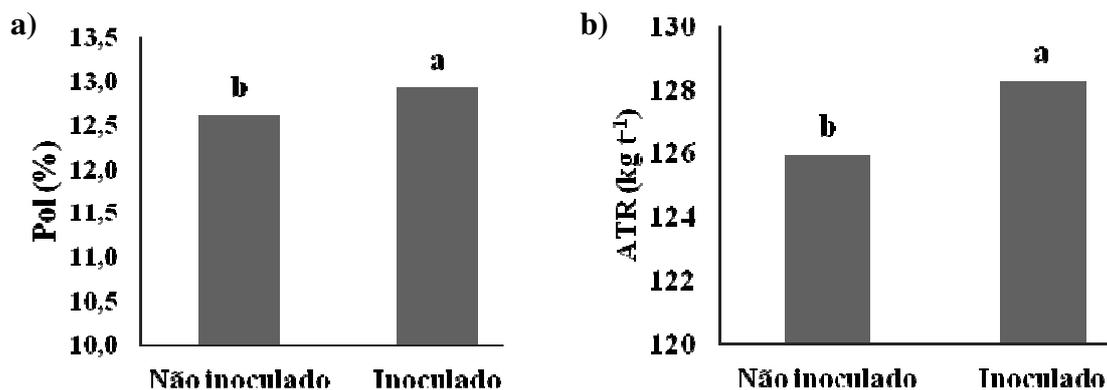


Figura 5. (a) Incremento em Pol (%) e (b) incremento em ATR (kg t⁻¹) em variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta na ausência da variedade CTC-15. As letras diferentes na coluna referem-se a diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a 10% de probabilidade. Coeficientes de variação: 3,8 e 3,2% para Pol e ATR, respectivamente.

Da mesma forma, na ausência da variedade CTC-15, observou-se efeito significativo no ATR no desdobramento dentro das variedades. As variedades RB855453, RB72454, RB92579 e SP81-3250 apresentaram diferença no ATR quando inoculadas (Figura 6).

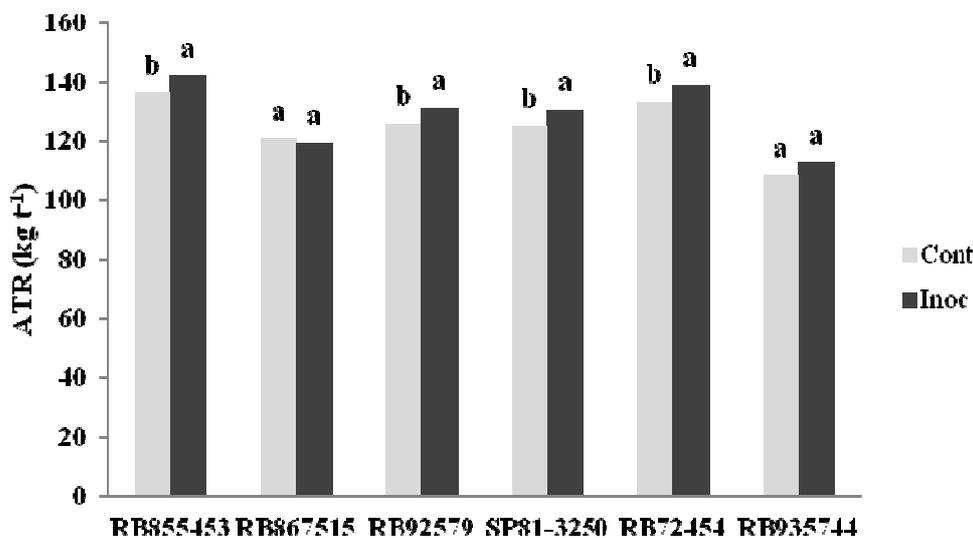


Figura 6. ATR de diferentes variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 10% de probabilidade. Coeficiente de variação: 3,2%.

Em relação a produtividade de açúcar, na avaliação sem a inclusão da variedade CTC-15, observou-se significativo efeito do tratamento inoculado (Figura 7). Não foi observada resposta significativa a inoculação na média dos tratamentos para a produtividade de colmos, entretanto, a inoculação promoveu aumento significativo no ATR, refletindo na produtividade de açúcar.

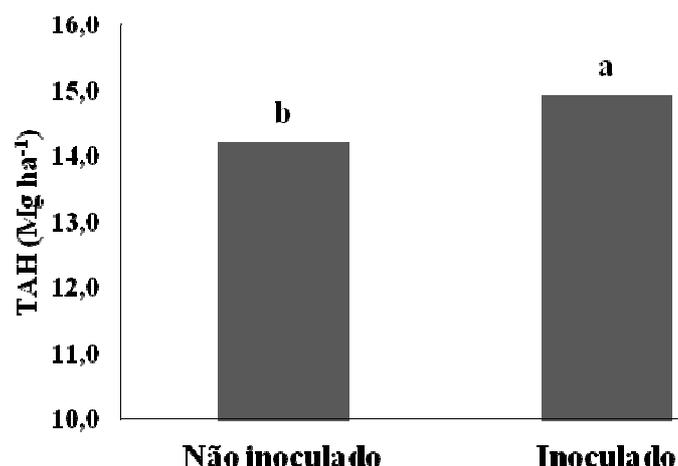


Figura 7. Produtividade de açúcar por hectare (TAH) de diferentes variedades de cana-de-açúcar inoculadas e não inoculadas no ciclo da cana-planta. Médias sem a variedade CTC-15. As letras diferentes referem-se a diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a 10% de probabilidade. Coeficiente de variação: 8,4%.

O incremento de açúcar obtido com a aplicação do inoculante mostra que ainda se conhece pouco sobre o potencial dessas bactérias. A maioria dos trabalhos desenvolvidos com inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar, quase sempre focou na produtividade de massa fresca e seca e acúmulo de N (SILVA et al., 2009; YADAV et al., 2009). Oliveira (2003) observou efeitos positivos e negativos da inoculação no acúmulo de sacarose, em diferentes ambientes de produção e em dois genótipos de cana-de-açúcar contrastantes quanto a exigência nutricional. Desde os primeiros meses de crescimento e desenvolvimento da cana, o armazenamento do açúcar se processa paulatinamente. O acúmulo máximo de sacarose só ocorre, quando a planta encontra condições restritivas ao seu crescimento, sendo o processo de acúmulo total de açúcares, comumente descrito como amadurecimento (CASTRO, 2000). No presente estudo algumas variedades aumentaram a quantidade de açúcar em relação a testemunha sem inoculação. A grande demanda em açúcar e etanol exigirá que haja um aumento de produtividade em detrimento ao aumento de área. Tecnologias que aumentem o rendimento de açúcar serão essenciais para o setor canavieiro em expansão.

Observou-se neste estudo e nos outros trabalhos já realizados com inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar que há uma estreita relação entre genótipo e bactéria. Reis et al. (2006) ressaltam alguns pontos importantes a serem alvos das pesquisas com inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas. Entre eles, a seleção de genótipos eficientes na associação, conhecimento sobre qual bactéria ou grupo destas deve ser a melhor combinação com os genótipos mais promissores, fatores bióticos e abióticos envolvidos no processo e o entendimento das modificações na planta e na bactéria visando o aperfeiçoamento dessa associação. Mesmo sendo observadas variações nas respostas à inoculação com bactérias e genótipos de cana-de-açúcar, diversos grupos de bactérias têm demonstrado contribuição significativa quando inoculadas, seja pela capacidade de fixar N ou por outros benefícios promotores de crescimento. Novos estudos devem ser direcionados para a obtenção de respostas à inoculação nas principais variedades cultivadas no Brasil. As respostas a inoculação em diferentes genótipos com um único inoculante podem ser variadas, como observado neste estudo. Buscar um inoculante para cada genótipo de cana-de-açúcar seria inviável operacionalmente. Porém, a inoculação e obtenção de ganhos de produtividade

em variedades que ocupam considerável área plantada nos canaviais poderá refletir em ganhos econômicos e ambientais.

4.2 Produtividade de Colmos, Qualidade Tecnológica e Rendimento Econômico da Cana-de-açúcar Sob Inoculação com Bactérias Diazotróficas Associadas a Doses de N no Ciclo da Cana-soca – Experimento II

4.2.1 Avaliação de falhas

Não foi observado efeito dos tratamentos na geração de falhas, por isso, serão apresentados somente os dados médios de cada safra para visualização da qualidade do estande utilizado no estudo. Na safra agrícola 2008/2009 a porcentagem de falhas foi de 4,6%, já na safra seguinte houve um pequeno aumento, com a porcentagem de falhas em torno de 5,6% (Figura 8a). A porcentagem de falhas é o parâmetro mais utilizado nesta avaliação, a através dela é possível ter uma boa noção da qualidade do estande do experimento em estudo. Neste caso, observou-se uma baixa porcentagem de falhas, tanto na safra agrícola 2008/2009, quanto na safra 2009/2010. Houve também aumento no tamanho médio das falhas, com 0,62 e 0,76 m, no primeiro e no segundo ano, respectivamente (Figura 8b).

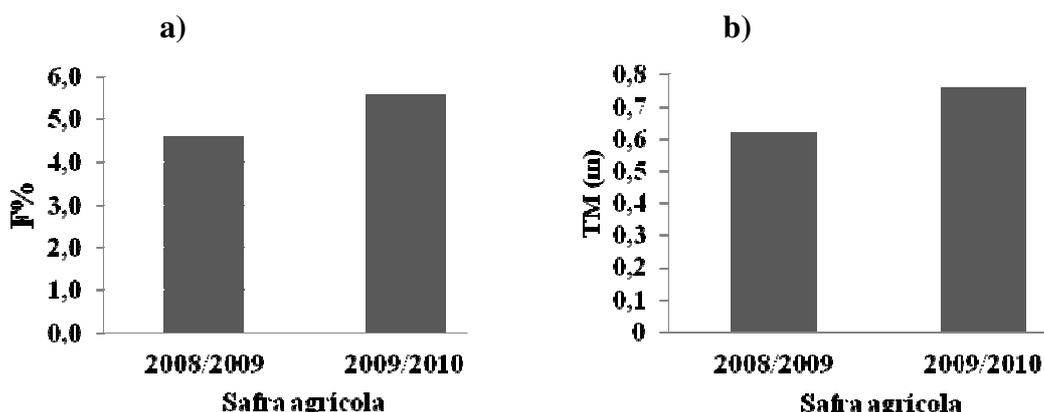


Figura 8. a) Porcentagem de falhas (F%) e b) tamanho médio (TM) de falhas nos dois anos agrícolas do ensaio de inoculação com bactérias diazotróficas associadas a doses crescentes de nitrogênio.

O aumento de falhas de um ano para outro era esperado. Áreas colhidas mecanicamente, com intenso tráfego de máquinas, tendem a aumentar as falhas e reduzir a longevidade do canavial. Diversos outros fatores podem gerar falhas no canavial, como falhas no plantio, má brotação, ataque de pragas, entre outros.

4.2.2 Balanço hídrico climatológico

As maiores precipitações se concentraram entre os meses de novembro a abril nos dois anos de estudo (Figura 9). Na safra 2008/2009 os maiores déficits hídricos ocorreram nos meses de março, abril e maio. Já na safra 2009/2010, este déficit foi bem mais acentuado, se prolongando de fevereiro a setembro. O déficit hídrico total foi de 118 e 292 mm, na safra 2008/2009 e 2009/2010, respectivamente. De acordo com Inman-Barber e Smith (2005) uma

precipitação anual de 1.000 mm, bem distribuída, é suficiente para obtenção de boa produtividade com a cana-de-açúcar.

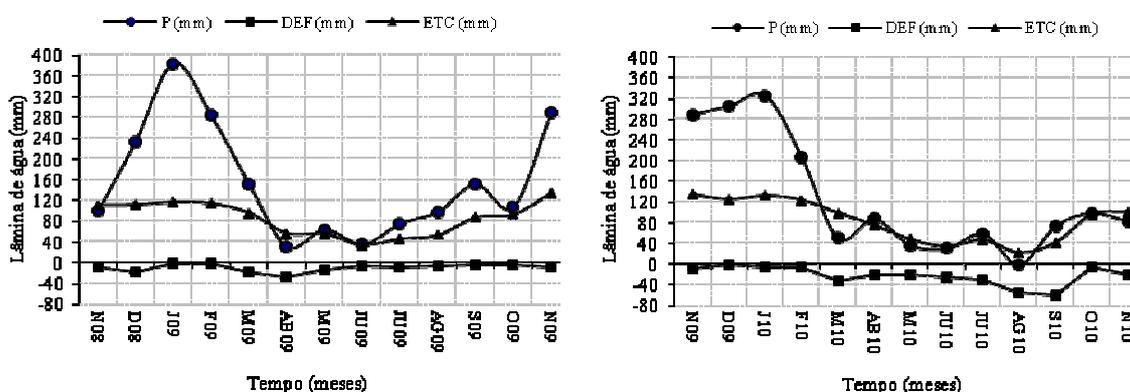


Figura 9. Balanços hídricos climatológicos nos ciclos da segunda (2008/2009) e terceira (2009/2010) soqueira. P: precipitação; DEF: deficiência hídrica; ETC: evapotranspiração potencial da cultura.

4.2.3 - Produtividade de colmos e acúmulo de fitomassa seca

Na Figura 10 são apresentados os dados de produtividade de colmos da variedade SP80-3280 sob aplicação de doses do inoculante associadas a doses de N no primeiro ano do estudo (segunda soca). Foram observados incrementos não significativos entre as doses do inoculante. A aplicação da dose 1 do inoculante na ausência da adubação nitrogenada promoveu aumento de produtividade de 5 Mg ha⁻¹ (8% de incremento) comparado com o tratamento sem adubação e sem inoculação. Da mesma forma, em comparação com a testemunha absoluta, a aplicação de 50 de kg de N promoveu 11% de incremento, enquanto que a aplicação desta mesma dose de N associada a dose 1 do inoculante promoveu 20% de incremento na produtividade de colmos. Observou-se tendência de incremento na produtividade com a aplicação do inoculante associado a adubação nitrogenada, sendo este ganho não observado na maior dose de N. Na média o incremento de produtividade com a aplicação do inoculante foi de 4 Mg ha⁻¹.

Na média geral, foi observada resposta linear significativa à adubação com doses crescentes de N na produtividade de colmos ($R^2 = 0,92$). No desdobramento das doses de N dentro de cada dose do inoculante foi observada resposta linear significativa ($p < 0,01$) na ausência de inoculação ($R^2 = 0,99$), na aplicação conjunta com a dose 1 ($R^2 = 0,85$) e na aplicação conjunta com a dose 2 do inoculante ($R^2 = 0,80$). Os incrementos observados com a aplicação da menor dose de N (50 kg ha⁻¹) nos tratamentos sem inoculação, inoculação com a dose 1 e inoculação com a dose 2 foram de 7, 8 e 12%, respectivamente. Enquanto que o incremento de produtividade alcançado com a aplicação da maior dose de N (150 kg ha⁻¹) nos tratamentos sem inoculação, aplicação da dose 1 e aplicação da dose 2 foi de 27, 17 e 24 %, respectivamente.

A adubação nitrogenada promoveu resposta linear significativa também no acúmulo de fitomassa seca total ($p < 0,01$). Os dados do acúmulo de fitomassa seca de colmos, palha e ponteiro podem ser observados no anexo. A dose de 150 kg ha⁻¹ de N promoveu efeito significativo quando comparada com as outras doses (Tabela 7). Não foram observadas diferenças significativas na produção de fitomassa seca dentro das doses do inoculante.

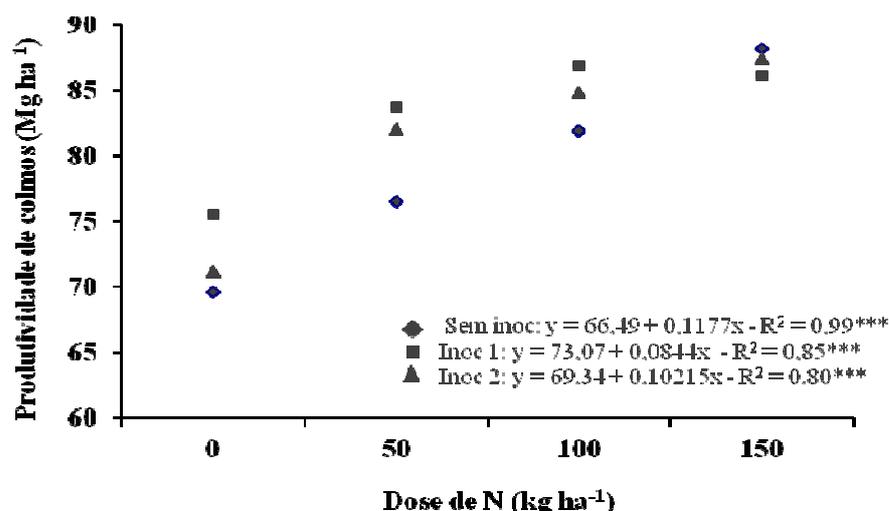


Figura 10. Produtividade de colmos da variedade SP80-3280, segunda soca, sob aplicação de doses crescentes de nitrogênio associadas com duas doses do inoculante. ***Significativo a 1% de probabilidade. Inoc1: 10^5 cel mL⁻¹ – Inoc2: 10^6 cel mL⁻¹- R²: coeficiente de regressão. Média de cinco repetições. Coeficiente de variação: 8,7%.

Tabela 7. Avaliação do acúmulo de fitomassa seca de parte aérea (colmos + folhas secas + ponteiro) da variedade SP80-3280, segunda soca, sob aplicação de doses de nitrogênio associados a doses do inoculante.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca total (Mg ha ⁻¹)			
	Sem Inoc	Inoc1	Inoc2	Média
0	29,67	33,76	31,63	31,61
50	37,18	35,48	35,55	36,08
100	37,23	38,89	38,06	38,07
150	39,72	40,16	40,79	40,23
Média	35,95	37,07	36,51	36,48
F-dose	6,77***	3,13**	5,42***	14,18***
F-RL	16,29***	9,12***	16,10***	40,85***
F-RQ	2,25 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,32 ^{ns}
R ²	0,80	0,97	0,98	0,96
CV%parcela				14,01
CV%subparcela				10,24

Inoc1: 10^5 cel mL⁻¹ – Inoc2: 10^6 cel mL⁻¹ - ^{ns} – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. R²: coeficiente de regressão. CV: coeficiente de variação.

No segundo ano do estudo (terceira soca) mesmo com déficit hídrico acentuado, houve aumento de produtividade em relação ao ano anterior. Houve resposta significativa ($p < 0,1$) à adubação nitrogenada (Figura 11). Observou-se resposta quanto a dose de N aplicada, com destaque para a aplicação da dose de 150 kg ha⁻¹ de N, que promoveu aumento de 12 Mg ha⁻¹ de colmos quando comparada com a testemunha não adubada. A maior produtividade no experimento foi obtida pela aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N associada a dose 2 do inoculante, com incremento de 16% em relação a testemunha sem aplicação de N e sem inoculação e de 5% em relação ao tratamento adubado com a mesma dose de N, mas sem inoculação.

A aplicação da dose 1 do inoculante associada a adubação nitrogenada não promoveu aumento linear significativo na produtividade de colmos na variedade SP80-3280, como no ano anterior. A inoculação promoveu pequenos incrementos na produção de colmos de modo a igualar os ganhos da adubação nitrogenada. Já a inoculação com a dose 2, quando associado com doses de N promoveu resposta quadrática ($R^2=0,90$). A inoculação associada a dose de 50 kg ha^{-1} de N promoveu efeito significativo quando comparado com as demais doses. Entretanto, a inoculação associada a dose de 150 kg ha^{-1} de N promoveu efeito negativo com redução da produtividade de colmos. Resultado semelhante foi observado por Oliveira et al. (2006) onde a inoculação com uma mistura de três estirpes bacterianas associadas a dose de 100 kg ha^{-1} de N em primeira soca, da variedade SP70-1143, promoveu significativo decréscimo na produtividade de colmos quando comparado com o tratamento não inoculado e adubado com a mesma dose de N.

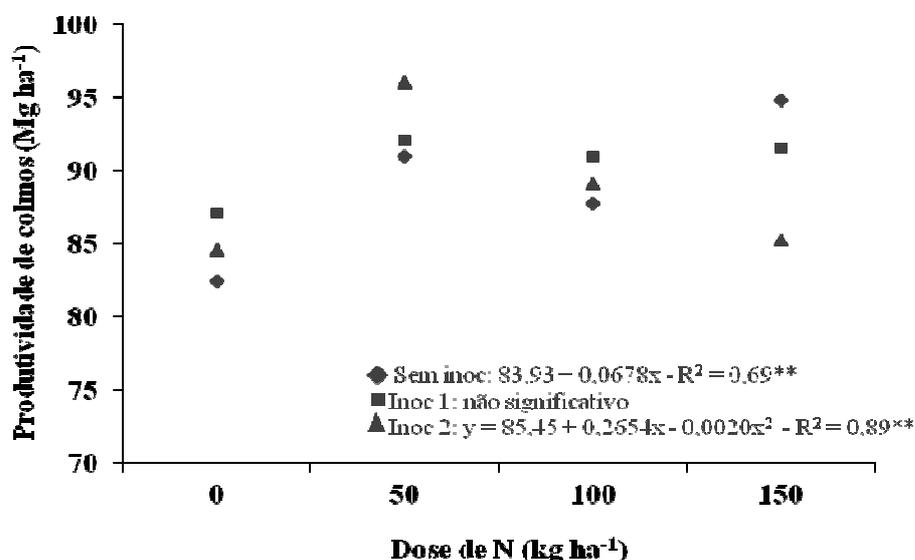


Figura 11. Produtividade de colmos da variedade SP80-3280, terceira soca, sob aplicação de doses de nitrogênio associadas com doses do inoculante. **Significativo a 5% de probabilidade. Inoc1: 10^5 cel mL^{-1} – Inoc2: 10^6 cel mL^{-1} - R^2 : coeficiente de regressão. Média de 5 repetições. Coeficiente de variação: 9,6%.

Na média a adubação nitrogenada promoveu aumento significativo ($p<0,05$) no acúmulo de fitomassa seca da parte aérea na terceira soca, porém, diferente do primeiro ano esta resposta foi quadrática (Tabela 8). Quanto as doses de N, a aplicação de 50 kg ha^{-1} de N promoveu significativo acúmulo de fitomassa seca. Quando se avalia dentro das doses de N associadas a inoculação observa-se que só houve resposta significativa às doses de N no tratamento onde não aplicou o inoculante. A adubação nitrogenada associada às doses do inoculante não promoveu efeito significativo no acúmulo de fitomassa seca de parte aérea. Já na aplicação da dose 2 do inoculante houve resposta quadrática no acúmulo de fitomassa seca de colmos ($p<0,05$) e resposta linear no acúmulo de fitomassa seca de palha ($p<0,05$) (anexo).

Tabela 8. Avaliação do acúmulo de fitomassa seca de parte aérea (colmos + folhas secas + ponteiro) da variedade SP80-3280, terceira soca, sob aplicação de doses de nitrogênio associados a doses do inoculante.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca total (Mg ha ⁻¹)			
	Sem Inoc	Inoc1	Inoc2	Média
0	32,70	36,49	34,03	34,40
50	42,68	36,70	39,10	39,49
100	34,95	38,50	35,20	36,21
150	36,82	36,86	36,65	36,77
Média	36,78	37,14	36,24	36,71
F-dose	5,67***	0,26ns	1,48ns	4,12**
F-RL	0,33ns	0,13ns	0,24ns	0,68ns
F-RQ	5,11**	0,27ns	1,01ns	4,77**
R ²	0,32	-	-	0,44
CV%parcela				12,23
CV%subparcela				10,93

Inoc1: 10⁵ cel mL⁻¹ – Inoc2: 10⁶ cel mL⁻¹ - ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. R²: coeficiente de regressão. CV: coeficiente de variação.

Tanto no primeiro, quanto no segundo ano foi observada resposta da cana-soca à adubação nitrogenada. De acordo com Vitti et al. (2008) a resposta da cana-soca a adubação nitrogenada é maior e muito mais freqüente que a resposta observada em cana-planta. Nos estágios iniciais da soqueira a maior compactação do solo, a baixa temperatura e umidade favorecem uma menor atividade microbiana e menor imobilização do N. Além disso, a decomposição da matéria orgânica de alta relação C:N (restos culturais e raízes) em um período de grande exigência pela cultura faz com a adição de N no solo seja acompanhada de uma rápida resposta da soqueira em crescimento e produtividade.

Como o ensaio foi instalado em final de safra (novembro), após a aplicação do fertilizante houve aumento da disponibilidade de água, favorecendo a absorção do fertilizante aplicado. Aliado a isto, a utilização de fontes nitrogenadas, como o nitrato de amônio, em sistema de colheita sem queima favorecem o aumento da eficiência do fertilizante aplicado, uma vez que estas fontes apresentam menores perdas por volatilização (CANTARELLA et al., 1999). Ressalta-se também que a variedade utilizada neste estudo é indicada para ambientes de média a alta produtividade, e é responsiva a adubação (RAIZER; VENCOVSKY, 1999). Estes fatores contribuíram para a resposta à aplicação de doses de N no aumento da produtividade de colmos, principalmente no primeiro ano. Quanto às bactérias inoculadas, a disponibilidade de água nos estágios iniciais após a inoculação favorece a colonização e sobrevivência destes microrganismos. Isso nem sempre ocorre nas soqueiras quando a colheita é realizada nos períodos mais secos do ano, o que não ocorreu no presente estudo. Segundo Oliveira (2003), o estabelecimento e sobrevivência das bactérias inoculadas é dependente da umidade.

A inoculação com bactérias diazotróficas parece promover efeitos mais pronunciados na produtividade de colmos quando inoculadas em variedades menos exigentes (mais rústicas) e em solos de baixa fertilidade natural, como observado por Oliveira et al. (2006). Estes autores desenvolveram um estudo de inoculação com duas misturas de bactérias

diazotróficas associadas a doses de N sobre a produtividade de colmos de duas variedades de cana-de-açúcar em três tipos de solos contrastantes quanto a fertilidade. Foi observada maior eficiência da inoculação no aumento da produtividade nos experimentos conduzidos nas classes de solo de menor fertilidade natural, com a variedade SP70-1143 na ausência de adubação nitrogenada, tanto para cana-planta quanto para a primeira soqueira. No mesmo experimento, mas com a variedade SP81-3250, houve resposta significativa à inoculação somente em soqueira. Houve resposta na ausência de adubação nitrogenada e na associação com 50 kg ha⁻¹ de N. Neste tratamento, o incremento na produtividade de colmos foi de 33%, porém, houve significativa redução na produtividade de colmos quando a inoculação foi realizada junto com a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de N. Segundo os autores, essa diminuição na produtividade das plantas inoculadas indica a necessidade de continuidade das pesquisas para definir um modelo para a aplicação comercial ampla considerando a grande área cultivada com cana-de-açúcar e conseqüentemente a diversidade de condições edafoclimáticas existente no Brasil.

Outros estudos foram conduzidos aplicando o mesmo coquetel de bactérias diazotróficas utilizado no presente estudo, mas sem a associação com doses de N. Schultz et al. (2010) observou resposta significativa na produtividade de colmos na variedade RB867515, os incrementos observados para a primeira e segunda soca foram de 33 e 29 Mg ha⁻¹, respectivamente. Entretanto, não foi observada resposta para a variedade RB72454. Já Silva et al. (2009) desenvolveram um estudo de inoculação em um Argissolo Amarelo de baixa fertilidade, foram observados significativos incrementos de produtividade de colmos, tanto na variedade RB867515 quanto na RB72454.

Moraes e Tauk-Tornisielo (1997) estudaram a contribuição associação da inoculação com a bactéria *G. diazotrophicus* com doses crescentes de N no fornecimento de N e na produção de matéria seca na variedade SP70-1143. Os autores observaram que os níveis de aplicação do nitrogênio mineral associados à inoculação contribuíram para o aumento da absorção desse elemento pelas plantas. Ficou caracterizada no estudo a dependência de uma fonte mínima de N para o desenvolvimento da população bacteriana no vegetal

Estudos já foram realizados com o intuito de avaliar o efeito da adubação nitrogenada sobre as bactérias diazotróficas que se associam com a cana-de-açúcar. Reis Jr. et al. (2000) estudaram os efeitos da adubação nitrogenada sobre a colonização de bactérias diazotróficas dos gêneros *Gluconacetobacter* e *Herbaspirillum* durante o primeiro ano de cultivo sob alta adubação nitrogenada. Foi observado que a população de *Gluconacetobacter diazotrophicus* foi significativamente menor nas raízes e na base do colmo da variedade SP79-2312 nos tratamentos que receberam o fertilizante nitrogenado. A influência de altas doses de nitrogênio sobre a população de *Gluconacetobacter* e *Herbaspirillum* também foi estudado por Fuentes-Ramirez et al. (1993). Estes autores observaram que a população de *Gluconacetobacter diazotrophicus* isolada de plantas não fertilizadas foi significativamente superior aquelas adubadas com 300 kg de N ha⁻¹. Estes autores sugeriram que este efeito não é uma relação negativamente direta entre a presença das bactérias e altas doses de nitrogênio, uma vez que estas bactérias continuam a fixar o nitrogênio mesmo em altas concentrações de nitrato. Sendo mais provável que a fisiologia da planta seja alterada em presença de altas doses de nitrogênio e posteriormente afeta a associação com este microrganismo.

Oliveira (2003) avaliou o efeito da adubação nitrogenada sobre a população de bactérias diazotróficas naturais e inoculadas em duas variedades comerciais de cana-de-açúcar. O autor observou que as espécies *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp. tiveram suas populações reduzidas na variedade SP70-1143 sob adubação nitrogenada nos tratamentos inoculados. Entretanto, na ausência da inoculação foi observado um aumento da população das bactérias sugerindo um estímulo da adubação nitrogenada a população destas bactérias.

4.2.4 Acúmulo de nitrogênio

Os resultados de acúmulo de N nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280, no primeiro ano de estudo (segunda soqueira) são apresentados nas Tabelas 9 e 10. A adubação com doses crescentes de nitrogênio promoveu aumento linear significativo no acúmulo de N de parte aérea. Em cada compartimento (colmo, palha e ponteiros) foi observado significativo acúmulo de N em resposta a adubação com doses crescentes de N. A adubação nitrogenada promoveu incremento significativo ($p < 0,01$) de N na parte aérea (acúmulo total) sendo que a diferença do N total acumulado na parte aérea na maior dose de N em relação a testemunha foi de 46,42 kg ha⁻¹ de N.

Tabela 9. Avaliação do acúmulo de nitrogênio nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280, segunda soca, sob adubação nitrogenada.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Acúmulo de Nitrogênio (kg ha ⁻¹)			
	Colmo	Palha	Ponteiro	Acúmulo total
0	20,81	17,15	22,31	60,28
50	27,22	19,10	24,77	71,10
100	39,69	22,35	24,32	86,37
150	51,38	25,13	30,18	106,70
F-doses	62,13***	5,22***	4,17**	41,17***
F-RL	183,27***	15,54***	9,90**	121,23***
F-RQ	2,34ns	0,07ns	1,07ns	2,29ns
R ²	0,98	0,99	0,79	0,98
CV (%)	19,16	26,13	25,09	14,99

ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. R²: coeficiente de regressão. CV: coeficiente de variação.

Quando a análise é feita comparando as doses do inoculante dentro de cada dose de nitrogênio observa-se que a inoculação, na ausência da adubação nitrogenada promoveu aumento linear significativo ($p < 0,1$) na palha e no acúmulo total da parte aérea. Na presença da adubação nitrogenada o que se observou foi uma redução no N acumulado em alguns compartimentos. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N houve acúmulo significativo de N no ponteiro no tratamento não inoculado. Já na dose de 100 kg ha⁻¹ de N essa redução de N ocorreu no colmo e na parte aérea total de forma linear e com efeito significativo na ausência da inoculação. De forma semelhante houve redução no conteúdo de N no colmo ($p < 0,01$) e na parte aérea total ($p < 0,1$) na maior dose de N (150 kg ha⁻¹ de N). As maiores doses de N associadas a inoculação apresentaram os menores valores no conteúdo de N.

Os dados obtidos neste trabalho mostraram que a inoculação com bactérias diazotróficas foi capaz de contribuir na nutrição nitrogenada em plantas de cana-de-açúcar na ausência de adubação nitrogenada, pela FBN e/ou por outros efeitos não quantificados neste estudo. Silva et al. (2009) observou incrementos não significativos no acúmulo de N na parte aérea em duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas também na ausência de adubação nitrogenada. Reis et al. (2008) em estudo em casa-de-vegetação em substrato estéril sem nitrogênio observou que a inoculação com a mistura de cinco espécies de bactérias promoveu significativo acúmulo de N em comparação com a planta testemunha.

Tabela 10. Avaliação do acúmulo de nitrogênio (kg ha^{-1}) no desdobramento das doses do inoculante dentro de cada dose de nitrogênio nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280, segunda soca, sob adubação nitrogenada e aplicação de bactérias diazotróficas.

Inoculação (cel mL^{-1})	Acúmulo de Nitrogênio (kg ha^{-1})			
	Colmo	Palha	Ponteiro	Acúmulo total
	Sem adubação nitrogenada			
Não inoc	17,09	13,17	19,55	49,83
Inoc1	25,32	19,12	22,19	66,64
Inoc2	20,02	19,15	25,20	64,37
F-doses	1,54ns	1,88ns	1,04ns	2,31ns
F-RL	0,38ns	2,52*	2,07ns	2,94*
	50 kg ha^{-1} de N			
Não inoc	30,41	19,88	25,57	75,86
Inoc1	23,97	21,38	20,82	66,18
Inoc2	27,29	19,15	23,92	70,36
F-doses	0,92ns	0,24ns	2,57*	1,36ns
F-RL	0,43ns	0,04ns	2,08ns	1,25ns
	100 kg ha^{-1} de N			
Não inoc	47,95	22,94	24,51	95,40
Inoc1	32,89	21,61	23,74	78,25
Inoc2	34,84	22,52	24,72	82,08
F-doses	9,11***	0,07ns	0,03ns	3,32**
F-RL	12,02***	0,01ns	0,00ns	3,88*
	150 kg ha^{-1} de N			
Não inoc	58,09	26,72	28,23	113,04
Inoc1	51,11	25,13	32,50	108,75
Inoc2	44,94	23,56	29,81	98,32
F-doses	3,83**	0,40ns	0,61ns	1,59ns
F-RL	7,66***	0,79ns	0,16ns	3,01*
CVparcela (%)	27,65	28,24	22,12	21,41
CVsubparcela (%)	19,16	28,55	25,09	14,99

Inoc1: 10^5 cel mL^{-1} – Inoc2: 10^6 cel mL^{-1} – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Diversos trabalhos já mostraram contribuição da FBN na nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 1992; LIMA et al. 1987; BODDEY et al., 1995). Oliveira et al. (2006) estimaram a FBN das variedades SP81-3250 e SP70-1143 inoculadas com bactérias diazotróficas cultivadas em Planossolo. A contribuição da FBN na nutrição nitrogenada foi de 34 e 38%, respectivamente para a mistura com as cinco estirpes de bactérias utilizadas neste estudo. Entretanto, outros trabalhos desenvolvidos em outros países não observaram resultados positivos quanto a FBN, sugerindo que a FBN não é uma fonte de N para a cana-de-açúcar (BIGGS et al., 2000; HOEFSLOOT et al., 2005).

O foco na eficiência da FBN, sua metodologia de quantificação em cana-de-açúcar, os diversos outros questionamentos são pertinentes, como relata Franco et al. (2010). O que se deve destacar, no entanto, é que as bactérias utilizadas neste estudo apresentam diversas outras formas de promoção do crescimento vegetal, além da FBN. Todas as bactérias utilizadas no inoculante são consideradas promotoras de crescimento e podem promover o

desenvolvimento vegetal através de mecanismos como a produção de fitormônios, síntese de sideróforos, solubilização de fosfato e através do antagonismo a fitopatógenos (NEILANDS; LEONG, 1986; RODRIGUES; FRAGA, 1999; BLANCO et al., 2005). Segundo Baldani et al. (2009) existe uma ligação bem estabelecida entre elementos de sinalização de fitormônios e processos de desenvolvimento vegetal. Várias moléculas de sinalização planta/microrganismo respondem a fitormônios (MATHESIUS et al., 2000). Nogueira et al. (2001) verificaram que alguns genes envolvidos em resposta, biossíntese e transporte de hormônios, incluindo auxina e giberelina são expressos preferencialmente em plantas inoculadas.

No presente estudo, também foi observada redução no acúmulo de N na parte aérea na aplicação do inoculante associado com as maiores doses de N. Entretanto, mesmo com a redução do N acumulado não foi observada redução na produtividade nestas doses. A redução no acúmulo de nitrogênio nos compartimentos das plantas adubadas com 100 e 150 kg ha⁻¹ de N e inoculadas com bactérias diazotróficas pode estar relacionado com a redução da população bacteriana pela alta dose de N aplicado.

Alguns autores relataram que o conteúdo de N decresce com a idade da planta (ROSSIELLO, 1987; THANGAVELU; RAO, 1996). No caso dos estudos de inoculação, a grande maioria foi feita no primeiro ano de crescimento da cultura. Reis Júnior et al. (2000) ao trabalhar com as variedades SP70-1143 e SP79-2312 no primeiro ano de cultivo e verificaram dois picos nos valores de conteúdo de nitrogênio (N total), sendo o primeiro e mais elevado ocorrido aos 90, e o outro aos 360 dias após o plantio, independentemente do cultivo, com ou sem adubação nitrogenada. Esses autores também encontraram valores de N total mais elevados nas raízes, dos 90 aos 450 DAP, quando comparados aos colmos.

Comparando com estudos de isolamento de bactérias diazotróficas de tecidos de cana no primeiro ano de cultivo, Muñoz-Rojas & Caballero-Mellado (2003) observaram que a população das estirpes de *G. diazotrophicus*, inoculada em diferentes variedades de cana-de-açúcar, diminuiu drasticamente, em relação à idade da planta, e que tal decréscimo ocorreu independentemente do nível de fertilização, genótipo da bactéria ou variedade da planta. Gomes et al. (2005) observou que a maior população de *G. diazotrophicus* estava presente nas raízes, principalmente no início do ciclo com decréscimo da população com a aproximação do final do ciclo da cultura da cana. Já a população de *Herbaspirillum* spp. se manteve em números relativamente baixos ao longo do ciclo nos colmos e folhas, independentemente da variedade e época de coleta. Reis Júnior et al. (2000b) observaram tendência inversa verificando que a população dessa bactéria não sofreu decréscimo com a aproximação do final do ciclo, nas duas variedades avaliadas (SP70-1143 e SP79-2312), nem tampouco ao longo do ciclo das canas não comerciais (Chunnee e Krakatau). Já Olivares (1997) verificou decréscimo nos números de *Herbaspirillum* spp., em plântulas de cana-de-açúcar que passaram por inoculação, com o aumento da idade, sob condições de casa de vegetação.

4.2.5 - Análise tecnológica

Foram observados efeitos em alguns atributos tecnológicos quando aplicadas as doses crescentes de nitrogênio (Tabela 11). Esses efeitos foram observados na pureza, Pol, AR e ATR. No acúmulo de sacarose (Pol) foi observado efeito linear significativo ($p < 0,05$). A adubação nitrogenada não afetou o Brix e o teor de fibras.

Tabela 11. Avaliação dos atributos tecnológicos avaliados na variedade SP80-3280, segunda soca, sob aplicação de doses de nitrogênio.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Brix	Fibra	-----%-----			ATR kg t ⁻¹
			Pureza	Pol	AR	
0	17,72	13,59	88,25	15,63	0,50	153,55
50	17,79	13,72	90,12	16,03	0,45	156,81
100	17,88	13,33	90,35	16,16	0,45	158,02
150	17,96	13,29	89,87	16,14	0,46	157,98
F-doses	0,57 ^{ns}	1,37 ^{ns}	5,05***	2,43*	4,63***	2,17 ^{ns}
F-RL	1,71 ^{ns}	2,68 ^{ns}	7,23**	5,56**	5,92**	5,16**
F-RQ	0,01 ^{ns}	0,22 ^{ns}	7,70***	1,72 ^{ns}	7,62***	1,33 ^{ns}
R ²	-	-	0,98	0,76	0,97	0,79
CV%	1,76	2,88	1,05	2,19	6,00	2,04

^{ns} – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. R²: coeficiente de regressão. CV: coeficiente de variação.

Quando a análise foi realizada avaliando as doses do inoculante dentro das doses de N observou-se que a inoculação na ausência da adubação nitrogenada promoveu aumento significativo no Brix, aumento da pureza e redução dos açúcares redutores (Tabela 12). Na inoculação associada à menor dose de N houve diferença significativa no Brix e significativo incremento no ATR, com acúmulo de 159,46 kg t⁻¹. Na dose média (100 kg ha⁻¹ de N) não foram observados efeitos da aplicação do inoculante. Na maior dose de N observou-se apenas efeito nos açúcares redutores com redução destes com a aplicação da dose 2 do inoculante.

Na Tabela 13 são apresentados os dados da análise tecnológica da terceira soca sob adubação nitrogenada e inoculação com bactérias diazotróficas. Diferente do que aconteceu no ano anterior a adubação nitrogenada não afetou os parâmetros tecnológicos.

O papel da adubação nitrogenada na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar é descrito por alguns autores, sendo que tanto o excesso como a falta de nitrogênio tem influência na qualidade tecnológica dos colmos. Em condições de deficiência de N, decresce o teor de umidade da planta, com conseqüente diminuição na qualidade do caldo, aumento no teor de fibra, diminuição na concentração de sacarose no colmo, acúmulo de sacarose nas folhas e alta relação colmo/folha. Já em plantas com excesso de nitrogênio ocorre acúmulo desse nutriente no colmo, decréscimo na qualidade do caldo e atraso na maturação (CARNAÚBA, 1990; SILVEIRA e CROCOMO, 1990). Porém, diversos estudos não mostraram efeito da adubação nitrogenada na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sendo a adubação nitrogenada geralmente associada com maior teor de umidade das plantas e maior produtividade (FARONI, 2008; COSTA et al., 2003; KORNDÖRFER; MARTINS, 1992; MALAVOLTA; MORAES, 2007). Mesmo em casos onde há efeito negativo nos atributos tecnológicos da cana-de-açúcar, o aumento na produtividade de colmos e produtividade de açúcar compensa esta redução (RESENDE et al., 2006).

Tabela 12. Avaliação dos atributos tecnológicos na cana-soca variedade SP80-3280, segunda soca, em função de doses de nitrogênio e aplicação de duas doses do inoculante bacteriano.

Inoculação	Brix	Fibra	Pureza			Pol	AR	ATR kg t ⁻¹
			-----%-----					
Sem adubação								
Não inoc	17,72	13,59	88,25	15,63	0,50	153,55		
Inoc1	17,28	13,52	90,65	15,66	0,44	153,24		
Inoc2	17,80	13,49	89,90	16,01	0,46	156,68		
F-doses	3,36**	0,08ns	7,14***	1,72ns	6,94***	1,73ns		
F-RL	0,15ns	0,15ns	6,48**	2,80ns	6,22**	2,34ns		
50 kg ha⁻¹ de N								
Não inoc	17,79	13,72	90,12	16,03	0,45	156,81		
Inoc1	18,11	13,48	90,03	16,30	0,46	159,46		
Inoc2	17,61	13,41	89,92	15,83	0,46	154,99		
F-doses	2,81*	0,88ns	0,05ns	2,28ns	0,10ns	2,42*		
F-RL	0,72ns	1,57ns	0,10ns	0,80ns	0,19ns	0,79ns		
100 kg ha⁻¹ de N								
Não inoc	17,88	13,33	90,35	16,16	0,45	158,02		
Inoc1	17,72	13,57	90,46	16,04	0,44	156,80		
Inoc2	17,86	13,38	89,59	16,00	0,47	156,71		
F-doses	0,31ns	0,55ns	1,06ns	0,28ns	1,12ns	0,25ns		
F-RL	0,01ns	0,04ns	1,37ns	0,50ns	1,30ns	0,41ns		
150 kg ha⁻¹ de N								
Não inoc	17,96	13,29	89,87	16,14	0,46	157,98		
Inoc1	17,84	13,09	89,24	15,92	0,48	156,06		
Inoc2	17,81	13,52	90,63	16,14	0,44	157,82		
F-doses	0,26ns	1,55ns	2,32ns	0,67ns	2,72*	0,54ns		
F-RL	0,45ns	0,88ns	1,37ns	0,00ns	1,61ns	0,01ns		
CV%parcela	2,32	2,80	1,37	2,23	7,34	2,14		
CV%subparcela	1,76	2,88	1,05	2,19	6,00	2,04		

Inoc1: 10⁵ cel mL⁻¹– Inoc2: 10⁶ cel mL⁻¹- ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Tabela 13. Avaliação dos atributos tecnológicos na variedade SP80-3280, terceira soca, sob aplicação de doses de N.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Brix	Fibra	Pureza			Pol	AR	ATR kg t ⁻¹
			-----%-----					
0	17,04	13,94	89,46	15,25	0,47	149,70		
50	17,62	13,69	90,30	15,91	0,45	155,59		
100	17,44	13,59	89,41	15,60	0,47	152,85		
150	17,47	13,76	89,72	15,68	0,46	153,54		
F-doses	2,13ns	0,33ns	1,45ns	2,14ns	1,33ns	2,15ns		
F-RL	2,20ns	0,32ns	0,01ns	1,36ns	0,03ns	1,57ns		
F-RQ	2,60ns	0,67ns	0,62ns	2,40ns	0,35ns	2,54ns		
CV%	2,33	4,22	1,39	3,27	7,59	3,02		

ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Quando a análise é realizada avaliando o efeito das doses do inoculante observa-se significativo efeito sobre o Brix, teor de fibras, Pol e ATR na ausência da adubação nitrogenada (Tabela 14). A repetição deste resultado, na ausência da adubação nitrogenada, mostra que de alguma forma a inoculação com bactérias diazotróficas influenciou nos atributos tecnológicos da cana-de-açúcar. Houve também redução do teor de fibras quando a inoculação foi associada coma a dose média de N (100 kg ha⁻¹ de N).

Tabela 14. Avaliação dos atributos tecnológicos variedade SP80-3280, terceira soca, em função de doses de nitrogênio e aplicação de doses do inoculante bacteriano.

Inoculação (cel ml ⁻¹)	Brix	Fibra	Pureza	Pol	AR	ATR kg t ⁻¹
			-----%-----			
Sem adubação						
Não inoc	17,04	13,94	89,46	15,25	0,47	149,70
Inoc1	17,45	13,47	89,49	15,62	0,47	153,07
Inoc2	17,58	13,35	89,69	15,77	0,46	154,44
F-doses	2,89*	1,61ns	0,16ns	2,24ns	0,06ns	2,47*
F-RL	5,29**	3,02*	0,27ns	4,22**	0,02ns	4,62**
50 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,62	13,69	90,30	15,91	0,45	155,59
Inoc1	17,40	13,82	89,88	15,65	0,46	153,06
Inoc2	17,65	13,60	89,75	15,84	0,46	155,11
F-doses	0,57ns	0,21ns	0,82ns	0,69ns	0,80ns	0,68ns
F-RL	0,02ns	0,07ns	1,50ns	0,04ns	1,54ns	0,03ns
100 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,44	13,59	89,41	15,60	0,47	152,85
Inoc1	17,51	13,64	89,71	15,71	0,46	153,85
Inoc2	17,81	12,89	89,70	15,98	0,47	156,48
F-doses	1,22ns	3,10*	0,30ns	0,46ns	0,25ns	0,43ns
F-RL	2,15ns	4,34**	0,44ns	1,47ns	0,01ns	1,61ns
150 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,47	13,76	89,72	15,68	0,46	153,54
Inoc1	17,20	13,49	89,45	15,39	0,47	150,93
Inoc2	17,27	13,57	89,89	15,53	0,46	152,09
F-doses	0,60ns	0,33ns	0,49ns	0,66ns	0,57ns	0,66ns
F-RL	0,62ns	0,30ns	0,15ns	0,22ns	0,02ns	0,26ns
CV%parcela	2,18	2,83	1,22	2,97	6,55	2,75
CV%subparcela	2,33	4,22	1,39	3,27	7,59	3,02

Inoc1: 10⁵ cel mL⁻¹– Inoc2: 10⁶ cel mL⁻¹ – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Se os efeitos da adubação nitrogenada nos atributos tecnológicos ainda requerem algumas respostas, os efeitos da inoculação com bactérias diazotróficas ainda são menos conhecidos. Sabe-se que o uso excessivo de fertilizantes favorece intensamente o crescimento vegetativo da planta, o que atrasa sua maturação. O nitrogênio em excesso existente na época da colheita leva ao baixo conteúdo de sacarose da planta (SILVEIRA e CROCOMO, 1990). Da mesma forma, a água em abundância durante todo o ciclo da cana também prejudica sua maturação. As transformações e reações metabólicas que o nitrogênio promove requerem energia. Além disso, a assimilação do N compete com a assimilação do CO₂ no consumo de

compostos energéticos e de transferência de elétrons. Logo, enquanto ocorrer crescimento, haverá menor aumento de sacarose nos colmos. O acúmulo máximo de sacarose ocorre quando a planta encontra condições que restringem seu crescimento, como falta de nutrientes, deficiência hídrica e condições adversas de clima. Estas condições forçam a planta a parar seu crescimento e amadurecer (CASTRO, 2000). Não se sabe se as bactérias inoculadas interferem em algum destes processos, seja pela aceleração do seu desenvolvimento ou por interferência em algum processo fisiológico responsável pelo acúmulo de sacarose.

O que se observou no presente estudo foi que a inoculação com doses do inoculante microbiano promoveu efeito significativo nos diversos parâmetros tecnológicos avaliados principalmente quando a inoculação não foi associada a doses de N. Oliveira et al. (2006) observaram significativa resposta da cana-planta no teor de sacarose quando a variedade SP70-1143 foi inoculada com uma mistura de bactérias diazotróficas na ausência de adubação nitrogenada em um Latossolo Vermelho. Estes mesmos autores, também observaram resposta significativa da inoculação conjunta com a dose de 50 kg ha⁻¹ de N no teor de sacarose em soqueira da variedade SP70-1143 cultivada em um Nitossolo. Porém, também foi observado que a inoculação com a mistura de bactérias promoveu significativa diminuição no teor de sacarose da variedade SP81-3250 no ciclo da cana-planta em um Latossolo Vermelho na ausência de adubação nitrogenada.

Tecnologias que aumentem a concentração de açúcar na cana-de-açúcar são de grande interesse para o setor sucroalcooleiro. Qualquer sistema de cultivo em expansão, como a cana-de-açúcar, deve priorizar o aumento de produtividade em detrimento ao aumento de área. Para o produtor somente o aumento da produtividade de colmos não é suficiente, uma vez que o sistema pagamento da cana hoje no Brasil se baseia nos açúcares totais recuperáveis (ATR). Dessa forma torna-se fundamental o desenvolvimento de tecnologias que melhorem a qualidade da cana-de-açúcar produzida.

No presente estudo a inoculação com bactérias diazotróficas não promoveu significativo efeito quanto a fitomassa fresca e seca na variedade SP80-3280. Entretanto, observou-se efeito significativo quanto ao acúmulo de N e quanto a parâmetros tecnológicos na ausência de adubação nitrogenada. Nesta condição, efeitos puderam ser observados tanto no primeiro, quanto no segundo ano do estudo. Em condições de menor disponibilidade de N, com maior restrição, a inoculação parece provocar alterações na fisiologia da planta, este efeito sendo refletido principalmente no acúmulo de açúcar.

4.2.6 Margem de contribuição agrícola (MCA)

Analisados os dados de produtividade de colmos e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar, buscou-se analisar se os efeitos provocados pela inoculação com bactérias diazotróficas e pela adubação nitrogenada refletiram em ganhos ou prejuízos. Os resultados mostraram que as aplicações da maioria dos tratamentos, no primeiro ano de estudo (safra 2008/2009) proporcionaram ganhos, sendo refletido em retorno econômico (Tabela 15). Os tratamentos com as maiores margens de contribuição agrícola foram obtidos pela aplicação de 50 kg de N ha⁻¹ + aplicação da dose 1 do inoculante, 150 kg de N ha⁻¹ e 100 kg de N ha⁻¹ + aplicação da dose 1 do inoculante. O custo de aplicação da menor dose de N (50 kg ha⁻¹) associada a aplicação da dose 1 do inoculante foi equivalente ao custo de aplicação de 100 kg de N ha⁻¹ e menor que o custo de aplicação de 150 kg de N ha⁻¹. O tratamento que gerou a menor margem de contribuição agrícola foi a aplicação com a dose 2 do inoculante. A produtividade de açúcar obtida com este tratamento não foi suficiente para pagar os gastos obtidos com a aplicação de duas doses do inoculantes (R\$ 100,00) + os custos de aplicação do mesmo (R\$ 55,00 ha⁻¹).

Tabela 15. Produtividade de açúcar (kg ha⁻¹) e rendimento financeiro em função da adubação nitrogenada e da aplicação do inoculante em área experimental na Usina Diamante.

Tratamentos		TCH	ATR	TAH	Receita bruta	Custo CCT	Custo do tratamento	Custo total	MCA
N (kg ha ⁻¹)	Inoculante (Dose)*	t ha ⁻¹	Kg t ⁻¹	Kg ha ⁻¹	R\$ ha ⁻¹				
0	0	65,85	153,55	10.111	3.303	1.396	0,0	1.396	1.907
0	1	71,07	153,24	10.891	3.558	1.507	105,0	1.612	1.946
0	2	66,30	156,68	10.389	3.394	1.406	155,0	1.561	1.833
50	0	73,36	156,81	11.504	3.758	1.555	168,5	1.724	2.034
50	1	79,36	159,46	12.654	4.134	1.682	273,5	1.956	2.178
50	2	78,32	154,99	12.139	3.966	1.660	323,5	1.984	1.982
100	0	78,25	158,02	12.365	4.040	1.659	272,0	1.931	2.109
100	1	83,36	156,80	13.071	4.270	1.767	377,0	2.144	2.126
100	2	80,92	156,72	12.682	4.143	1.716	427,0	2.143	2.001
150	0	83,85	157,98	13.246	4.328	1.778	375,5	2.153	2.175
150	1	83,80	156,06	13.079	4.273	1.777	488,5	2.265	2.008
150	2	82,46	157,82	13.014	4.252	1.748	540,5	2.289	1.963

*Dose 1: 10⁵ cel g⁻¹ – Dose 2: 10⁶ cel g⁻¹. TCH: tonelada de colmos industrializáveis por hectare; ATR: açúcar total recuperável por tonelada de colmos; TAH (produtividade de açúcar por hectare): TCH x ATR; Receita bruta = TAH x 0,3492 (ATR cotação dezembro de 2009); CCT (custo de corte, carregamento e transporte): R\$ 21,20 t⁻¹, custo média da Usina Diamante; Custo do tratamento: dose de N + custo de aplicação + dose do inoculante + custo de aplicação - custo do nitrato de amônio em 05/2010 – R\$ 685,00 ou R\$2,07/kg de N; dose do inoculante: R\$ 50,00 (valor estimado) – custo de aplicação do N: R\$ 65,00 ha⁻¹ e custo de aplicação do inoculante: R\$ 55,00 ha⁻¹; Custo total = CCT + Custo do tratamento; MCA (Margem de contribuição agrícola): receita bruta – custo total.

A receita marginal agrícola obtida com a baixa e média dose de nitrogênio associada a dose 1 do inoculante e a aplicação de 150 kg de N ha⁻¹ foram de R\$ 270,92, 267,84 e 218,84, respectivamente (Figura 12). A aplicação da menor dose de N associada a aplicação da dose 1 do inoculante resultou em ganhos equivalentes à aplicação de 150 kg de N ha⁻¹. Esse resultado é de grande interesse para o setor sucroalcooleiro e demais atores envolvidos na cadeia de produção. A manutenção e/ou aumento da lucratividade com a redução na dose de nitrogênio pode tornar o etanol de cana-de-açúcar ainda mais competitivo e principalmente, reduzir a adubação nitrogenada pela aplicação de uma tecnologia vinda da própria natureza, com possíveis reduções da na emissão de gases de efeito estufa com significativos ganhos ambientais. Ressalta-se, porém, que estudos devem ser conduzidos a longo prazo de modo a observar não só a rentabilidade em um ou dois ciclos, mas acompanhar se a redução da adubação nitrogenada associada a inoculação com bactérias diazotróficas mantém a produtividade e rentabilidade ao longo do tempo.

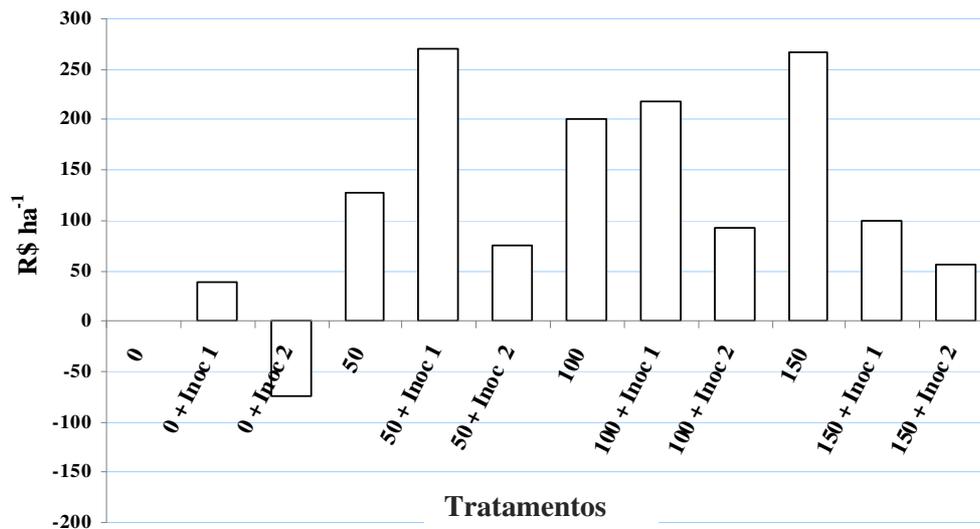


Figura 12. Receitas marginais agrícolas em relação ao controle sem adubação nitrogenada e sem inoculação. Doses de N: 0, 50, 100 e 150 kg de N ha⁻¹ – doses do inoculante: Inoc 1 (10⁵ cel mL⁻¹) e Inoc 2 (10⁶ cel g⁻¹).

No ciclo seqüente, os resultados mostraram que a aplicação dos tratamentos em estudo também proporcionou ganhos, sendo refletido em retorno econômico (Tabela 16). Os tratamentos com as maiores margens de contribuição agrícola foram obtidos pela aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N + aplicação da dose 2 do inoculante, aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N e o tratamento com a aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N. As maiores receitas brutas foram obtidas com a aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N + aplicação da dose 2 do inoculante e adubação com 150 kg ha⁻¹ de N. Sendo que neste tratamento, a adubação com a maior dose de N resultou em um dos maiores custos quando comparado com os demais tratamentos. Como a produtividade de açúcar está atrelada a produtividade de colmos, os tratamentos com aplicação da dose de 50 kg ha⁻¹ de N se destacaram, uma vez que além de terem aumentado a produtividade de colmos apresentam menor custo.

A receita marginal agrícola obtida com a dose 50 kg ha⁻¹ de N + aplicação da dose 2 do inoculante, aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N e o tratamento com a aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N foi de R\$ 353,49, 335,70 e 197,45 respectivamente (Figura 13). A aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N associado a inoculação foram os únicos tratamentos a gerar um resultado negativo neste cálculo. A aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N associado a dose 2 do inoculante foi o tratamento que gerou o maior custo, R\$ 540,50 ha⁻¹. Comparando entre as doses de N, a aplicação da dose mínima de N (50 kg) foi a mais rentável nesse estudo. Observou-se nos dois anos de estudo que as maiores margens de contribuição agrícola foram obtidas com os tratamentos com a aplicação de uma dose baixa de N. Outros trabalhos também mostraram que a adubação com baixa dose de N é mais rentáveis que as maiores doses (FRANCO et al., 2010).

Tabela 16. Produtividade de açúcar (kg ha⁻¹) e rendimento financeiro em função da adubação nitrogenada e da aplicação do inoculante em área experimental na Usina Diamante.

Tratamentos		TCH	ATR	TAH	Receita bruta	Custo CCT	Custo do tratamento	Custo total	MCA
N (kg ha ⁻¹)	Inoculante (Dose)*	t ha ⁻¹	kg t ⁻¹	kg ha ⁻¹	R\$ ha ⁻¹				
0	0	82,45	149,70	12.343	4.648	1.748	0,0	1.748	2.900
0	1	87,10	153,07	13.332	5.021	1.847	105,0	1.952	3.069
0	2	84,62	154,45	13.070	4.922	1.794	155,0	1.949	2.973
50	0	91,04	155,59	14.165	5.335	1.930	168,5	2.099	3.236
50	1	92,10	153,20	14.110	5.314	1.953	273,5	2.226	3.088
50	2	96,12	155,11	14.910	5.615	2.038	323,5	2.361	3.254
100	0	87,78	152,85	13.417	5.053	1.861	272,0	2.133	2.920
100	1	90,98	153,85	13.998	5.272	1.929	377,0	2.306	2.966
100	2	89,16	156,48	13.951	5.254	1.890	427,0	2.317	2.937
150	0	94,84	153,54	14.562	5.484	2.011	375,5	2.386	3.098
150	1	91,62	150,93	13.828	5.208	1.942	488,5	2.431	2.777
150	2	85,30	152,09	12.974	4.886	1.702	540,5	2.243	2.643

*Dose 1: 10⁵ cel g⁻¹ – Dose 2: 10⁶ cel g⁻¹. TCH: tonelada de colmos industrializáveis por hectare; ATR: açúcar total recuperável por tonelada de colmos; TAH (produtividade de açúcar por hectare): TCH x ATR; Receita bruta = TAH x 0,3766 (ATR cotação de dezembro de 2010); CCT (custo de corte, carregamento e transporte): R\$ 21,20 t⁻¹, custo média da Usina Diamante; Custo do tratamento: Dose de N x Dose do inoculante - Custo do nitrato de amônio em 05/2010 – R\$ 685,00 ou R\$2,07/kg de N; dose do inoculante: R\$ 50,00 (valor estimado) – custo de aplicação do N: R\$ 65,00 ha⁻¹ e custo de aplicação do inoculante: R\$ 55,00 ha⁻¹; Custo total = CCT + Custo do tratamento; MCA (Margem de contribuição agrícola): receita bruta – custo total.

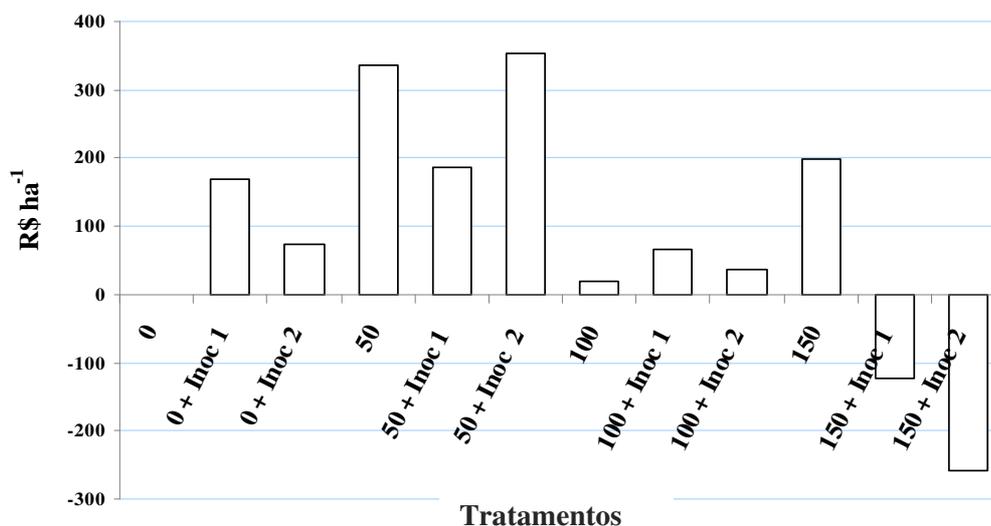


Figura 13. Receitas marginais agrícolas em relação ao controle sem adubação nitrogenada e sem inoculação. Doses de N: 0, 50, 100 e 150 kg de N ha⁻¹ – Doses do inoculante: Inoc 1 (10⁵ cel mL⁻¹) e Inoc 2 (10⁶ cel mL⁻¹).

Como já mencionado, o valor do inoculante foi baseado em estimativas de uma indústria de inoculantes. Vários fatores foram levados em consideração para estimar este custo, como a composição do produto, embalagem, frete, custo de desenvolvimento, e o custo de comercialização. Ressalta-se que este valor pode estar superestimado, não podendo ainda definir um valor final para o inoculante. A pesquisa tem se direcionado para a produção de novos veículos inoculantes, como polímeros (FERNANDES JUNIOR et al., 2009; SILVA et al., 2009) e inoculantes líquidos (TITTABUTR et al., 2007), que podem futuramente ter um custo mais baixo e terem maior eficiência durante sua aplicação, o que não acontece atualmente com a turfa.

Outro ponto relevante é busca por formas de aplicação que não aumentem os custos de produção. O ideal seria aproveitar alguma operação já realizada no manejo da lavoura para a aplicação das bactérias. Alguns estudos já demonstraram que diversos produtos utilizados na lavoura não afetam o crescimento de bactérias diazotróficas (MADHAIYAN et al., 2006; CHALAN et al., 1997; PATNAIK, et al., 1995). Dessa forma, sugere-se que a aplicação do inoculante seja testada em conjunto com as operações já realizadas no manejo da cana-de-açúcar, seja no plantio ou nas soqueiras. Uma operação a mais no manejo pode tornar a tecnologia inviável, mas a aplicação do inoculante em conjunto com outra aplicação reduziria a provável segunda operação, reduzindo custos. Outros estudos precisam ser desenvolvidos para otimizar os ganhos, como aplicação conjunta de bactérias com substâncias húmicas (MARQUES JÚNIOR et al., 2008) e estudos relacionados a sobrevivência e manutenção da viabilidade das bactérias em subprodutos da produção de açúcar e etanol que são utilizados na lavoura, como a torta de filtro e vinhaça.

Ressalta-se que os ganhos obtidos no presente estudo são dependentes de diversos fatores, entre eles, o preço pago pelo ATR, preço do nitrogênio e a forma como a lavoura é conduzida. O aumento dos custos operacionais, como o CCT, e os custos dos insumos utilizados podem encarecer a produção. Associado a queda no preço do ATR e dos preços do açúcar e do etanol pode reverter em prejuízo o manejo adotado no experimento, apesar de dos incrementos observados. O que se observa nas atuais condições é que a lucratividade do setor é dependente de um correto manejo da cultura no campo, baseado na diminuição dos custos de produção que, por sua vez, estão diretamente ligados aos preços dos insumos e produtos finais. Isso faz com que haja uma dependência para a aplicação dos insumos, no caso o nitrogênio. A dose de N aplicada será maior quando o preço dos insumos baixarem e/ou dos produtos açúcar e álcool subirem e vice-versa (FARONI, 2008). A aplicação de baixas doses de nitrogênio associadas a aplicação do inoculante pode trazer benefícios para o sistema de produção da cana-de-açúcar. Ganhos econômicos, pela redução do adubo nitrogenado e ganhos ambientais, uma vez que o fertilizante nitrogenado é um dos principais responsáveis pela emissão de N₂O no sistema de produção (SIGNOR, 2010).

5 CONCLUSÕES

- As variedades de cana-de-açúcar apresentaram diferentes respostas na produtividade de colmos quando inoculadas com bactérias diazotróficas, com aumento de produtividade na variedade RB72454 na cana-planta;
- A inoculação influenciou a qualidade tecnológica e promoveu significativo aumento no ATR das variedades RB855453, RB72454, RB92579 e SP81-3250 no ciclo da cana-planta;
- A inoculação com bactérias diazotróficas na ausência da adubação nitrogenada promoveu acúmulo de nitrogênio e aumento de açúcar na variedade SP80-3280; e
- A aplicação do inoculante associada a uma baixa dose de N gerou lucro e mostrou ser rentável nos dois anos estudados em cana-soca com a variedade SP80-3280.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução de novas tecnologias em sistemas tradicionais, como o da cana-de-açúcar, sempre levantarão questionamentos. A aplicação de inoculantes em plantas não leguminosas ainda requer esclarecimentos e novos estudos. O que se observa, no entanto, que passos estão sendo dados objetivando a utilização de tecnologias com menor impacto ambiental. Este trabalho mostrou que o inoculante desenvolvido para a cana-de-açúcar apresenta efeito na promoção do crescimento das plantas e pode ser rentável para o produtor. A aplicação mecanizada na cana-soca mostrou ser viável operacionalmente e pode ser aplicada em nível de campo. Destaca-se principalmente a possibilidade de se usar uma alternativa para a redução da adubação nitrogenada na cana-de-açúcar. Como mencionado anteriormente, o fertilizante é um dos principais responsáveis pela emissão de gases de efeitos estufa no processo de produção do etanol de cana. Reduzir suas aplicações trará diversos benefícios para o sistema de produção e ao meio ambiente.

Ressalta-se, porém, que novos trabalhos devem ser desenvolvidos com intuito de confirmar estes resultados e maximizar os ganhos obtidos neste trabalho. Os estudos com cana-de-açúcar devem se prolongar do plantio até a renovação do canavial. Para a redução da adubação nitrogenada pela inoculação com bactérias diazotróficas deve-se avaliar se a diminuição do N aplicado afetará na longevidade do canavial. A enorme diversidade entre os ambientes de cultivo com a cana-de-açúcar, aliado a diversidade genética das variedades comerciais sugerem a continuidade dos trabalhos de pesquisa, buscando a identificação das interações mais eficientes entre a planta hospedeira e as estirpes bacterianas utilizadas nos inoculantes. Há viabilidade prática da tecnologia de inoculação com bactérias diazotróficas endofíticas, através de aumentos nos parâmetros de produtividade, porém, indicam que esta tecnologia ainda não pode ser considerada universal para a ampla utilização nas áreas canavieiras brasileiras.

Destacam-se alguns pontos fundamentais a serem discutidos. A cana-de-açúcar é considerada uma cultura semi-perene e qualquer tecnologia que vise à redução de insumos, como os fertilizantes nitrogenados, deverão ser avaliados durante todo o seu ciclo. Outra questão é quanto aos efeitos da inoculação com bactérias diazotróficas ao longo do ciclo da cultura. A cana-de-açúcar tem seu ciclo variando entre 12 a 18 meses. Nenhum estudo foi realizado mostrando os possíveis efeitos da inoculação nos diferentes estágios fenológicos da cultura, a maioria dos resultados mostrados até então, destacam somente parâmetros avaliados no final do ciclo da cultura. Outro ponto importante é a inserção no melhoramento vegetal de ferramentas que possibilitem a identificação de genótipos promissores quanto a capacidade de associação com microrganismos promotores de crescimento e responsivos a inoculação com bactérias diazotróficas.

Além disso, estudos devem ser direcionados visando a compatibilidade e o sinergismo entre tecnologias já utilizadas no manejo da cultura, como a vinhaça e a torta de filtro, inseticidas e nematicidas, aplicação de produtos a base de fitorreguladores, micronutrientes e em associação com substâncias húmicas. Este ponto é relevante tendo em vista a redução de uma operação, caso o inoculante venha a ser aplicado, e agregação de valor e maximização dos efeitos na promoção do crescimento das plantas. Espera-se que os próximos trabalhos já em andamento tragam algumas destas respostas de modo que esta tecnologia possa ser aperfeiçoada e em breve seja aplicada comercialmente.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**. v. 163, p. 173 – 181, 2008.

ALVES, B. J. R.; SANTOS, J. C. F. dos; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., (Org.) **Manual de métodos empregados em estudo de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI; Goiânia: Embrapa-CNPAP; Londrina: Embrapa-CNPSo, 1994. 542 p.; p. 449-409. (Embrapa-CNPAP. Documentos, 46).

ANJOS, I. A. **Avaliação do potencial forrageiro e industrial de variedades de cana-de-açúcar (cana-soca), sob diferentes doses de nitrogênio**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

AZEREDO D.F.; BOLSANELLO J.; WEBER, H.; VIEIRA J.R. Nitrogênio em cana-planta - doses e fracionamento. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 6, n. 5, p. 26-32, 1986.

BALDANI, J. I.; OLIVEIRA, A. L. M.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D. Biological nitrogen fixation (BNF) in non-leguminous plants: The role of endophytic diazotrophs. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G. & NEWTON, W. E., (Org.). **Nitrogen Fixation: from molecules to crop productivity; Proceedings of the 12th Internacional Congress on Nitrogen Fixation**. Foz do Iguaçu. Dordrecht: Kluwer. p. 397 - 400 (Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, 38), 2000.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R. & DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p. 911-922, 1997.

BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane – reasons for success in Brazil. **Funct. Plant Biol.**, v. 29, p. 417-423, 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.; JANTALIA, C.P.; FERREIRA, P. C. G.; VIDAL M.S. ; BODDEY, R. M. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família Poaceae (antiga gramineae). In: RIBEIRO. M. R.; NASCIMENTO, C. W. A.; RIBEIRO FILHO, M. R.; CANTALICE, J. R. C. (Org.). **Tópicos em Ciência do Solo (Topics in Soil Science)**. 1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009, v. VI, p. 203-272.

BAR-NESS, E.; HADAR, Y.; SHANZER, A.; LIBMAN, J. Iron uptake by plants from microbial siderophores. A study with 7-nitrobenz-2 oxa-1,3-diazole-des-ferrioxamine as fluorescent ferrioxamine B analog. **Plant Physiology**. v. 99, p. 1329–1335, 1992.

BARBOSA, G. V. S.; SOUSA, A. J. R.; ROCHA, A. M. C.; SANTOS, A. V. P.; BARRETO, C. G. R.; MOURA FILHO, E. J. S.; SOUZA, G. J. L.; FERREIRA, J. L. C.; SOARES, L.; CRUZ, M. M.; FERREIRA, P. V.; SILVA, W. C. M. **Três novas variedades RB de cana-de-açúcar**. Boletim Técnico, PMGCA, n. 2, Alagoas, 2003, 18 p.

BENT, E. H.; CHANWAY, C. P. The growth-promoting effects of bacterial endophyte on lodgepole pine are partially inhibited by the presence of other rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, n.10, p.980-988, 1998.

BIGGS, I. M.; WILSON, J. R.; KEATING, B. A.; CRITCHLEY, C. Does biological N₂-fixation contribute to nitrogen requirements in Australian sugarcane? **The Australian Society of Sugar Cane Technologists**, v. 22, p. 133-138, 2000.

BLANCO, Y.; BLANCH, M.; PIÑÓN, D.; LEGAZ, M.; VICENTE, C. Antagonism of *Gluconacetobacter diazotrophicus* (a Sugarcane Endosymbiont) against *Xanthomonas albilineans* (Pathogen) Studied in Alginate-Immobilized Sugarcane Stalk Tissues. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, vol. 99, n. 4, p. 366–371, 2005.

BODDEY, R.M. Biological Nitrogen Fixation in sugar cane: a key to energetically viable biofuel production. **Critical Review in Plant Science**, v. 14, p. 263-279, 1995.

BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Use of 15N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and others grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.28, p.889-895, 2001.

BODDEY, R.M.; SOARES, L. H. B.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Bio-ethanol production in Brazil. In: PIMENTEL, D. (Org.) **Biofuels, solar and Wind as renewable energy systems**. New York, Springer, 2008. p. 321-356.

BURDMAN, S.; JURKEVITCH, E.; SCHWARTSBURD, B.; HAMPEL, M.M.; OKON, Y. Aggregation in *Azospirillum brasilense*: effects of chemical and physical factors and involvement of extracellular components. **Microbiology**, v. 144, p. 1989-1999, 1998.

CANTARELLA, H. RAIJ, V. Adubação nitrogenada no Estado de São Paulo. In: SANTA, M. B. M. (Ed.) **Adubação nitrogenada no Brasil**. Ilhéus: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1985. p. 47-79.

CANTARELLA, H.; ROSSETO, R.; BARBOSA, W.; PENNA, M. J. RESENDE, L. C. L. Perdas de nitrogênio por volatilização da amônia e resposta da cana-de-açúcar à adubação nitrogenada em sistema de colheita sem queima prévia. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 18, n. 1, p. 25, 1999.

CANUTO, E. L.; OLIVEIRA, A. M.; BALDANI, J. I. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar. **Resumos...** Anais da X Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ. v. 10, p. 57 – 58, 2000.

CARNAÚBA, B. A. A. O nitrogênio e a cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 8, n. 3, p. 24-41, 1990.

CASTRO, P. R. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: Simpósio Internacional de Fisiologia de Cana-de-açúcar, 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: STAB, 2000, 9 p.

CAVALCANTE, V. A. & DOBEREINER, J. A new acid tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, p. 23-31, 1988.

CHALAN, A. V.; SASIKALA, C.; RAMANA, C. V.; UMA N. R.; RAO, P. R. Effect of Pesticides on the diazotrophic growth and nitrogenase activity of purple nonsulfur bacteria. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, p. 463-468, 1997.

CHAPOLA, R. G.; HOFFMANN, H. P.; BASSINELLO, A. I.; FERNANDES JUNIOR, A. R.; BRUGNARO C.; ROSA J. R. B. F.; VIEIRA M. A. S.; SCHIAVINATO, S. R. Censo varietal de cana-de-açúcar de 2009 dos Estados de São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.28, n.4, p.34-37, 2010.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>> Acesso em: fevereiro de 2011.

COSTA, M. C. G.; VITTI, G. C.; CANTARELLA, H. Volatilização de N-NH₃ de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n.4, p.631-637, 2003.

DOBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v. 36, p. 284-297, 2002.

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

DÖBEREINER, J. Influência da cana-de-açúcar na população de *Beijerinckia* no solo. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 19, p. 251-258, 1959.

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

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção e Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

ENYEDI, A. J.; YALPANI, N.; SILVERMAN, P.; RASKIN, I. Signal molecules in systemic plant resistance to pathogens and pests. **The Cell**. v. 70, p. 879 – 886, 1992.

ESPIRONELO, A.; RAIJ, A. V.; PENATTI, C. P.; CANTARELLA, H.; MORELLI, J. L.; ORLANDO FILHO, J.; LANDELL, M. G. A.; ROSSETO, R. Cana-de-açúcar. In: QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Org.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Fundação IAC, 1996. p. 237-239. (Boletim 100).

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. **Current World fertilizer trends and Outlook to 2014**. FAO, Roma, 2010, 40 p.

FARONI, C. E. **Eficiência agronômica das adubações nitrogenadas de plantio e após o primeiro corte avaliadas avaliada na primeira soca da cana-de-açúcar**. 2008, 191 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2008.

FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar**. 2 ed. Piracicaba: STAB, 2003, 240 p.

FERNANDES JÚNIOR, P. I. ROHR, T. G.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Polymers as carrier for rhizobial inoculant formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n.9, p. 1184-1190, 2009.

FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OTTO, R. Stalk yield and technological attributes of planted cane as related to nitrogen fertilization. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 5, p. 579-590, 2010.

FUENTES-RAMÍREZ, L. E.; JIMENEZ-SALGADO, T.; ABARCA-OCAMPO, I. R.; CABALERO-MELLADO, J. *Acetobacter diazotrophicus* a endolacetic producing bacterium isolated from sugar cane cultivars of Mexico. **Plant and Soil**, v. 154, p. 145-150, 1993.

GLICK, B. R.; PATTEN, C. L.; HOLGUIM, G. PENROSE, D. M. **Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria**. Imperial College Press. Canada, 1999, 267 p.

GOMES, A. A. **Distribuição de carboidratos e nitrogênio em cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) em associação com bactérias diazotróficas endofíticas**. Seropédica. 1997. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 1997.

GOMES, A. A; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D. GOI, S. R. Distribuição de nitrogênio e bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n.11, p. 1105-1113, 2005.

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

HALLMANN, J.; QUADTHALLAMNN, A.; MAHAFFEE, W. .F; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal Microbiology**, v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.

HOEFSLOOT, G. TERMORDHUIZEN, A. J. L.; WATT, D. A.; CRAMER, M. D. Biological nitrogen fixation is not a major contributor to the nitrogen demand of a commercially grown South African sugarcane cultivar. **Plant and Soil**, v. 277, n.1-2, p. 85-96, 2005.

HOFFMANN, H. P.; SANTOS, E. G. D.; BASSINELLO, A. I. V.; VIEIRA, M. ANTONIO S. **Variedades RB de cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Araras: CCA-UFSCar, 2008, 30 p.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. IPCC. **Climate Change 2007**: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva. 2007. 104 p.

INMAN-BARBER, N.G.; SMITH, D.M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, p. 185-202, 2005.

KAPULNIK, Y.; GAFNY, R.; OKON, Y. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO₃ uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. mirian) in hydroponic systems. **Canadian Journal of Botany**, v.63, p.627-631, 1983.

KORNDÖFER, G. H.; MARTINS, M. Importância da adubação na qualidade da cana-de-açúcar. **STAB. Açúcar, Álcool, e Subprodutos**, Piracicaba, v. 10, n. 3, p. 26-31, 1992.

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

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A. ; SILVA, J. E. A. R.; Greenhouse gases emissions in the production and use of ethanol from sugar cane in Brazil: the 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, p. 582 – 595, 2008.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; HARI, K.; SARAVANAN, V. S.; SA, T. Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promotion traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, p. 143 – 154, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas**. 2. Ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997, 319 p.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Fundamentos do nitrogênio e do enxofre na nutrição mineral das plantas cultivadas. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba: IPNI Brasil, 2007. Cap. 6, p. 189-249.

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

MATHESIUS, U.; CHARON, C.; ROLFE, B. G.; KONDOROSI, A.; CRESPE, M. Temporal and spatial order of events during the induction of cortical cell divisions in white clover by *Rhizobium leguminosarum* bv. Trifolli inoculation or localizes cytokine addition. **Molec. Plant Microbiology Interact.** v. 13, p. 617-628, 2000.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Boletim mensal de energia**, fevereiro de 2011, 2 p. Disponível em: http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/publicacoes/boletins_de_energia/boletins_atuais/01_-_Boletim_Mensal_de_Energia_-_Fevereiro_2011.pdf. Acesso em maio de 2011.

MORAES, V. & TAUKE-TORNISIELO, S. M. Efeito da inoculação de *Acetobacter diazotrophica* em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) variedade SP 70-1143, a partir da cultura de meristemas. In: XIX Congresso Brasileiro de microbiologia, 1997. **Anais...** Rio de Janeiro, resumo MS-26, 1997, p. 215.

MUÑOZ-ROJAS, J.; CABALLERO-MELLADO, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophica* in sugarcane and its effect on plant growth. **Microbial Ecology**, v. 46, p. 454-464, 2003.

MURASHIGE T, SKOOG, F. A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiology**, v. 15, p. 473-479, 1962.

MUTHUKUMARASAMY, R., REVATHI, G. & LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophica* and *Herbaspirillum* spp. from Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility Soils**, v. 2, p. 7-14, 2006.

NEILANDS, J. B.; LEONG, S. A. Siderophorus in relation to plant growth and disease. **Annual Reviews in Plant Physiology**, v. 37, p. 187-208, 1986.

NEJAD, P.; JOHNSON, P. A. Entophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oil seed rape and tomato. **Biological Control**. v. 18, p. 208 – 215, 2000.

NETO, P. A. S. P.; AZEVEDO, J. L.; ARAUJO, W. L. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 62-76, 2003.

NEVES, M. F.; TROBIN, V. G.; CONSOLI, M. O mapa sucroenergético do Brasil. In: SOUZA, E.L.L.; MACEDO, I. (Org.) **Etanol e bioeletricidade: a cana-de-açúcar no futuro da matriz energética**. São Paulo: LUC Projetos de Comunicação (Editora), 2010. Cap. 2, p.14 – 43, 315 p.

NOGUEIRA, E. M.; VINAGRE, F.; MASUDA, H.P.; VARGAS, C.; PADUA, V.L.M.; SILVA, F.R.; SANTOS, R.V.; BALDANI, J.I.; FERREIRA, P.C.G.; HEMERLY, A.S. Expression of sugarcane genes induced by inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophica* and *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 199-206, 2001.

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***. 1997. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 1997.

OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D., REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, p. 197-200, 1996.

OLIVARES, F. L. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. **Boletim informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, 2 p., Abril de 2009. Disponível em: <<http://sbcs.solos.ufv.br/solos/visao/index.php>> Acesso em: janeiro de 2010.

OLIVEIRA, A. L. M. **Inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em duas variedades de cana-de-açúcar sob condições de campo**. 2003. 123 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do Solo), UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2003.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DOBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N₂ –fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and soil**, v. 242, p. 205-215, 2002.

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

OLIVEIRA, A.L.M.; STOFFELSC, M.; SCHMIDC, M.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; HARTMANN, A. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p. 106 – 113, 2009.

ORLANDO-FILHO, J. , HAAG, H. P & ZAMBELLO, E. JR. **Crescimento e absorção de macronutrientes pela cana-de-açúcar, variedade CB 41-76 em função de idade em solos do Estado de São Paulo**. Bol. Técnico n^o 2, 128 p., Planalsucar , Piracicaba, SP, 1980.

ORLANDO-FILHO, J.; RODELLA, A. A.; BELTRAME, J. A.; LAVORENTI, N. A. Doses, fontes e formas de aplicação de nitrogênio em cana-de-açúcar. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 17, n. 4, p. 39-41, 1999.

PATNAIK, G. K.; KANUNGO, P. K.; MOORTHY, B. T. S.; MAHANA, P. K.; ADHYA, T. K.; RAJARAMAMOHAN RAO, V. Effect of herbicides on nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) associated with rice rhizosphere. **Chemosphere**, v. 30, p. 339-343, 1995.

PENATTI, C. P.; DONZELLI, J. L.; FORTI, J. A. Doses em cana-planta. In: Seminário de tecnologia agrônômica, 7., Piracicaba, 1997. **Anais...** Piracicaba: Centro de Tecnologia da Copersucar, 1997. p. 340-349.

PEREIRA, W.; HIPÓLITO, G. S.; SANTOS, C. L. R.; ANTÔNIO, C. S.; MOREIRA, L. L. Q.; CARNEIRO, J. B.; REIS, V. M. Acúmulo de biomassa em plantas de cana-de-açúcar variedade RB72454 inoculadas com bactérias diazotróficas. In: FERTBIO 2008; REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 2008. **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Embrapa Soja; Universidade Estadual de Londrina, 2008. CD ROM.

POLIDORO, J. C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica do nitrogênio associada à cultura da cana-de-açúcar.** 2001. 185 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Ciência do solo), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2001.

PRADO JUNIOR, J.P.Q. **Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico.** 2008. 45f. Dissertação (Agricultura Tropical e Subtropical), Instituto Agronômico, Campinas, 2008.

RAIZER, A. J.; VENCOVSKY, R.; Estabilidade fenotípica de novas variedades de cana-de-açúcar para o Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p.2241-2246, 1999.

REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, L. G.; REIS, V. M.; DOBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 985-994, 2000.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (Org.) **Nutrição mineral de plantas.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. Cap. 6, p. 153-174.

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

REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; OLIVEIRA, A. L. M. Technical approaches to inoculate micropropagated sugar cane plants with *Acetobacter diazotrophicus*. **Plant and soil**. v. 206, p. 205 – 211, 1999.

REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; DOBEREINER, J. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its habitat. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 10, p. 101 – 104, 1994.

REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; PEREIRA, W.; SILVA, M. F.; HIPOLITO, G.; OLIVEIRA, R. P.; MORAES, R. F.; LEITE, J. M.; SCHUTZ, N.; BAPTISTA, R B. **Eficiência agrônômica 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, 2009, 22 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 45).

REIS, V. M.; PEREIRA, W.; BARROS, J. C.; LEITE, J. M.; URQUIAGA, S.; HIPÓLITO, G.; FIUSA, R. Resposta de duas variedades de cana-de-açúcar à inoculação com bactérias diazotróficas. In: 9^o Congresso Nacional da STAB. **Anais...Maceió**, 2008. STAB – Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil.

RESENDE, A. S.; SANTOS, A.; XAVIER, R. P.; COELHO, C. H.; GONDIM, A.; OLIVEIRA, O. C.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA. Efeito da queima da palhada da cana-de-açúcar e de aplicações de vinhaça e adubo nitrogenado em características tecnológicas da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 937-941, 2006.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v.17, p.319-339, 1999.

ROLIM, G. S.; SENTELHAS, P. C. BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL™ para os cálculos de balanços hídricos: normal, seqüencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 6, n. 1, p. 133-137, 1998.

RUSCHEL, A P.; VICTORIA, R. L.; SALATI, E.; HENIS, Y. Nitrogen fixation in sugar cane (*Saccharum officinarum*). In: GRANHALL, V. (Ed.) Environmental role of nitrogen-fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria. **Swedish Natural Science Research Council**, p. 297-302, 1978.

ROSSIELLO, R. O. P. **Bases fisiológicas da acumulação de nitrogênio e potássio em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*, cv. NA 56-79) em resposta à adubação nitrogenada em Cambissolo**. 172 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1987.

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

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

SCHULTZ, N.; LIMA, E.; PEREIRA, M.G.; ZONTA, E. Efeito residual da adubação na cana-planta e da adubação nitrogenada e potássica na cana-soca colhidas com e sem queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 811-820, 2010.

SEVILLA, M.; KENNEDY, C. Colonization of rice and other cereals by *Acetobacter diazotrophicus*, an endophyte of sugarcane. In: LADHA, J. K. AND REDDY, P. M. (Org.) **The quest for nitrogen fixation in rice**. International Rice Research Institute, The Philippines, 2000. Cap. 10, p. 151 – 166.

SIGNOR, D. **Estoque de carbono e nitrogênio e emissões de gases de efeito estufa em áreas de cana-de-açúcar na região de Piracicaba**. 120f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

SILVA, M.F.; OLIVEIRA, P.J.; XAVIER, G.R; RUMJANEK, N.G; REIS, V.M. Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 11, p. 1437-1443, 2009.

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

STOLF, R. Metodologia de avaliação de falhas nas linhas de cana-de-açúcar. **STAB- Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 4, n. 6, p. 22-36, 1986.

SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. BODDEY, R. M. **Mitigação de gases de efeito estufa pelo uso do etanol de cana-de-açúcar produzido no Brasil**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 14 p. (Embrapa Agrobiologia. Circular técnica, 27).

STROBEL, G.; DAYSY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, p. 491-502, 2003.

SUNDARA, B.; NATARAJAN, V.; HARI, K. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. **Field Crops Research**, v. 77, p. 43 – 49, 2002.

THANGAVELU, S.; RAO, K. C. Total nitrogen content present in immature, mature and over-mature cane juice of some sugarcane genetic stocks. **Indian Sugar**, v.46, p.507-511, 1996.

TITTABUTR, P.; PAYAKAPONGA, W.; TEAUMROONGA, N.; SINGLETONB, P.; BOONKERDA, N. Growth, survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. **Science Asia**, v. 33, n.1, p. 69-77, 2007.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; EGGENBERG, P.; BIRO, B. Synergistic and antagonistic effects of Arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers on the photosynthetic activity of alfafa, probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescent transient O-J-I-P. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 169 – 182, 2000.

TRIVELIN, P.C.O.; VICTORIA, R.L.; RODRIGUES, J.C.S. Aproveitamento por soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia-15N e uréia-15N aplicado ao solo em complemento a vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n. 3, p. 1375-1385, 1995.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR (ÚNICA). Safra 2008/2009 de cana da região Centro-Sul chega perto de meio milhão de toneladas. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticias>>. Acesso em: julho de 2010.

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

VEIGA FILHO, A.A.; FRONZAGLIA, M.; TORQUATO, S.A. A necessidade de inovação tecnológica agrícola para sustentar o novo ciclo expansionista do setor sucroalcooleiro. In: DINARDO-MIRANDA, L. L; VASCONCELOS, A. C. M; LANDELL, M. G. A (Ed) **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2008. Parte 11. cap. 40. p. 885-868.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O.; GAVA, G. J. C.; PENATTI, C.; BOLOGNA, I. R.; FARONI, C. E.; FRANDO, H. C. J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 249-256, 2007.

VITTI, A.C.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P.C.O.; ROSSETO, R. Nitrogênio. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.) **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2008. Parte 5, cap. 10, p. 239-270.

YADAV, R.L.; SUMAN, A.; PRASAD, S.R.; PRAKASH, O. Effect of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Trichoderma viride* on soil health, yield and N-economy of sugarcane cultivation under subtropical climatic conditions of India. **European Journal Agronomy**, v.30, n.4, p.296-303, 2009.

7 ANEXO

Tabela 1. Acúmulo de fitomassa seca nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280 sob adubação nitrogenada e aplicação de bactérias diazotróficas na segunda soqueira.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca (Mg ha ⁻¹)			
	Colmo	Folhas secas	Ponteiro	Acúmulo total
0	22,02	4,87	2,78	29,67
50	25,48	7,96	3,74	37,18
100	25,49	8,24	3,49	37,23
150	26,99	9,10	3,63	39,72
F-doses	2,83*	2,25*	0,95 ^{ns}	6,77***
F-RL	7,10**	10,50***	2,17 ^{ns}	16,29***
F-RQ	0,61 ^{ns}	1,55 ^{ns}	1,40 ^{ns}	2,25 ^{ns}
Inoc1				
0	23,59	6,85	3,30	33,76
50	24,89	7,95	3,21	35,48
100	27,93	7,95	3,01	38,89
150	27,21	8,51	4,44	40,16
F-doses	2,58*	0,60 ^{ns}	3,40**	3,13**
F-RL	6,13**	1,54 ^{ns}	4,18**	9,12***
F-RQ	0,65 ^{ns}	0,08 ^{ns}	4,76**	0,01 ^{ns}
Inoc2				
0	20,52	7,59	3,51	31,63
50	25,33	6,81	3,41	35,55
100	26,94	7,84	3,28	38,06
150	27,38	10,15	4,07	40,79
F-doses	6,28***	2,57*	1,02 ^{ns}	5,42***
F-RL	15,7***	4,73**	1,00 ^{ns}	16,10***
F-RQ	3,02*	2,97* ^{ns}	1,68 ^{ns}	0,12 ^{ns}
CVparcela (%)	14,97	29,43	14,57	14,01
CVsubparcela (%)	11,06	25,58	22,24	10,24

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹– Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹- ^{ns} – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Tabela 2. Acúmulo de fitomassa seca nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280 sob adubação nitrogenada e aplicação de bactérias diazotróficas na segunda soqueira.

Inoculação (cel ml ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca (Mg ha ⁻¹)			
	Colmo	Folhas secas	Ponteiro	Massa total
Sem adubação				
Não inoc	22,02	4,87	2,78	29,67
Inoc1	23,59	6,85	3,30	33,76
Inoc2	20,52	7,59	3,51	31,63
F-doses	1,25ns	2,29ns	1,37ns	1,23ns
F-RL	0,59ns	4,29**	2,57ns	0,56ns
50 kg ha⁻¹ de N				
Não inoc	25,48	7,96	3,74	37,18
Inoc1	24,89	7,95	3,21	35,48
Inoc2	25,33	6,81	3,41	35,55
F-doses	0,05ns	0,51ns	0,68ns	0,76ns
F-RL	0,01ns	0,76ns	0,54ns	0,39ns
100 kg ha⁻¹ de N				
Não inoc	25,49	8,24	3,49	37,23
Inoc1	27,93	7,95	3,01	38,89
Inoc2	26,94	7,84	3,28	38,06
F-doses	0,79ns	0,05ns	0,57ns	0,82ns
F-RL	0,55ns	0,09ns	0,22ns	0,10ns
150 kg ha⁻¹ de N				
Não inoc	26,99	9,1	3,63	39,72
Inoc1	27,21	8,51	4,44	40,16
Inoc2	27,38	10,15	4,08	40,79
F-doses	0,02ns	0,79ns	1,57ns	0,92ns
F-RL	0,04ns	0,64ns	0,96ns	0,17ns
CVparcela (%)	14,97	29,43	14,57	14,01
CVsubparcela (%)	11,06	25,58	22,24	10,24

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹ – Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. CV: coeficiente de variação.

Tabela 3. Acúmulo de fitomassa seca nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280 sob adubação nitrogenada e aplicação de bactérias diazotróficas na terceira soqueira.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca (Mg ha ⁻¹)			
	Colmo	Folha seca	Ponteiro	Acúmulo total
	Sem inoculação			
0	22,96	7,09	2,99	32,70
50	29,89	9,09	3,71	42,68
100	24,25	7,66	3,04	34,95
150	26,35	7,51	2,96	36,82
F-doses	5,05***	1,47ns	1,23ns	5,67***
F-RL	0,56ns	0,03ns	0,09ns	0,33ns
F-RQ	3,22*	2,37ns	1,74ns	5,11**
Inoc1				
0	26,10	7,13	3,06	36,49
50	26,43	7,20	3,06	36,70
100	26,81	8,27	3,43	38,50
150	26,16	7,56	3,14	36,86
F-doses	0,06ns	0,39ns	0,23ns	0,26ns
F-RL	0,01ns	0,30ns	0,09ns	0,13ns
F-RQ	0,13ns	0,17ns	0,12ns	0,27ns
Inoc2				
0	25,50	6,33	2,64	34,03
50	28,64	7,32	3,13	39,10
100	26,32	6,43	2,45	35,20
150	24,00	9,31	3,34	36,65
F-doses	2,07ns	3,45**	1,75ns	1,48ns
F-RL	1,29ns	6,63**	1,49ns	0,24ns
F-RQ	4,11**	1,05ns	0,14ns	1,01ns
CVparcela (%)	15,66	19,92	17,93	12,23
CVsubparcela (%)	11,52	23,00	24,85	10,93

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹ – Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Tabela 4. Acúmulo de fitomassa seca nos diferentes compartimentos da parte aérea da variedade SP80-3280 sob adubação nitrogenada e aplicação de bactérias diazotróficas na terceira soqueira.

Inoculação (cel ml ⁻¹)	Acúmulo de fitomassa seca (Mg ha ⁻¹)			
	Colmo	Folha seca	Ponteiro	Massa total
	Sem adubação			
Não inoc	22,96	7,09	2,99	32,70
1x10 ⁸	26,10	7,13	3,06	36,49
2x10 ⁸	25,50	6,33	2,64	34,03
F-doses	1,27ns	0,71ns	0,97ns	1,08ns
F-RL	1,48ns	0,59ns	0,79ns	0,26ns
50 kg ha ⁻¹ de N				
Não inoc	29,89	9,09	3,71	42,68
1x10 ⁸	26,43	7,20	3,06	36,70
2x10 ⁸	28,64	7,32	3,13	39,10
F-doses	1,39ns	1,97ns	1,24ns	2,65*
F-RL	0,35ns	2,75ns	1,65ns	1,88ns
100 kg ha ⁻¹ de N				
Não inoc	24,25	7,66	3,04	34,95
1x10 ⁸	26,81	8,27	3,43	38,50
2x10 ⁸	26,32	6,43	2,45	35,20
F-doses	0,84ns	1,56ns	2,39ns	1,15ns
F-RL	0,97ns	1,35ns	1,72ns	0,01ns
150 kg ha ⁻¹ de N				
Não inoc	26,35	7,51	2,96	36,82
1x10 ⁸	26,16	7,56	3,14	36,86
2x10 ⁸	24,00	9,31	3,34	36,65
F-doses	0,78ns	1,87ns	0,35ns	0,00ns
F-RL	1,25ns	2,77*	0,70ns	0,00ns
CVparcela (%)	15,66	19,92	17,93	12,23
CVsubparcela (%)	11,52	23,00	24,85	10,93

Inoc1: 1,25x10⁸ cel g⁻¹ – Inoc2: 2,50x10⁸ cel g⁻¹ - ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. CV: coeficiente de variação.

Tabela 5. Atributos tecnológicos avaliados na variedade SP80-3280 em função de doses de nitrogênio e aplicação de doses do inoculante bacteriano na segunda soqueira.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Brix cana	Fibra	Pureza -----%-----	Pol cana	AR	ATR kg t ⁻¹
Não inoculado						
0	17,72	13,59	88,25	15,63	0,50	153,55
50	17,79	13,72	90,12	16,03	0,45	156,81
100	17,88	13,33	90,35	16,16	0,45	158,02
150	17,96	13,29	89,87	16,14	0,46	157,98
F-doses	0,57 ^{ns}	1,37 ^{ns}	5,05***	2,43*	4,63***	2,17 ^{ns}
F-RL	1,71 ^{ns}	2,68 ^{ns}	7,23**	5,56**	5,92**	5,16**
F-RQ	0,01 ^{ns}	0,22 ^{ns}	7,70***	1,72 ^{ns}	7,62***	1,33 ^{ns}
Inoc1						
0	17,28	13,52	90,65	15,66	0,44	153,24
50	18,11	13,48	90,03	16,30	0,46	159,46
100	17,72	13,57	90,46	16,04	0,44	156,80
150	17,84	13,09	89,24	15,92	0,48	156,06
F-doses	6,02***	1,58 ^{ns}	2,19 ^{ns}	2,83**	2,48*	3,20**
F-RL	4,30**	2,29 ^{ns}	4,04*	0,50 ^{ns}	4,54**	0,82 ^{ns}
F-RQ	6,39**	1,57 ^{ns}	0,51 ^{ns}	5,73**	0,71 ^{ns}	5,92**
Inoc2						
0	17,80	13,49	89,90	16,01	0,46	156,68
50	17,61	13,41	89,92	15,83	0,46	154,99
100	17,86	13,38	89,59	16,00	0,47	156,71
150	17,81	13,52	90,63	16,14	0,44	157,82
F-doses	0,65 ^{ns}	0,14 ^{ns}	1,07 ^{ns}	0,68 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,67 ^{ns}
F-RL	0,21 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,64 ^{ns}
F-RQ	0,30 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,46 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,56 ^{ns}	0,95 ^{ns}
CV%parcela	2,32	2,80	1,37	2,23	7,34	2,14
CV%subparcela	1,76	2,88	1,05	2,19	6,00	2,04

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹ – Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ – ^{ns} – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Tabela 6. Atributos tecnológicos avaliados na variedade SP80-3280 em função de doses de nitrogênio e aplicação de doses do inoculante bacteriano na segunda soqueira.

Inoculação	Brix cana	Fibra	Pureza	Pol cana	AR	ATR kg t ⁻¹
-----%-----						
Sem adubação						
Não inoc	17,72	13,59	88,25	15,63	0,50	153,55
Inoc1	17,28	13,52	90,65	15,66	0,44	153,24
Inoc2	17,80	13,49	89,90	16,01	0,46	156,68
F-doses	3,36**	0,08ns	7,14***	1,72ns	6,94***	1,73ns
F-RL	0,15ns	0,15ns	6,48**	2,80ns	6,22**	2,34ns
50 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,79	13,72	90,12	16,03	0,45	156,81
Inoc1	18,11	13,48	90,03	16,30	0,46	159,46
Inoc2	17,61	13,41	89,92	15,83	0,46	154,99
F-doses	2,81*	0,88ns	0,05ns	2,28ns	0,10ns	2,42*
F-RL	0,72ns	1,57ns	0,10ns	0,80ns	0,19ns	0,79ns
100 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,88	13,33	90,35	16,16	0,45	158,02
Inoc1	17,72	13,57	90,46	16,04	0,44	156,80
Inoc2	17,86	13,38	89,59	16,00	0,47	156,71
F-doses	0,31ns	0,55ns	1,06ns	0,28ns	1,12ns	0,25ns
F-RL	0,01ns	0,04ns	1,37ns	0,50ns	1,30ns	0,41ns
150 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,96	13,29	89,87	16,14	0,46	157,98
Inoc1	17,84	13,09	89,24	15,92	0,48	156,06
Inoc2	17,81	13,52	90,63	16,14	0,44	157,82
F-doses	0,26ns	1,55ns	2,32ns	0,67ns	2,72*	0,54ns
F-RL	0,45ns	0,88ns	1,37ns	0,00ns	1,61ns	0,01ns
CV%parcela	2,32	2,80	1,37	2,23	7,34	2,14
CV%subparcela	1,76	2,88	1,05	2,19	6,00	2,04

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹– Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ - ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. CV: coeficiente de variação.

Tabela 7. Atributos tecnológicos avaliados na variedade SP80-3280 em função de doses de nitrogênio e aplicação de doses do inoculante bacteriano na terceira soqueira.

Dose de N (kg ha ⁻¹)	Brix cana	Fibra	Pureza -----%-----	Pol cana	AR	ATR kg t ⁻¹
Sem inoculação						
0	17,04	13,94	89,46	15,25	0,47	149,70
50	17,62	13,69	90,30	15,91	0,45	155,59
100	17,44	13,59	89,41	15,60	0,47	152,85
150	17,47	13,76	89,72	15,68	0,46	153,54
F-doses	2,13ns	0,33ns	1,45ns	2,14ns	1,33ns	2,15ns
F-RL	2,20ns	0,32ns	0,01ns	1,36ns	0,03ns	1,57ns
F-RQ	2,60ns	0,67ns	0,62ns	2,40ns	0,35ns	2,54ns
Inoc1						
0	17,45	13,55	89,49	15,62	0,47	153,07
50	17,40	13,82	89,88	15,65	0,46	153,06
100	17,51	13,64	89,71	15,71	0,46	153,85
150	17,20	13,49	89,45	15,39	0,47	150,93
F-doses	0,69ns	0,34ns	0,34ns	0,36ns	0,48ns	0,38ns
F-RL	0,57ns	0,06ns	0,03ns	0,36ns	0,02ns	0,39ns
F-RQ	0,48ns	0,76ns	0,88ns	0,56ns	0,47ns	0,55ns
Inoc2						
0	17,69	13,47	89,69	15,77	0,47	154,44
50	17,65	13,60	89,75	15,84	0,46	155,11
100	17,81	12,89	89,70	15,98	0,47	156,48
150	17,27	13,57	89,89	15,53	0,46	152,09
F-doses	1,79ns	1,67ns	0,07ns	0,68ns	0,23ns	0,79ns
F-RL	0,84ns	0,00ns	0,13ns	0,33ns	0,04ns	0,38ns
F-RQ	2,83ns	0,72ns	0,03ns	1,32ns	0,05ns	1,50ns
CV%parcela	2,18	2,83	1,22	2,97	6,55	2,75
CV%subparcela	2,33	4,22	1,39	3,27	7,59	3,02

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹ – Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. F-RQ: teste F para a regressão quadrática. CV: coeficiente de variação.

Tabela 8. Atributos tecnológicos avaliados na cana-soca variedade SP80-3280 em função de doses de nitrogênio e aplicação de duas doses do inoculante bacteriano na terceira soqueira.

Inoculação (cel ml ⁻¹)	Brix cana	Fibra	Pureza -----%-----	Pol cana	AR	ATR kg t ⁻¹
Sem adubação						
Não inoc	17,04	13,94	89,46	15,25	0,47	149,70
Inoc1	17,45	13,47	89,49	15,62	0,47	153,07
Inoc2	17,58	13,35	89,69	15,77	0,46	154,44
F-doses	2,89*	1,61ns	0,16ns	2,24ns	0,06ns	2,47*
F-RL	5,29**	3,02*	0,27ns	4,22**	0,02ns	4,62**
50 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,62	13,69	90,30	15,91	0,45	155,59
Inoc1	17,40	13,82	89,88	15,65	0,46	153,06
Inoc2	17,65	13,60	89,75	15,84	0,46	155,11
F-doses	0,57ns	0,21ns	0,82ns	0,69ns	0,80ns	0,68ns
F-RL	0,02ns	0,07ns	1,50ns	0,04ns	1,54ns	0,03ns
100 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,44	13,59	89,41	15,60	0,47	152,85
Inoc1	17,51	13,64	89,71	15,71	0,46	153,85
Inoc2	17,81	12,89	89,70	15,98	0,47	156,48
F-doses	1,22ns	3,10*	0,30ns	0,46ns	0,25ns	0,43ns
F-RL	2,15ns	4,34**	0,44ns	1,47ns	0,01ns	1,61ns
150 kg ha⁻¹ de N						
Não inoc	17,47	13,76	89,72	15,68	0,46	153,54
Inoc1	17,20	13,49	89,45	15,39	0,47	150,93
Inoc2	17,27	13,57	89,89	15,53	0,46	152,09
F-doses	0,60ns	0,33ns	0,49ns	0,66ns	0,57ns	0,66ns
F-RL	0,62ns	0,30ns	0,15ns	0,22ns	0,02ns	0,26ns
CV%parcela	2,18	2,83	1,22	2,97	6,55	2,75
CV%subparcela	2,33	4,22	1,39	3,27	7,59	3,02

Inoc1: $1,25 \times 10^8$ cel g⁻¹ – Inoc2: $2,50 \times 10^8$ cel g⁻¹ – ns – Não significativo; ***, ** e *, significativo a 1, 5 e a 10% de probabilidade respectivamente. F-RL: teste F para a regressão linear. R²: coeficiente de regressão. CV: coeficiente de variação.