



UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

Tese

**CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM DIFERENTES GENÓTIPOS DE CAPIM-
ELEFANTE E CANA-DE-AÇÚCAR PARA PRODUÇÃO DE
BIOMASSA ENERGÉTICA**

Carolina Almada Gomes de Oliveira

2025



UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM
DIFERENTES GENÓTIPOS DE CAPIM-ELEFANTE E CANA-DE-
AÇÚCAR PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA ENERGÉTICA**

CAROLINA ALMADA GOMES DE OLIVEIRA

Sob orientação do Professor
Dr. Segundo Sacramento Urquiaga Caballero

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor(a) em Fitotecnia, no
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, Área de concentração
em Produção Vegetal.

Seropédica, RJ
Dezembro, 2025



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**



HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO Nº 1 / 2026 - DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)

Nº do Protocolo: 23083.010576/2026-55

Seropédica-RJ, 09 de março de 2026.

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

CAROLINA ALMADA GOMES DE OLIVEIRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor(a) em Fitotecnia, no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção vegetal.

APROVADA EM: 15/12/2025

Segundo Sacramento Urquiaga Caballero, Dr. (Embrapa Agrobiologia)

Erica Souto Abreu Lima, Dra. (UFRRJ)

Bruna Rafaela da Silva Menezes, Dra. (UFRRJ)

Caio de Teves Inácio, Dr. (Embrapa Agrobiologia)

David Vilas Boas de Campos, Dr. (Embrapa Solos)

(Assinado digitalmente em 09/03/2026 15:57)
BRUNA RAFAELA DA SILVA MENEZES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptG (12.28.01.00.00.00.50)
Matrícula: 2271445

(Assinado digitalmente em 10/03/2026 08:21)
ERICA SOUTO ABREU LIMA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptS (12.28.01.00.00.00.33)
Matrícula: 1412091

(Assinado digitalmente em 09/03/2026 16:37)
CAIO DE TEVES INÁCIO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 028.933.757-74

(Assinado digitalmente em 09/03/2026 18:17)
SEGUNDO SACRAMENTO URQUIAGA CABALLERO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 058.898.198-28

(Assinado digitalmente em 09/03/2026 16:43)

DAVID VILAS BOAS DE CAMPOS

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 030.175.957-06

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp>
informando seu número: **1**, ano: **2026**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE TESE DE DOUTORADO**, data
de emissão: **09/03/2026** e o código de verificação: **9cc5d5a604**

DEDICATÓRIA

À minha família, pelo amor, apoio e força que tornaram esta caminhada possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus que, em sua infinita bondade e misericórdia, me permitiu alcançar os objetivos que tracei durante a pós-graduação e a Virgem Maria pela intercessão e amor de mãe que sempre me impulsionou para seguir lutando e vencendo as batalhas de todos os dias;

Aos meus pais amados, Lucimar e Raimundo, pela dedicação, amor e cuidado;

Ao meu orientador, Drº Segundo Urquiaga, pela confiança e orientação que tanto contribuiu para meu crescimento na pesquisa;

As todos que fizeram parte da minha caminhada até aqui, em especial ao meu namorado Rian, minha irmã Maristela e minhas primas Eliane e Elisiane, à minha melhor amiga e comadre Isabella, aos amigos Yuri, Gabi, Amanda, Jade e Isabela, e a tantos outros que, mesmo não mencionados nominalmente, ocupam um espaço especial no meu coração.

Aos pesquisadores do grupo de Ciclagem de Nutrientes, aos funcionários da Embrapa Agrobiologia e ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia (PPGF);

Ao CNPq, CAPES, FAPERJ e a UFRRJ;

Ao projeto Biotecnologia vegetal para aumento sustentável da produção agrícola: obtenção de variedades vegetais otimizadas para o uso de bioinoculantes, aprovado no E-26/210.140/2023 – Programa de Apoio a Projetos Científicos e Tecnológicos em Ciências Agrárias no Estado do Rio de Janeiro - 2022 pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ);

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO GERAL

OLIVEIRA, CAG de. **Contribuição da fixação biológica de nitrogênio em diferentes genótipos de Capim-elefante e Cana-de-açúcar para produção de biomassa energética.** 70p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

O aumento da demanda por energia está diretamente relacionado ao crescimento populacional da humanidade. Os impactos ambientais decorrentes da queima de combustíveis fósseis para geração energética reforçam a necessidade de se buscar fontes renováveis e sustentáveis de energia. O capim-elefante e a cana-de-açúcar são duas gramíneas de metabolismo fotossintético C₄ que possuem características adequadas para produção de biomassa energética associada à Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) devido à alta capacidade de acumular massa seca e eficiência fotossintética. A presente tese foi estruturada em dois capítulos e a hipótese levantada no estudo foi que a FBN pode ser a principal fonte externa de nitrogênio no cultivo de dez genótipos de capim-elefante (Capítulo 1) e três variedades de cana-de-açúcar (Capítulo 2) cultivados em solo Argissolo de baixa disponibilidade de N. Os objetivos gerais do estudo foram avaliar o efeito da FBN como principal fonte externa de nitrogênio (N) proporcionando alta produtividade de massa seca e acúmulo de nitrogênio dos cultivos de capim-elefante e cana-de-açúcar. Para isso foram instalados dois experimentos diferentes na área experimental da Embrapa Agrobiologia localizada no município de Seropédica – RJ onde foram avaliadas a contribuição da FBN, na produtividade de biomassa, pelo método de abundância natural de ¹⁵N. No capítulo 1 foram avaliados dez genótipos de capim-elefante, durante três anos consecutivos, sem aplicação de fertilizante nitrogenado em um tanque de concreto com dimensões de 120m² e 0,5m de profundidade preenchido com solo enriquecido com ¹⁵N. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, onde cada genótipo correspondeu a uma parcela, totalizando quarenta parcelas no experimento. No capítulo 2 foram avaliadas três variedades comerciais de cana-de-açúcar, durante cinco anos consecutivos, sem aplicação de fertilizante nitrogenado em um tanque de concreto com características similares ao do experimento 1. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, sendo cada variedade correspondente a uma parcela, totalizando doze parcelas. As colheitas do experimento 1 ocorreu a cada seis meses de ciclo e do experimento 2 ocorreu anualmente. Durante as colheitas, todo o material da parte aérea das plantas cultivados nos tanques foi cortado, pesado em campo, amostrado e levado a estufa para secagem até estabilização da biomassa seca. Em cada experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: massa fresca total da parte aérea, massa seca total, N-total acumulado, abundância de ¹⁵N, contribuição da FBN e N derivado da FBN. No capítulo 1, observou-se que cinco genótipos de capim-elefante (P13G13, BRS Capiacu, P11G7, P21G15 e P27G19) apresentaram as melhores médias de massa seca, em torno de 30 Mg ha⁻¹ ano⁻¹, com diferença estatística entre eles durante os anos de cultivo, a contribuição média da FBN foi 35%, o que representou um acúmulo médio de 35 kg ha⁻¹ de N ano⁻¹ derivado da FBN. No capítulo 2, não também foi observado diferença estatísticas entre os tratamentos. As variedades de cana-de-açúcar RB867515, RB 92579 e SP81-3250 apresentaram altas produtividades de massa seca e acúmulo de N e contribuição média da FBN de 33%, o que representou um acúmulo médio de 30 kg ha⁻¹ de N derivado da FBN. Os resultados obtidos demonstram que, mesmo em solos de baixa fertilidade e sem adubação nitrogenada, o capim-elefante e a cana-de-açúcar apresentaram elevada produtividade de biomassa sustentada pela FBN. Conclui-se que o genótipo P13G13 e as variedades RB867515, RB92579 e SP81-3250 podem ser recomendadas para uso energético a partir da FBN. Esses resultados evidenciam o papel essencial da FBN

como importante fonte externa de N para essas culturas e reforçam sua importância estratégica na produção de biomassa energética.

Palavras-chave: bioenergia, energia renovável, ^{15}N , nitrogênio, gramíneas C_4 , sustentabilidade.

GENERAL ABSTRACT

OLIVEIRA, CAG de. **Contribution of biological nitrogen fixation in different genotypes of elephant grass and sugarcane to energy biomass production.** 70p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

The increasing demand for energy is directly related to the growth of the human population. The environmental impacts resulting from the burning of fossil fuels for energy generation reinforce the need to seek renewable and sustainable energy sources. Elephant grass and sugarcane are two C_4 photosynthetic grasses that possess characteristics suitable for energy biomass production associated with biological nitrogen fixation (BNF) due to their high capacity to accumulate dry mass and photosynthetic efficiency. This thesis was structured into two chapters, and the hypotheses raised in the study were BNF is the main external source of nitrogen in the cultivation of ten elephant grass genotypes (Chapter 1) and three sugarcane varieties (Chapter 2) cultivated in an Acrisol (WRB/FAO) or Typic Hapludult (USDA, Soil Taxonomy), soil with low N availability. The general objectives of the study were to evaluate the effect of BNF as the main external source of nitrogen (N) providing high dry mass productivity and nitrogen accumulation in elephant grass and sugarcane crops. To this end, two different experiments were installed in the experimental area of Embrapa Agrobiology located in the municipality of Seropédica – RJ, where the contribution of BNF to biomass productivity was evaluated using the natural abundance method of ^{15}N . In Chapter 1, ten elephant grass genotypes were evaluated for three consecutive years, without the application of nitrogen fertilizer, in a concrete tank with dimensions of 120m^2 and 0.5m deep filled with soil labeled with ^{15}N . The experimental design was a randomized block design with four replications, where each genotype corresponded to a plot, totaling forty plots in the experiment. In Chapter 2, three commercial varieties of sugarcane were evaluated over five consecutive years without the application of nitrogen fertilizer in a concrete tank with characteristics similar to those of experiment 1. The experimental design was a randomized block design with four replicates, with each variety corresponding to one plot, totaling twelve plots. Harvests in experiment 1 occurred every six months of the cycle, and in experiment 2, they occurred annually. During the harvests, all above-ground plant material grown in the tanks was cut, weighed in the field, sampled, and taken to a drying oven until the dry biomass stabilized. In each experiment, the following variables were evaluated: total fresh weight of the above-ground part, total dry weight, total accumulated N, ^{15}N abundance, contribution of BNF, and N derived from BNF. In Chapter 1, it was observed that five elephant grass genotypes (P13G13, BRS Capiacu, P11G7, P21G15, and P27G19) showed the best average dry matter yields, around $30\text{ Mg ha}^{-1}\text{ year}^{-1}$, with a statistical difference between them during the cultivation years. The average contribution of BNF was 35%, which represented an average accumulation of $35\text{ kg ha}^{-1}\text{ year}^{-1}$ of N derived from BNF. In Chapter 2, no statistical difference was also observed between the treatments. The sugarcane varieties RB867515, RB 92579, and SP81-3250 showed high dry matter productivity and N accumulation, and an average BNF contribution of 33%, which represented an average accumulation of 30 kg ha^{-1} of N derived from BNF. The results obtained demonstrate that, even in low-fertility soils and without nitrogen fertilization, elephant grass and sugarcane showed high biomass productivity sustained by BNF. It is concluded that the P13G13 genotype and the RB867515, RB92579, and SP81-3250 varieties can be recommended for energy use based on biological nitrogen fixation (BNF). These results highlight the essential role of BNF as an important external source of N for these crops and reinforce its strategic importance in the production of energy biomass.

Keywords: bioenergy, renewable energy, ^{15}N , nitrogen, C_4 grasses, sustainability.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dados climatológicos de Seropédica, RJ (Brasil)	15
Figura 2. Plantio de capim-elefante na área experimental.....	16
Figura 3. Esquema da área experimental do cultivo de capim-elefante	17
Figura 4. a) Demonstração do corte de capim-elefante. b) e c) Seleção, fracionamento e amostragem das plantas aleatórias na linha de plantio.	17
Figura 5. Distribuição da produtividade de massa fresca (MF), massa seca (MS), acúmulo de nitrogênio total (Nitrogênio) e N derivado da FBN (N-FBN) durante as estações chuvosa (<i>Rainy Season</i>) e seca (<i>Dry Season</i>) nos três anos avaliados.	20
Figura 6. Massa fresca (MF) de capim-elefante	21
Figura 7. Acúmulo de massa seca de capim-elefante.	22
Figura 8. Acúmulo de nitrogênio pelo capim-elefante	24
Figura 9. N total derivado do capim-elefante.	27
Figura 10. Correlograma entre as variáveis avaliadas	28
Figura 11. Etapas do plantio de cana-de-açúcar na área experimental.....	37
Figura 12. Esquema da área experimental do cultivo de cana-de-açúcar.....	37
Figura 13. a) Demonstração do corte de cana-de-açúcar. b) Seleção de plantas aleatórias nas linhas de plantio de cada parcela c) Pesagem em campo da massa fresca de cana-de-açúcar.	38
Figura 14. Massa fresca de colmos (MFC) de cana-de-açúcar.....	41
Figura 15. Massa fresca total (MF) de cana-de-açúcar	42
Figura 16. Massa seca (MS) de cana-de-açúcar	43
Figura 17. Nitrogênio total acumulado (N) de cana-de-açúcar.	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Potencial produtivo da biomassa	4
2.2. Bioenergia e o papel da biomassa vegetal como fonte renovável	4
2.3. Culturas energéticas: capim-elefante e cana-de-açúcar	6
2.4. FBN nas culturas de capim-elefante e cana-de-açúcar	7
2.5. Desafios para o aproveitamento da FBN em gramíneas.....	9
3. CAPÍTULO I: CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO PARA A PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA DO CAPIM-ELEFANTE CULTIVADO EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE PARA FINS ENERGÉTICOS.....	10
3.1 RESUMO	11
3.2 ABSTRACT	12
3.3 INTRODUÇÃO	13
3.4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.4.1. Material Vegetal, condições experimentais e histórico da área.....	15
3.4.2. Produtividade da massa fresca total e da massa seca total	17
3.4.3. Nitrogênio acumulado em plantas	18
3.4.4. Contribuição da FBN e N derivado da FBN.....	18
3.4.5. Análises Estatísticas	19
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.5.1. Produtividade da massa fresca, massa seca e N acumulado nas plantas	20
3.5.2. Contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada e N derivado da FBN.....	25
3.6 CONCLUSÕES	30
4. CAPÍTULO II: POTENCIAL PRODUTIVO E QUANTIFICAÇÃO DA FBN DE TRÊS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR CULTIVADAS EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE PARA FINS ENERGÉTICOS.....	31
4.1 RESUMO	32
4.2 ABSTRACT	33
4.3 INTRODUÇÃO	34
4.4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.4.1. Material Vegetal e Condições Experimentais	36

4.4.2 Massa fresca de colmos, massa fresca, massa seca total e N em plantas	38
4.4.3 Contribuição da FBN e N derivado da FBN.....	38
4.4.4 Análises Estatísticas	40
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.5.1 Massa fresca de colmos, massa fresca total, massa seca total e N acumulado nas plantas	41
4.5.2 Contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das culturas e nitrogênio derivado da FBN	45
4.6 CONCLUSÕES	48
5. CONCLUSÕES GERAIS	49
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1. INTRODUÇÃO GERAL

A energia é a base para o desenvolvimento da maioria das atividades do ser humano desde a antiguidade até os dias atuais e garante o bem-estar da vida em geral, ao proporcionar o funcionamento de serviços essenciais como iluminação, transporte, indústria, produção, etc. Devido ao constante aumento da população mundial, a demanda global por energia também aumenta, gerando preocupações sobre os impactos ambientais gerados a partir do uso descontrolado de fontes de energia não renováveis (de OLIVEIRA et al. 2018; BORDONAL et al., 2018; RIBEIRO et al., 2023).

Ao considerar o aumento da demanda energética como uma questão impactante no meio ambiente, torna-se necessário buscar e incentivar o uso de fontes de energias renováveis que permitam manter um equilíbrio no ambiente e na vida do ser humano. Atualmente o Brasil possui uma matriz energética composta por aproximadamente 50% de fontes não renováveis de energia, derivado principalmente do petróleo e 50% de fontes de energias renováveis (BEN, 2025). Dentre essas fontes de energia renováveis observa-se em destaque as fontes provenientes da biomassa da cana-de-açúcar, lenha e carvão e fonte hidráulica (BEN, 2025). No último Balanço energético nacional divulgado pela Empresa de Pesquisa Energética (EPE) observou-se que a biomassa da cana-de-açúcar representa 16,7% da matriz energética nacional (BEN, 2025).

O uso de biomassa vegetal como fonte de energia representa uma alternativa sustentável e eficiente para o meio ambiente, já que a queima da biomassa recicla o CO₂ atmosférico fixado pela fotossíntese e dessa maneira o processo de aquecimento global não é intensificado (URQUIAGA et al., 2006; 2012). A espécie vegetal escolhida deve apresentar características importantes, como alta produtividade, baixa dependência de insumos externos, potencial para uso como biocombustível e boa adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (POHIT et al., 2009; URQUIAGA et al., 2012). Além disso, um ponto importante a se destacar é a possibilidade da espécie vegetal se associar a microrganismos fixadores de nitrogênio podendo ampliar ainda mais a eficiência dessas culturas para fins energéticos.

A escolha de uma biomassa vegetal ideal para uso como fonte de energia também passa pelo ponto em que a energia produzida pela queima da biomassa deverá ser maior que a energia não renovável utilizada para produzi-la, ou seja, é importante que o aumento da produtividade não resulte em maiores gastos com insumos e operações agrícolas, garantindo um balanço energético positivo da cultura. No que se refere a balanço energético positivo, a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) são duas

espécies vegetais importantes devido à capacidade de fixar nitrogênio biologicamente (BALDANI et al., 2009; MORAIS et al., 2009). Ambas possuem metabolismo fotossintético C4, apresentando alta eficiência fotossintética e grande capacidade de acumular matéria seca.

O capim-elefante e a cana-de-açúcar possuem grande exigência nutricional para completar seu ciclo de produção, principalmente em relação ao nitrogênio (N). Tradicionalmente, essa demanda nutricional é suprida por meio de adubação sintética nitrogenada e, nesse caso, a adubação nitrogenada gera maiores custos de produção e impactos ambientais. Estudos comprovam um aumento da produtividade do capim-elefante a partir de doses crescentes de N (MISTURA et al. 2006), porém as boas respostas da cultura em produções favorecidas pela FBN despertam interesse na pesquisa. O processo da FBN é uma maneira de suprir a demanda de N sem custos adicionais ou impactos ambientais gerados a partir do uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Assim, ambas as espécies se destacam não apenas pelo potencial energético, mas também pela relevância em sistemas agrícolas mais sustentáveis.

É importante ressaltar que em sistemas agrícolas sustentáveis, a busca por genótipos ou variedades capazes de manter elevada produção de biomassa em ambientes de baixa fertilidade, sem o uso intensivo de fertilizantes sintéticos, é um dos principais desafios. Nesse contexto, a contribuição da FBN e a eficiência no uso de nutrientes ganham destaque como estratégias complementares ao melhoramento genético e ao manejo do solo.

A hipótese levantada nesta tese foi que nas culturas de capim-elefante e cana-de-açúcar existem genótipos onde a FBN é a principal fonte externa de nitrogênio para seu crescimento, sendo dez genótipos do capim-elefante em estudo (**BRS CAPIAÇU; P3G1; P5G3; P6G4; P11G7; P14G10; P13G13; P21G15; P26G18 e P27G19**) e três variedades comerciais de cana-de-açúcar (**RB867515, RB92579 e SP81-3250**), cultivados em solos de baixa fertilidade sem uso de adubação nitrogenada. A tese foi dividida nos seguintes capítulos: **I-** Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade do capim-elefante cultivado em solo de baixa fertilidade, para fins energéticos; **II-** Potencial produtivo e contribuição da fixação biológica de nitrogênio no cultivo de cana-de-açúcar, para fins energéticos.

O objetivo geral do estudo foi avaliar a contribuição da FBN, como principal fonte externa de nitrogênio (N), para a produtividade de biomassa seca de genótipos de capim-elefante e variedades de cana-de-açúcar, cultivados em solo de baixa fertilidade, sem aplicação de fertilizante nitrogenado. Já os objetivos específicos foram:

- 1) Avaliar a produtividade de biomassa seca dos dez genótipos de capim-elefante e das três variedades de cana-de-açúcar crescidos em tanque de concreto preenchido com solo Argissolo Vermelho distrófico típico enriquecido com ^{15}N e sem aplicação de fertilizante nitrogenado;
- 2) Quantificar o teor e acúmulo de nitrogênio presentes na biomassa das duas culturas em estudo;
- 3) Quantificar a eficiência da FBN em relação ao acúmulo total de N nas plantas em solos de baixa fertilidade pelo método de abundância natural de ^{15}N ;
- 4) Ajustar a metodologia de abundância natural de ^{15}N do N disponível do solo, com estudo adicional de plantas referência crescendo no mesmo solo: Painço (*Panicum miliaceum*), Milheto (*Pennisetum glaucum*) e Sorgo (*Sorghum bicolor*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Potencial produtivo da biomassa

Gramíneas perenes, como o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), destacam-se entre as principais fontes de biomassa vegetal devido à elevada capacidade fotossintética, ao vigor vegetativo e à eficiência de acumular energia solar em biomassa seca (BALDANI et al., 2009; MORAIS et al., 2009).

Essas espécies apresentam características morfofisiológicas que favorecem a produção de material vegetal em áreas tropicais, como o crescimento contínuo, a elevada razão colmo/folha e o sistema radicular profundo e bem desenvolvido. Além disso, no caso do capim-elefante, o ciclo perene permite múltiplas colheitas por ano (em cortes sucessivos), favorecendo o acúmulo de biomassa ao longo do tempo e reduzindo os custos de implantação por hectare (MARAFON et al., 2014; MARAFON et al., 2016).

A produtividade de biomassa está diretamente relacionada a fatores genéticos, edafoclimáticos e de manejo. Genótipos melhorados de capim-elefante e variedades comerciais de cana-de-açúcar podem expressar produções superiores a 40 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca em condições tropicais favoráveis, sendo considerados altamente eficientes em termos de rendimento por área (MORAIS et al., 2012).

A biomassa vegetal é considerada uma alternativa de fonte de energia sustentável e eficiente pois a sua queima recicla o CO₂ atmosférico fixado pela fotossíntese e dessa maneira o processo de aquecimento global não é intensificado (URQUIAGA et al., 2006; 2012). Entre as culturas energéticas utilizadas, destaca-se a cana-de-açúcar devido a sua utilização consolidada na produção de bioeletricidade, etanol e biogás (SCUDELETTI et al., 2023).

2.2. Bioenergia e o papel da biomassa vegetal como fonte renovável

Como mencionado anteriormente, a crescente demanda por fontes alternativas de energia impulsiona a pesquisa e o desenvolvimento de sistemas agrícolas voltados à produção de biomassa vegetal para fins energéticos. Nesse contexto, a bioenergia torna-se uma alternativa estratégica para a substituição parcial de combustíveis fósseis, contribuindo para a redução das emissões de gases de efeito estufa e para o fortalecimento de economias sustentáveis, especialmente em países tropicais com alta disponibilidade de recursos naturais.

No Brasil, a bioenergia ocupa papel relevante dentro da matriz energética. Estima-se que 9,5% da oferta total de energia primária do país e cerca de 70% de toda a energia renovável

consumida sejam provenientes dessa fonte (IEA, 2019). Apesar disso, grande parte da bioenergia ainda se resume ao uso tradicional de biomassa, como é o caso das residências e pequenas indústrias, como as carvoarias (REID et al., 2020). A tendência observada nesse cenário é de integração entre produção agrícola e cogeração de energia.

A geração de energia elétrica a partir da biomassa se dá por meio da energia térmica, proveniente da combustão da biomassa que é convertida em energia mecânica, e depois, em energia elétrica. As tecnologias que transformam biomassa em energia elétrica fazem a conversão utilizando uma máquina motriz que produzi energia mecânica para acionar o gerador de energia elétrica (MARAFON et al., 2014; MARAFON et al., 2016; MARAFON, 2022).

As duas principais tecnologias da produção de energia a partir de biomassa são combustão e gaseificação. Na combustão, ocorre queima da biomassa em caldeiras na presença de oxigênio a altas temperaturas, produzindo vapor que é usado para mover turbinas de geradores elétricos. Já na gaseificação, a biomassa é aquecida na ausência do oxigênio, o que vai gerar um gás inflamável. Não há exigência de altas temperaturas, resultando apenas em biogás. A tecnologia da gaseificação é incipiente no Brasil devido à dificuldade em produzir gás de qualidade e segurança (CBIE, 2019).

A matriz elétrica brasileira se destaca por ser uma das mais limpas do mundo e por ser quase 50% renovável. A longo prazo, a biomassa tem contribuído ainda mais para essa característica. No Brasil, a cana-de-açúcar já desempenha papel central na matriz energética, sendo responsável por mais da metade da produção nacional de etanol (EPE, 2025; CONAB, 2023) Além disso, resíduos do processamento industrial, como o bagaço e a palha, são utilizados para cogeração de energia elétrica. O capim-elefante, por sua vez, tem sido amplamente estudado como cultura energética complementar ou alternativa, especialmente por sua elevada produção de colmos lignocelulósicos e sua versatilidade para uso direto na queima ou para produção de biogás (MARAFON, 2022).

Diante disso, torna-se evidente que a biomassa vegetal tem papel importante na transição energética brasileira, seja pela redução de poluentes associados ao uso de combustíveis fósseis, seja pela diversificação e segurança da matriz energética. A escolha de culturas altamente produtivas e sustentáveis, como a cana-de-açúcar e o capim-elefante, representa um dos pilares para a expansão da bioenergia em direção a sistemas produtivos eficientes e sustentáveis.

2.3. Culturas energéticas: capim-elefante e cana-de-açúcar

O capim-elefante e a cana-de-açúcar são duas gramíneas de metabolismo fotossintético C₄ que se destacam pela elevada capacidade de acumular massa seca, pelo teor de fibras, produtividade e potencial para biocombustível. Além disso, são amplamente cultivadas no Brasil e destacam-se tanto para a produção de forragem quanto para a geração de bioenergia. (URQUIAGA et al., 2012; MARAFON et al., 2016; SCUDELLETTI et al., 2023)

O capim-elefante, originário do continente africano, é uma planta de crescimento cespitoso, porte ereto e que pode atingir mais de 3 m de altura. A espécie apresentou fácil adaptação no Brasil, devido às características edafoclimáticas favoráveis encontradas aqui, e pode ser cultivado em quase todo território brasileiro, obtendo altos índices finais de produtividade por ciclo, a depender da cultivar escolhida, da região de produção e do manejo empregado pelos produtores. Desenvolve-se em altitudes de até 2000 m, temperaturas entre 18 a 30 °C e precipitação entre 800 a 4000 mm por ano. É pouco tolerante a alagamentos e tem baixa eficiência no controle de erosão, caracteriza-se por ser exigente em fertilidade e o seu desenvolvimento em condições de baixo pH e elevado alumínio no solo pode ser prejudicado (RODRIGUES et al., 1975, ZANETTI, 2010)

Já a cana-de-açúcar é uma gramínea originária do Sudeste Asiático, cultivada em praticamente todas as regiões agrícolas do Brasil. Seu desenvolvimento ideal ocorre em temperaturas médias entre 20 e 32 °C, condições que favorecem o crescimento vigoroso e elevada produção de biomassa. A cultura responde melhor em ambientes com precipitação anual superior a 1.000 mm e em regiões com duas estações bem definidas (uma estação quente e seca e outra quente e úmida). Em condições climáticas distintas das ideais, práticas de manejo adequadas e o uso de variedades adaptadas são fundamentais para garantir o bom desenvolvimento e a produtividade da cultura (RODRIGUES et al., 1995).

As duas culturas possuem características desejáveis para uso como fonte alternativa de energia no cenário energético nacional e mundial. A cana-de-açúcar, além de ser base da produção de etanol e bioeletricidade, contribui para complementar a geração de energia hidrelétrica, uma vez que sua produção ocorre justamente no período da estação seca, quando os reservatórios de água se encontram em níveis baixos (RAMOS e NACHILUK, 2017). Além disso, segundo Baldani et al. (2009) a contribuição da FBN é muito eficiente na produção de cana-de-açúcar e Urquiaga et al. (2006) observou que o conteúdo de N proveniente da FBN permite que a cultura da cana seja cultivada com baixa aplicação ou até mesmo sem aplicação de N-fertilizante, demonstrando a alta capacidade de converter o N acumulado em biomassa

vegetal energética. No caso do capim-elefante, o desafio está ligado à seleção e melhoramento de genótipos com maior teor de fibras e lignina, alta relação C/N e alta produção de biomassa associada à FBN, visando um produto de alta qualidade e com mínimo consumo de energia fóssil através de fertilizantes (MORAIS et al., 2012).

2.4. FBN nas culturas de capim-elefante e cana-de-açúcar

A FBN é um processo no qual microrganismos diazotróficos convertem o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), forma assimilável pelas plantas. Essa interação entre plantas e microrganismos fixadores de N_2 do ar, depende de fatores como o genótipo da planta, que fornece abrigo, proporcionando ambiente favorável e energia, enquanto a bactéria fornece o nitrogênio (REIS et al., 2009; LINO, 2018). Dentre os benefícios da FBN, destaca-se a diminuição do uso de adubos nitrogenados sintéticos e aumento da produtividade, reduzindo os impactos gerados pelo uso de fertilizantes (OLIVEIRA et al., 2023).

Historicamente, o foco das pesquisas de FBN se manteve nas interações simbióticas entre bactérias diazotróficas e plantas leguminosas, formadoras de nódulos. Ao longo do tempo, evidências significativas de que esse processo também beneficiava gramíneas de importância econômica, como cana-de-açúcar, arroz, milho e sorgo, ampliaram as pesquisas sobre o tema na época (BALDANI, 2005). Diferente das leguminosas, as gramíneas não desenvolvem estruturas especializadas, e a eficiência da FBN depende de fatores como a densidade e atividade das populações microbianas, as condições do solo e o genótipo da planta. Diversas bactérias associativas e endofíticas têm sido isoladas de capim-elefante e cana-de-açúcar, incluindo espécies dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Gluconacetobacter*. Esses microrganismos não apenas fixam nitrogênio, mas também podem promover o crescimento vegetal por meio da produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos (REIS et al., 2009; VIDEIRA et al., 2012; BALDANI et al., 2014; LADHA et al., 2022; THIENGO et al., 2025).

A avaliação da FBN em variedades comerciais de cana-de-açúcar, em solos com baixos teores de N disponível, sem fertilização nitrogenada e empregando milho, painço e sorgo como plantas referências, demonstrou que a contribuição da FBN oscilou entre 24 a 43% (MONTEIRO et al., 2021). No caso do capim-elefante, Oliveira et al. (2025) encontraram uma taxa de 35% de contribuição da FBN no cultivo de diferentes genótipos. Outros estudos, com uso de isótopos estáveis, demonstraram que a FBN pode suprir até 50% da demanda total de

nitrogênio em genótipos altamente responsivos cultivados em solos de baixa fertilidade e sem adubação nitrogenada (BODDEY et al., 2001; URQUIAGA et al., 2012).

A quantificação da contribuição da FBN em sistemas agrícolas é um desafio, especialmente em gramíneas, como o capim-elefante e a cana-de-açúcar, onde a simbiose ocorre de forma associativa e não de forma simbiótica com nódulos visíveis. Nesse contexto, o uso de isótopos estáveis, particularmente o ^{15}N , é uma das metodologias mais precisas e confiáveis para estimar a FBN (de CARVALHO et al., 2017). A comparação da relação isotópica $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ entre o solo e os tecidos das plantas, conforme descrito por Unkovich et al. (2008), permite evidenciar a contribuição da FBN para o suprimento de nitrogênio na cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 2012). A técnica baseia-se na redução da concentração de ^{15}N nos tecidos vegetais, pois o nitrogênio fixado da atmosfera possui abundância natural de ^{15}N (0,3663% de átomos), enquanto o nitrogênio do solo geralmente apresenta valores mais elevados (LINO et al., 2018). Assim, plantas capazes de suprir grande parte de sua demanda de nitrogênio pela FBN tendem a apresentar valores de ^{15}N próximos de zero. Já as espécies que não fixam nitrogênio ou apresentam baixa eficiência nesse processo exibem valores de ^{15}N similares aos do solo, indicando que este é sua principal fonte de N (URQUIAGA et al., 2012; MONTEIRO et al., 2021).

A escolha da planta não fixadora de referência é um fator crítico para a precisão e confiabilidade dos resultados, exigindo que ela tenha características de crescimento e exploração do solo semelhantes à planta em estudo, mas sem capacidade de FBN (BODDEY et al., 2001). Além disso, fatores como variações no tipo de solo, disponibilidade de nutrientes, condições climáticas e presença de microrganismos também pode interferir diretamente nas taxas de FBN (SCHULTZ et al., 2016).

Dessa forma, evidencia-se que a contribuição da FBN em gramíneas não é uma característica inerente da espécie, mas resulta da interação entre o genótipo, as condições ambientais e a atividade das comunidades microbianas associadas. O uso de isótopos estáveis tem permitido quantificar com precisão essa contribuição e apesar de suas limitações, a metodologia baseada em ^{15}N promove importantes avanços na compreensão da FBN em gramíneas tropicais, contribuindo para a seleção de genótipos mais eficientes, para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis e para a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados.

2.5. Desafios para o aproveitamento da FBN em gramíneas

Como mencionado anteriormente, a capacidade de diferentes genótipos de gramíneas tropicais, como o capim-elefante e a cana-de-açúcar, se beneficiarem da FBN varia em função de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais. Essas diferenças genéticas determinam a eficiência na associação com microrganismos e com a tolerância ao estresse causado pela limitação de nitrogênio no solo (SCHULTZ et al., 2018, CAMELO et al., 2021). Existem evidências de que algumas dessas plantas apresentam mecanismos de adaptação fisiológica, como aumento na eficiência de uso do nitrogênio, maior atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio e alterações na morfologia radicular, favorecendo a absorção de nutrientes (de ALCANTARA et al., 2009).

A seleção de genótipos mais responsivos à FBN representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentáveis, especialmente em áreas de baixa fertilidade natural ou em cultivos com uso restrito de fertilizantes nitrogenados. Estudos integrando genética, fisiologia e microbiologia são essenciais para compreender a variabilidade entre genótipos, permitindo o melhor aproveitamento da FBN como ferramenta para o aumento da produtividade com menor impacto ambiental.

Apesar dos desafios, a FBN tem sido reconhecida como um componente essencial em programas de melhoramento genético e em sistemas de manejo integrado, podendo contribuir de forma significativa para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável.

3. CAPÍTULO I: CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO PARA A PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA DO CAPIM-ELEFANTE CULTIVADO EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE PARA FINS ENERGÉTICOS

3.1 RESUMO

O capim-elefante possui alto potencial de produção de biomassa e pode se beneficiar da fixação biológica de nitrogênio (FBN) como sua principal fonte externa de nitrogênio. Este estudo avaliou o efeito da FBN na produtividade de biomassa e no acúmulo total de nitrogênio nos seguintes genótipos de capim-elefante: BRS CAPIAÇU; P3G1; P5G3; P6G4; P11G7; P14G10; P13G13; P21G15; P26G18 e P27G19. O experimento foi conduzido em um tanque de concreto de 120 m² preenchido com solo enriquecido com ¹⁵N para estimar a contribuição da FBN. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições, e a avaliação foi ao longo de três anos de cultivo, com cortes semestrais. Foram avaliadas a produtividade de massa fresca e seca da parte aérea, o acúmulo de nitrogênio (N) e a contribuição da FBN pela técnica da abundância natural de ¹⁵N. A média anual da FBN foi de 38%. Houve diferença estatística entre os tratamentos, com o genótipo P13G13 apresentando produtividade de massa fresca e seca 50% superior ao P6G4. A média anual de massa fresca e matéria seca nos genótipos foi de aproximadamente 70 e 30 Mg ha⁻¹, respectivamente e o N total e N derivado da FBN foi de 100 e 35 kg ha⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos pelo genótipo P13G13 permitem recomendar seu uso para a produção de biomassa visando à bioenergia.

Palavras-chave: Matéria seca; abundância natural de ¹⁵N; fertilidade do solo; plantas energéticas; genótipo.

3.2 ABSTRACT

Elephant grass has high biomass production potential and can benefit from biological nitrogen fixation (BNF) as its main external nitrogen source. This study evaluated the effect of BNF on biomass productivity and total nitrogen accumulation in different elephant grass genotypes: BRS CAPIAÇU; P3G1; P5G3; P6G4; P11G7; P14G10; P13G13; P21G15; P26G18 and P27G19. This experiment was conducted in a 120 m² concrete tank filled with soil labeled with ¹⁵N to estimate the contribution of BNF. The experimental design was randomized blocks with four replications, and the evaluation was over three years of cultivation, with semiannual cuts. The productivity of fresh and dry mass of the shoot, Nitrogen (N) accumulation, and the contribution of BNF by the ¹⁵N natural abundance technique were evaluated. The annual average of BNF was 38%. There was a statistical difference between the treatments, with the genotype P13G13 presenting fresh and dry mass productivity 50% higher than P6G4. The annual average of fresh mass, dry matter, total N, and N derived from BNF in the genotypes was approximately 70 Mg ha⁻¹, 30 Mg ha⁻¹, 100 kg ha⁻¹ and 35 kg ha⁻¹, respectively. The results obtained by the P13G13 genotype allow us to recommend its use for biomass production aimed at bioenergy.

Keywords: Dry matter; ¹⁵N natural abundance; soil fertility; energy plants; genotype

3.3 INTRODUÇÃO

O capim-elefante é uma cultura eficiente na fixação de CO₂ atmosférico durante o processo de fotossíntese, demonstrando potencial e qualidade para ser utilizada como fonte alternativa de energia, uma vez que a queima de sua biomassa não contribui para o aquecimento global (URQUIAGA et al., 2006; 2012). O alto potencial produtivo da cultura é complementado pela possibilidade de se realizar mais de um corte ao longo do ano e por ser uma cultura de propagação vegetativa. Podendo ser utilizada na produção de energia alternativa e aplicações energéticas como combustão direta, gaseificação, produção de carvão vegetal e hidrólise de bagaço (MARAFON et al., 2014; MARAFON et al., 2016; MARAFON, 2022).

Trata-se de uma cultura perene pertencente à família Poaceae e originária do continente africano, que apresentou boa adaptação no Brasil devido às características edafoclimáticas presentes no país, sendo cultivado em praticamente em todo o território brasileiro, apresentando boas taxas de produtividade de biomassa por ano (MARAFON et al., 2019; MARAFON, 2022). O sucesso produtivo, no entanto, é altamente influenciado pela escolha da cultivar, pelas características da região de produção e pelo manejo adotado pelos produtores (da SILVA et al., 2010).

O bagaço do capim-elefante é semelhante ao bagaço da cana-de-açúcar, sendo constituído por aproximadamente 65% de fibra e 35% de material não fibroso. A produção anual de biomassa do capim-elefante pode chegar a 50 Mg ha⁻¹, desde que sejam utilizados genótipos eficientes e que as condições edafoclimáticas da região, bem como o manejo da cultura, sejam favoráveis (FLORES et al., 2012). A seleção de uma espécie vegetal ideal como fonte de bioenergia considera dois critérios: alta capacidade de acumulação de biomassa e bom desenvolvimento da cultura em ambientes com deficiência de nitrogênio ou sem necessidade de alta fertilização nitrogenada, pois o uso de fertilizante nitrogenado aumenta os custos de produção e oferece riscos ambientais quando aplicado em condições inadequadas (URQUIAGA et al.; 2006; 2012; MORAIS et al., 2009).

O reconhecimento do capim-elefante como fonte alternativa de energia teve início a partir de estudos sobre a FBN associada ao desenvolvimento de culturas em solos de baixa fertilidade. Trata-se de uma questão importante tanto para a economia quanto para a preservação ambiental, visto que as fontes de energia fóssil são finitas e contribuem para a poluição ambiental, impulsionando o aumento do efeito estufa (ZANETTI et al., 2010). A avaliação de novos genótipos de capim-elefante para fins energéticos permite selecionar

aqueles com características de alta produtividade aliadas a baixos custos de produção promovendo uma renovação na matriz energética nacional e/ou mundial permitindo avanços positivos na preservação ambiental.

Diante disso, a hipótese levantada neste estudo é que o processo de FBN é a principal fonte externa de nitrogênio no cultivo de diferentes genótipos de capim-elefante, permitindo altas taxas de produtividade sem o uso de fertilização nitrogenada. Para isso, os objetivos foram avaliar a produtividade de massa fresca e massa seca do capim-elefante; quantificar o acúmulo total de N das plantas e quantificar a contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada do capim-elefante pelo método da Abundância Natural de ^{15}N .

3.4. MATERIAIS E MÉTODOS

3.4.1. Material Vegetal, condições experimentais e histórico da área

O estudo foi realizado na área experimental da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica-RJ, Brasil (22°44'38" S, 43°42'28" W e 26 m acima do nível do mar). A região é caracterizada pelo clima Aw, segundo a classificação de Köppen, com invernos secos e verões quentes e chuvosos, com temperaturas que podem variar entre 16 e 34 °C e precipitação média anual de 1224 mm (Figura 1).

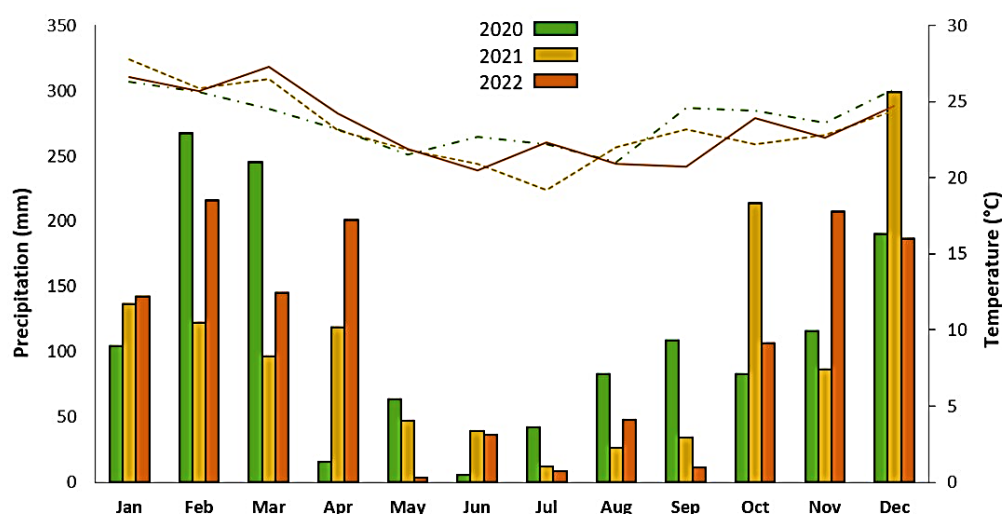


Figura 1. Dados climatológicos de Seropédica, RJ (Brasil), no período de 2020 a 2023. As cores das colunas e das linhas representam os diferentes anos avaliados, conforme indicado na legenda.

Os genótipos de capim-elefante avaliados neste estudo são provenientes do programa de melhoramento de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais (**P3G1, P5G3, P6G4, P11G7, P14G10, P13G13, P21G15, P26G18, P27G19 e a cultivar BRS Capiacu**). O genótipo P3G1 (T_{44.13}), de ciclo médio, é oriundo do cruzamento CNPGL 91-6-3 x CNPGL 96-27-3. Os genótipos P5G3 (T_{12.9}), de ciclo tardio, e P6G4 (T_{12.12}), de ciclo intermediário (T/M), são provenientes do cruzamento BAGCE 30 x BAGCE 38. O genótipo P11G7 (T_{33.2}), de ciclo P/M, é oriundo do cruzamento BAGCE 38 x CNPGL 96-27-3. O genótipo P14G10 (T_{51.3}), de ciclo médio, é proveniente do cruzamento BRS Canará x CNPGL 96-27-3. Os genótipos P19G13 (THE₁) e P21G15 (T_{HE3}), ambos de ciclo tardio, são oriundos dos cruzamentos BRS Capiacu x BAGCE 6 e BRS Capiacu x BAGCE 91, respectivamente. O genótipo P26G18 (THE₇), de ciclo médio, é proveniente do cruzamento CNPGL 91-6-3 x BAGCE 91, enquanto P27G19 (T_{HE10}), de ciclo P/M, é oriundo do cruzamento BRS Canará x BAGCE 64.

O experimento foi conduzido em tanque fechado de concreto com área de 120 m² e 40 cm de profundidade, localizado em campo, preenchido com solo classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico, enriquecido com ¹⁵N (URQUIAGA et al., 1992), com as seguintes propriedades: MO (matéria orgânica), 21 g kg⁻¹; pH (H₂O), 5,7; N total, 1,1 g kg⁻¹; relação C:N, 11,1; P disponível (Mehlich I), 11 mg L⁻¹; e cátions trocáveis (cmol dm³): Ca²⁺, 3,3; Mg²⁺, 0,6; K⁺ 0,082 e Al³⁺, 0,0. Areia, 800 g kg⁻¹; silte, 36 g kg⁻¹; e argila, 164 g kg⁻¹.

A área experimental foi fertilizada com 150 kg ha⁻¹ de K₂O antes do plantio e 100 kg ha⁻¹ de K₂O, 200 kg ha⁻¹ de P₂O₅, 200 kg ha⁻¹ de micronutrientes (FTE BR12) com uma composição de 18 B, 8 Cu, 30 Fe, 20 Mn, 1 Mo e 90 Zn (g kg⁻¹ FTE) no plantio. A fertilização de cobertura foi realizada 77 dias após o plantio, aplicando-se 100 kg ha⁻¹ de K₂O, 15 kg ha⁻¹ de CuSO₄ e 50 kg ha⁻¹ de FTE BR12. Após cada corte de capim-elefante, foram aplicados 1 Mg ha⁻¹ de calcário, 200 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 180 kg ha⁻¹ de K₂O. Não foi utilizado fertilizante sintético de nitrogênio para estimular a atividade da FBN na cultura.

O plantio foi realizado utilizando colmos sementes, cada um contendo pelo menos três gemas viáveis e no momento do plantio, os colmos foram dispostos em duas fileiras dentro do sulco para garantir uma população de plantas uniforme (Figura 2). O plantio foi realizado em fevereiro de 2020. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e as parcelas foram constituídas por uma linha de plantio de 3 m com espaçamento de 1 m entre fileiras (Figura 3). O fornecimento de água no experimento foi efetuado por meio de chuvas naturais, complementadas por irrigação suplementar via gotejamento. O manejo de irrigação foi conduzido de modo a manter o solo próximo à capacidade de campo, atendendo às exigências da cultura.



Figura 2. Plantio de capim-elefante na área experimental da Embrapa Agrobiologia (Foto: Carolina Almada)

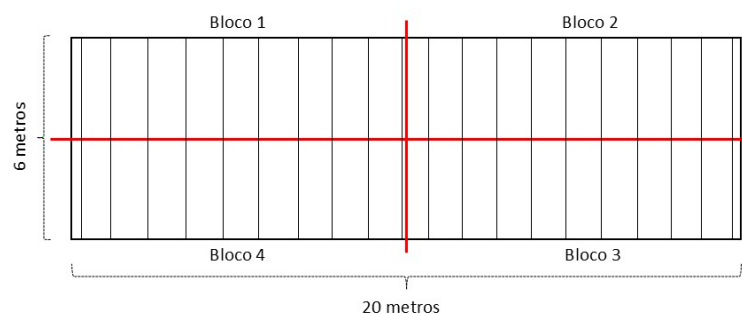


Figura 3. Esquema da área experimental (20×6m), subdividida em quatro blocos. As linhas vermelhas representam os limites dos blocos e as linhas pretas representam as linhas de plantio de cada genótipo.

O presente estudo integra um experimento de longo prazo iniciado em 2020, conduzido ao longo de três anos, com colheitas realizadas semestralmente nos seguintes períodos: setembro/2020 (1^a), março/2021 (2^a), setembro/2021 (3^a), março/2022 (4^a), setembro/2022 (5^a) e março/2023 (6^a). As variáveis avaliadas foram produtividade de massa fresca (MF); produtividade de matéria seca (MS), em $\text{Mg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, de toda a planta; teor de N acumulado na matéria seca, em $\text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, contribuição da FBN (%) e N derivado da FBN.

3.4.2. Produtividade da massa fresca total e da massa seca total

As avaliações da produtividade de massa fresca total (MF) da parte aérea do capim-elefante foram realizadas semestralmente. No momento da colheita, a parte aérea das plantas de cada linha de plantio foram cortadas e pesadas em campo para obtenção do peso total de cada parcela. Quatro plantas de cada linha de plantio foram selecionadas aleatoriamente e fracionadas em palha, colmo e folha verde e devidamente pesadas. Em seguida, foram selecionadas subamostras das frações dessas quatro plantas, e essas subamostras foram pesadas e posteriormente secas em estufa de circulação forçada à 65°C por 72h ou até a estabilização da biomassa. Após o processo de secagem, as subamostras foram pesadas novamente para obtenção da massa seca da subamostra. A partir dos valores de massa fresca e massa seca das subamostras, foi possível calcular a massa seca (MS) total do capim-elefante.



Figura 4. a) Demonstração do corte de capim-elefante. b) e c) Seleção, fracionamento e amostragem das plantas aleatórias na linha de plantio (Foto: Carolina Almada).

3.4.3. Nitrogênio acumulado em plantas

As subamostras secas em estufa foram pré-moídas em moinho Wiley (2 mm) para determinar o teor total de N do tecido vegetal utilizando a técnica de análise elementar CHNSO. O acúmulo de nitrogênio foi quantificado nas diferentes frações das plantas de capim-elefante. O acúmulo de N foi calculado a partir do produto da massa seca pela concentração de N de cada fração e o N total acumulado foi representado pela soma das três frações distintas de cada planta (palha, folha verde e caule).

3.4.4. Contribuição da FBN e N derivado da FBN

A quantificação da FBN foi realizada utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N (SHEARER e KOHL, 1986). Neste caso, é necessário conhecer o valor de abundância natural de ^{15}N do N disponível no solo e o valor de abundância natural de ^{15}N da planta teste fixadora (capim-elefante). O valor referente ao ^{15}N do N disponível no solo foi obtido por meio de um teste com plantas referência (não fixadoras de nitrogênio), enquanto o valor referente ao capim-elefante foi obtido a partir de subamostras de capim-elefante, previamente moídas em moinho de facas Wiley (2 mm) e submetidas a uma segunda moagem em moinho de rolos até atingirem o tamanho com granulometria adequada (aspecto de talco) para análises isotópicas.

A partir da análise do teor de N, calculou-se a massa de cada amostra que foi pesada em balança científica com leitura de 0,01 mg (Mettler Toledo AG245, Greifensee, Switzerland) em cápsulas de estanho (5 × 9 mm, D1008, Elemental Microanalysis Ltd, Devon, UK) e posteriormente analisadas em um espectrômetro de massas de razão isotópica Delta V Advantage acoplado a um analisador elementar Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), usado para obtenção dos valores de abundância natural de ^{15}N das amostras.

O teste realizado com plantas referência foi realizado em dois momentos diferentes, em casa de vegetação, com o objetivo de determinar o valor de abundância natural de ^{15}N do N disponível no solo, sendo cultivadas as seguintes plantas referência: Milheto (*Panicum miliaceum*), Milheto (*Pennisetum glaucum*) e Sorgo (*Sorghum bicolor*). Essas plantas foram escolhidas como referências para o estudo por apresentar características semelhantes às do capim-elefante, principalmente no que se refere à alta produção de massa seca, exigências nutricionais, sistema radicular, rusticidade e adaptação às mesmas condições ambientais. O cultivo das plantas de referência foi realizado de forma a assemelhar-se o máximo possível ao cultivo do capim-elefante. As plantas foram cultivadas em vasos de 400 mL preenchidos com

solo proveniente do tanque e cultivadas até o esgotamento de N do solo, observado a partir dos sinais de clorose foliar (aproximadamente 40 dias). As plantas foram cortadas e submetidas ao processo de secagem em estufa, moagem em moinho de rolos, pesagem e análise isotópica seguindo a mesma metodologia utilizada nas amostras de capim-elefante.

O cálculo da contribuição percentual de FBN foi realizado aplicando-se a fórmula:

$$\% \text{ Ndfa} = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta fixadora}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \text{B})} \times 100$$

onde $\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N disponível no solo obtido a partir da média das plantas controle não fixadoras, utilizadas como referência; $\delta^{15}\text{N}_{\text{planta fixadora}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta teste fixadora de N_2 ; B é o valor da discriminação isotópica de ^{15}N durante o processo de FBN. Neste estudo, o valor de B será considerado zero (BODDEY et al., 2001). Os valores de N acumulado derivados da FBN foram calculados a partir da taxa de fixação e do N total acumulado pelas plantas.

3.4.5. Análises Estatísticas

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk, ao nível de significância de 5%, enquanto a homogeneidade das variâncias entre os grupos foi verificada pelo teste de Bartlett, também ao nível de 5%. Atendidos os pressupostos, os dados foram submetidos à ANOVA e quando detectado efeito significativo dos tratamentos pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Adicionalmente, análises descritivas por meio de box-plot e análises de correlação foram empregadas para a exploração e interpretação dos dados. As análises estatísticas foram realizadas no software RStudio (R Development Core Team, 2018).

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1. Produtividade da massa fresca, massa seca e N acumulado nas plantas

Os resultados apresentados a seguir são referentes a produtividade de massa fresca total (MF), massa seca total (MS) e N total acumulado do capim-elefante cultivado no tanque de concreto enriquecido com ^{15}N . Os resultados correspondem ao período de três anos de cultivo, de 2020 a 2023. A partir dos resultados obtidos nos cortes semestrais, foram calculadas as médias anuais dos genótipos para cada ano avaliado.

A Figura 5 apresenta a distribuição dos valores de MF, MS, N total e N-FBN nas estações chuvosa e seca. De modo geral, observa-se efeito sazonal sobre as variáveis relacionadas à produção de biomassa fresca e seca e ao acúmulo de nitrogênio.

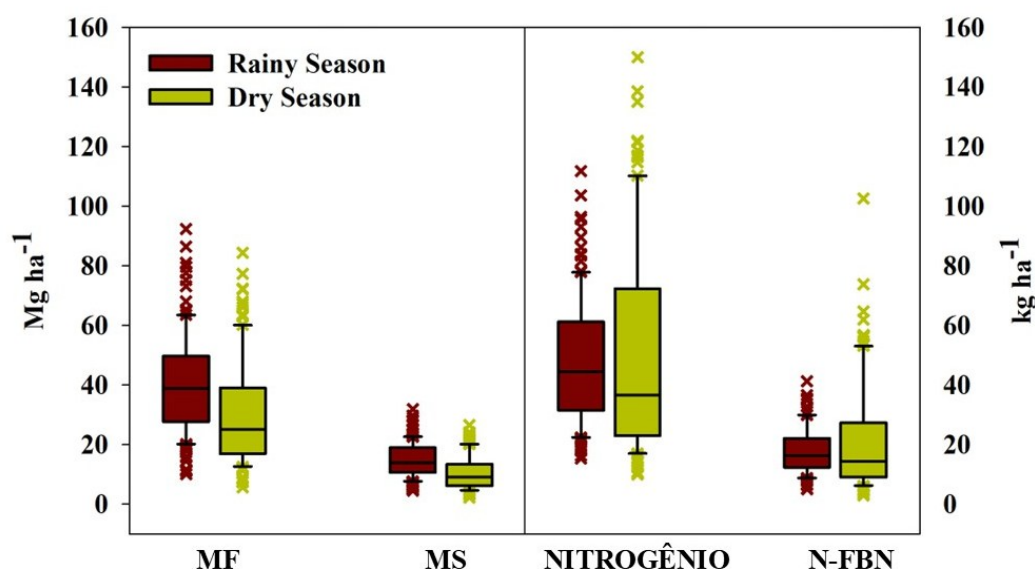


Figura 5. Distribuição da massa fresca, massa seca, nitrogênio e N derivados da FNB avaliados em duas estações do ano (estação seca e estação chuvosa), ao longo dos três anos de cultivo.

Em relação à massa fresca, os valores medianos foram superiores na estação chuvosa em comparação à estação seca, acompanhados de maior amplitude e ocorrência de valores extremos. Esse padrão indica maior produção de biomassa sob condições de maior disponibilidade hídrica, refletindo ambiente mais favorável ao crescimento vegetativo. Esse comportamento também foi observado para a massa seca, cuja mediana também foi mais elevada na estação chuvosa. O acúmulo total de nitrogênio na parte aérea acompanhou o padrão produtivo, apresentando maiores valores medianos na estação chuvosa. Esses resultados evidenciam que o aumento da biomassa esteve associado a maior absorção e/ou assimilação de nitrogênio, reforçando a influência positiva das condições ambientais sobre a dinâmica

nutricional das plantas. No que se refere ao N derivado da FBN, observou-se contribuição em ambas as estações, com mediana ligeiramente superior na estação chuvosa. Esses resultados demonstram que a sazonalidade exerce influência direta sobre as variáveis, principalmente a produção de biomassa e o acúmulo de nitrogênio.

Considerando a época do ano com melhor resposta de produtividade, observou-se que as mudanças climáticas interferem diretamente na produção de capim-elefante. Além da questão da fertilização, a produtividade do capim pode ser afetada por fatores como temperatura, precipitação e fotoperíodo. Durante a estação chuvosa, a resposta de MF e MS foi consideravelmente mais positiva, visto que o capim-elefante apresenta melhor desempenho em altas temperaturas, requer maior quantidade de água e apresenta crescimento mais expressivo em dias longos.

Os genótipos P13G13, BRS CAPIAÇU, P11G7, P21G15 e P27G19 apresentaram as maiores produtividades totais de massa fresca (Figura 6) em relação aos demais genótipos, com efeito significativo dos tratamentos para essa variável. A média anual do genótipo P13G13 diferiu estatisticamente dos demais ao longo de três anos, mostrando-se um genótipo promissor para produção em condições de cultivo semelhantes às do presente estudo.

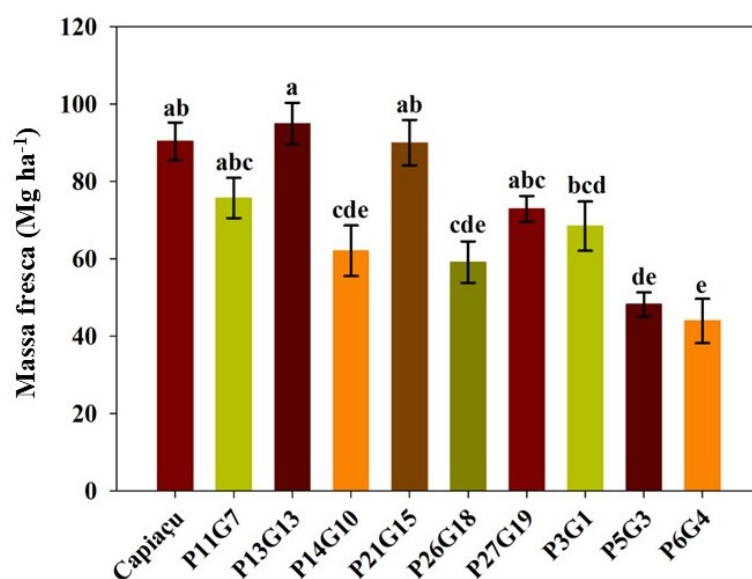


Figura 6. Massa fresca (MF) de capim-elefante cultivado durante três anos de cultivo (Mg ha⁻¹ ano⁻¹). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra diferem entre si a um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) usando o teste de Tukey.

O bom desempenho da cultura do capim-elefante cultivado em solos pobres em N associados à FBN está relacionado às condições ambientais e de manejo às quais é submetido (URQUIAGA et al., 2006; HERRIDGE et al., 2008). Embora a cultura apresente respostas

positivas de crescimento e desenvolvimento com o aumento das doses de nitrogênio (MISTURA et al. 2006), existem estudos que objetivam compreender o funcionamento e avaliar a produtividade de gramíneas beneficiadas pela FBN (BODDEY et al., 2001; MARIN et al., 2008; MORAIS et al., 2012). É importante destacar que o capim-elefante apresenta alta eficiência no acúmulo de massa seca quando cultivado em condições adequadas de manejo, além de ser altamente responsivo ao aumento das doses de nitrogênio, dependendo do genótipo (MORAIS et al., 2012).

O acúmulo médio anual de massa seca total (biomassa) (Figura 7) foi equivalente a 30% da MF. A produtividade total de MS seguiu a mesma tendência observada para a MF, refletindo a influência direta da produtividade de MF sobre a MS. Houve efeito significativo dos tratamentos sobre o acúmulo de massa seca, com os genótipos P13G13 e BRS CAPIAÇU atingindo as maiores médias de MS nos três anos de cultivo, com valores acima de 30 Mg ha⁻¹ no ano.

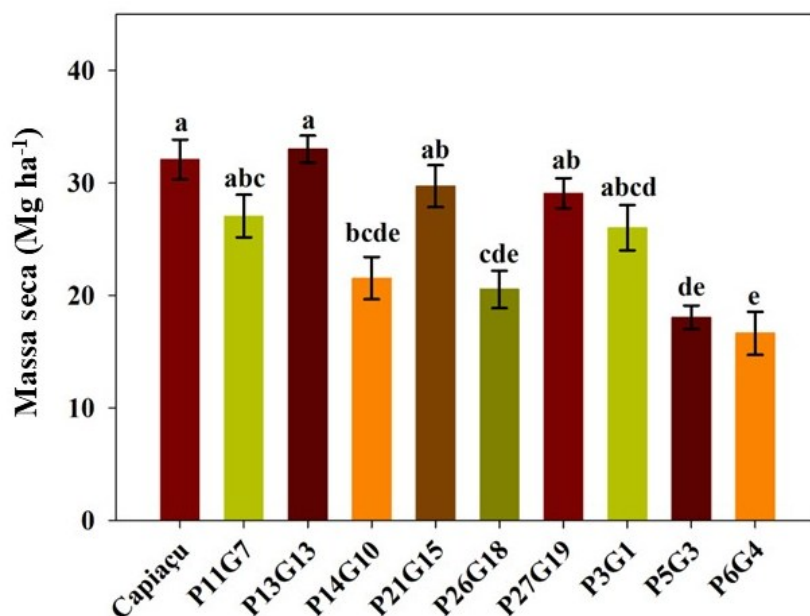


Figura 7. Acúmulo de massa seca de capim-elefante cultivado durante três anos de cultivo (Mg ha⁻¹ ano⁻¹). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra diferem entre si a um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) usando o teste de Tukey.

A genética da planta e a taxa de FBN foram consideradas fatores determinantes para a produtividade alcançada em cada ciclo. Um fator importante relacionado à MS é a quantidade de água presente na planta, que influencia diretamente o acúmulo de MS. Diferentes genótipos podem apresentar alta ou baixa MS dependendo de suas características genéticas. No presente estudo, observou-se uma variação de 15 a 30 Mg ha⁻¹ ao ano.

O genótipo P13G13 se destaca em relação aos tratamentos de menor desempenho, como o genótipo P6G4, que apresentou média anual de MS 50% menor. Além disso, os genótipos P5G3 e P26G18 também demonstraram menor eficiência no acúmulo de MS quando comparados ao P13G13. Esse padrão de desempenho entre os genótipos também foi observado na produtividade de MF, como descrito anteriormente.

Por ser uma cultura rústica, o capim-elefante destaca-se entre as gramíneas devido ao potencial de produção de massa seca em regiões tropicais (MORAIS et al., 2012). Sua capacidade de produzir biomassa, mesmo em condições de baixa disponibilidade de N no solo, está associada às interações entre microrganismos presentes no solo que promovem o crescimento das plantas a partir da FBN (MORAIS et al., 2009; ZANETTI et al., 2010). Considerando um estudo realizado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia entre 2009 e 2010, observou-se o comportamento do capim-elefante quando inoculado com bactérias diazotróficas, desenvolvidas para cana-de-açúcar, neste caso, o inoculante, não apresentou efeito significativo na taxa de fixação de nitrogênio para plantas de capim-elefante, o que reforça a ideia de que a interação entre a cultura e os microrganismos diazotróficos do solo ocorre com certa especificidade e de forma independente (MORAIS et al., 2009).

Dentre os fatores genéticos que influenciam a produtividade do capim-elefante por meio da FBN, destacam-se a eficiência fotossintética e a morfologia das raízes. O primeiro está relacionado à capacidade da planta de captar energia luminosa e convertê-la em carbono durante a fotossíntese, impactando diretamente seu crescimento e desenvolvimento (QUESADA et al., 2004; MARAFON et al., 2022). O segundo refere-se à interação da planta com microrganismos do solo, especialmente as bactérias diazotróficas responsáveis pela FBN. Um sistema radicular mais robusto e profundo melhora a absorção de água e nutrientes e, principalmente, fortalece a relação entre raízes e bactérias, tornando a FBN mais eficiente (MARAFON et al., 2022).

No presente estudo, os valores de produtividade de MS do capim-elefante alcançados foram atribuídos a dois fatores principais: a demanda nutricional das plantas em relação ao nitrogênio e os genótipos utilizados neste estudo. Em um outro experimento conduzido por Zanetti et al. (2010), foram encontrados valores médios de produtividade de MS de 50 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ em dois genótipos diferentes de capim-elefante cultivados em Seropédica-RJ (Brasil), nos anos de 2009 e 2010. Já Moraes et al. (2012) obtiveram médias de 25 Mg ha⁻¹ em um experimento com sete genótipos. Nota-se que alguns genótipos de capim-elefante podem ser mais adaptados a determinadas condições edafoclimáticas do que outros e, portanto, a escolha

inadequada dos genótipos pode influenciar na alta e/ou baixa produtividade de MF e MS total da parte aérea.

No que se refere ao acúmulo de nitrogênio (N) nas plantas, observou-se o mesmo comportamento das variáveis de produtividade massa fresca e massa seca entre os dez genótipos avaliados, com flutuações nos valores médios de acúmulo de N ao longo dos ciclos, dependendo da estação do ano (Figura 5). O acúmulo de N foi determinado com base na massa seca do capim-elefante e na concentração de N nas amostras. Apesar das variações anuais no acúmulo de N, o N total acumulado (Figura 8) correspondeu ao esperado, alinhando-se à tendência observada no acúmulo de MS. No primeiro ano, o acúmulo médio de N ultrapassou 130 kg ha^{-1} , já nos anos seguintes, houve uma redução de aproximadamente 35% no acúmulo de N, semelhante ao observado na MS, que também apresentou decréscimo de 30 a 35% na produtividade ao longo dos dois anos subsequentes.

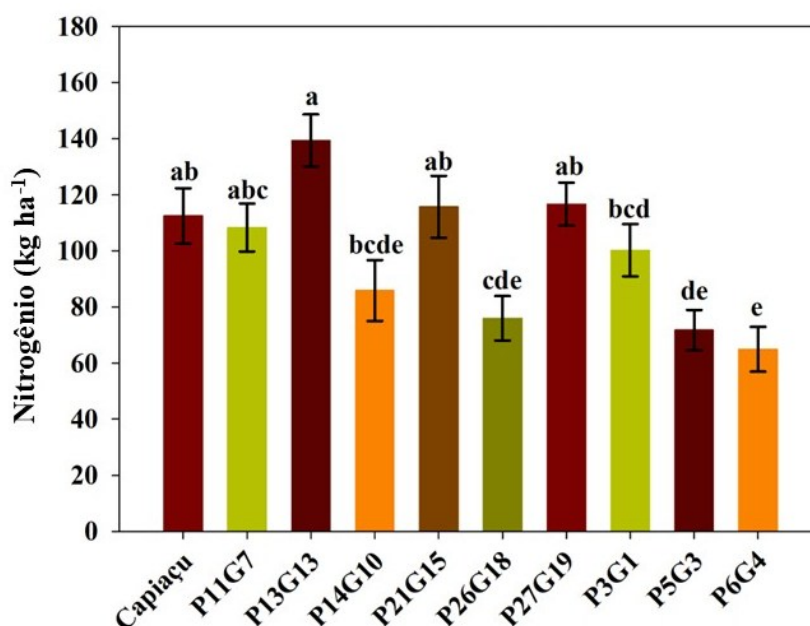


Figura 8. Acúmulo de nitrogênio pelo capim-elefante cultivado durante três anos de cultivo ($\text{Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra diferem entre si a um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) usando o teste de Tukey.

Assim como observado em outras culturas, como a cana-de-açúcar, a quantidade de N que pode ser acumulada pelas plantas ao longo dos ciclos da cultura deve levar em consideração a disponibilidade de nutrientes no sistema, o tipo e a textura do solo, as condições climáticas, a disponibilidade de água, a genética da planta, entre outros fatores (MARIN et al., 2008; MANHÃES et al., 2015). Portanto, percebe-se a necessidade de combinação desses fatores para que a resposta final seja positiva em relação à produtividade da cultura em condições de baixa fertilidade, como é o caso do experimento realizado neste trabalho.

O capim-elefante pode se beneficiar da FBN em sua nutrição nitrogenada, aumentando e/ou mantendo seu índice de produtividade mesmo quando cultivado em solos de baixa fertilidade (URQUIAGA et al., 2006). Sabe-se que o nitrogênio é um nutriente determinante para o bom desenvolvimento das plantas (AZIMI et al., 2021; BOSSOLANI et al., 2023) e que o uso inadequado de fertilizantes pode gerar danos ambientais a longo prazo, tornando-se necessário encontrar formas de suprir a demanda de N com alternativas mais sustentáveis (MORAIS et al., 2009; ZANETTI et al., 2010).

3.5.2. Contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada e N derivado da FBN

A massa seca e o acúmulo de nitrogênio provenientes da FBN dos genótipos foram superiores aos encontrados em estudos anteriores ou em culturas convencionais, e a taxa de FBN permaneceu semelhante à encontrada na literatura para esta cultura. Portanto, pelo menos quatro dos nove genótipos testados, além da testemunha (BRS Capiáçu), responderam positivamente com altas taxas de FBN, sendo uma fonte muito importante de N, resultando em acúmulo satisfatório de MF e MS.

A taxa de FBN foi calculada utilizando a equação descrita na metodologia, que comparou a abundância de ^{15}N em plantas de capim-elefante (Tabela 1) com a abundância de plantas não fixadoras de N_2 cultivadas em casa de vegetação, determinando assim a contribuição de N fixado biologicamente. Os valores de abundância natural de ^{15}N das três espécies de plantas não fixadoras de N_2 cultivadas em casa de vegetação foram usados para determinar a abundância de ^{15}N de N disponível no solo. Para cada ciclo de cultura, um valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ foi calculado entre as três plantas de referência, e essa média foi usada para quantificar a FBN. A abundância de ^{15}N nas plantas de referência, usada para calcular a FBN (%), foi de 46,0825 para o 1º, 2º, 3º ciclos e 43,43104 para o 4º, 5º, 6º ciclos.

Tabela 1. Valores de abundância de ^{15}N (‰) de capim-elefante cultivado em solo enriquecido com ^{15}N , ao longo três anos.

GENÓTIPO	2020/21	2021/22	2022/23
<i>BRS CAPIAÇU</i>	29.7148	26.1507	27.6708
<i>P11G7</i>	29.6410	27.4014	31.5289
<i>P13G13</i>	29.5470	24.8912	27.9923
<i>P14G10</i>	30.3884	26.9439	27.4277
<i>P21G15</i>	28.2449	25.2251	28.6750
<i>P26G18</i>	29.7714	23.4005	26.5097
<i>P27G19</i>	28.9729	25.9148	29.1944
<i>P3G1</i>	28.1268	23.7633	26.5510
<i>P5G3</i>	28.7532	24.9596	26.0804

<i>P6G4</i>	29.3191	23.7216	24.4402
MÉDIA	29.2479	25.2373	27.6071
DESVIO PADRÃO	0.72	1.37	1.94
CV (%)	2.51	5.43	7.03

Os valores da tabela representam as médias de abundância de ^{15}N (‰) do capim-elefante cultivado ao longo de três anos de cultivo. O coeficiente de variação (CV) é expresso em porcentagem e o desvio padrão (DP) é expresso em ‰.

Utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N , é possível avaliar com precisão a taxa de FBN nas plantas no campo (SHEARER & KOHL, 1986; MISTURA et al., 2006; THIENGO et al., 2024). Aplicando essa técnica, Morais et al. (2012) avaliaram quatro genótipos de capim-elefante (Gramafante, Camarões, Bag 02 e Roxo) e obtiveram um acúmulo de N entre 36 e 132 kg N ha⁻¹ ano⁻¹ proveniente da FBN, evidenciando o alto potencial da cultura em se beneficiar da FBN.

Um dos critérios utilizados na metodologia da técnica de abundância natural de ^{15}N baseia-se no requisito de que as plantas testes fixadoras de N foram cultivadas em condições semelhantes às plantas de referência não fixadoras (MISTURA et al., 2006; de CARVALHO et al., 2017). O presente estudo foi realizado em conformidade com os requisitos metodológicos, adaptando as condições de cultivo, especialmente as características do solo, para garantir que os resultados fossem consistentes com os encontrados em estudos anteriores. Neste estudo, foi considerado que o valor de abundância natural de ^{15}N do N disponível no solo é igual ao das plantas de testes não fixadoras. Morais et al. (2012) afirmaram em seu estudo que a evidência da FBN pode ser atribuída ao fato de as plantas de capim-elefante apresentarem valores de abundância natural de ^{15}N menores que as plantas invasoras, não leguminosas, utilizadas no experimento como referência. A abundância natural de ^{15}N também foi descrita para variedades de cana-de-açúcar, milho, sorgo e capim-guiné em um estudo que objetivou mensurar a eficiência da FBN nessas plantas. Neste estudo específico, a abundância de ^{15}N se manteve maior que as plantas de referência para todas as plantas, evidenciando que o N absorvido por elas era proveniente do N₂ atmosférico (de CARVALHO et al., 2017).

Os resultados do presente estudo demonstram a importância da FBN como fonte de nitrogênio para os dez genótipos de capim-elefante avaliados, uma vez que os valores de abundância natural de ^{15}N das plantas de capim-elefante foram significativamente menores que os das plantas utilizadas como referência, evidenciando uma contribuição relevante da FBN na nutrição nitrogenada dos dez genótipos de capim-elefante (Tabela 2).

Tabela 2. Contribuição da FBN (%) dos genótipos de capim-elefante cultivados em solo de baixa fertilidade, ao longo três anos.

GENÓTIPO	2020/21	2021/22	2022/23
<i>BRS CAPIAÇU</i>	37	40	37
<i>P11G7</i>	36	34	27
<i>P13G13</i>	37	43	36
<i>P14G10</i>	35	39	37
<i>P21G15</i>	39	46	34
<i>P26G18</i>	36	46	39
<i>P27G19</i>	38	42	33
<i>P3G1</i>	40	45	39
<i>P5G3</i>	38	43	40
<i>P6G4</i>	37	45	44
MÉDIA	37	42	36

Os valores da tabela representam as médias da contribuição da FBN (%) do capim-elefante cultivado ao longo de três anos de cultivo, para cada genótipo avaliado.

Em relação ao N derivado da FBN (Figura 9), observou-se efeito significativo entre os tratamentos para os dez genótipos de capim-elefante ao longo dos três anos de cultivo.

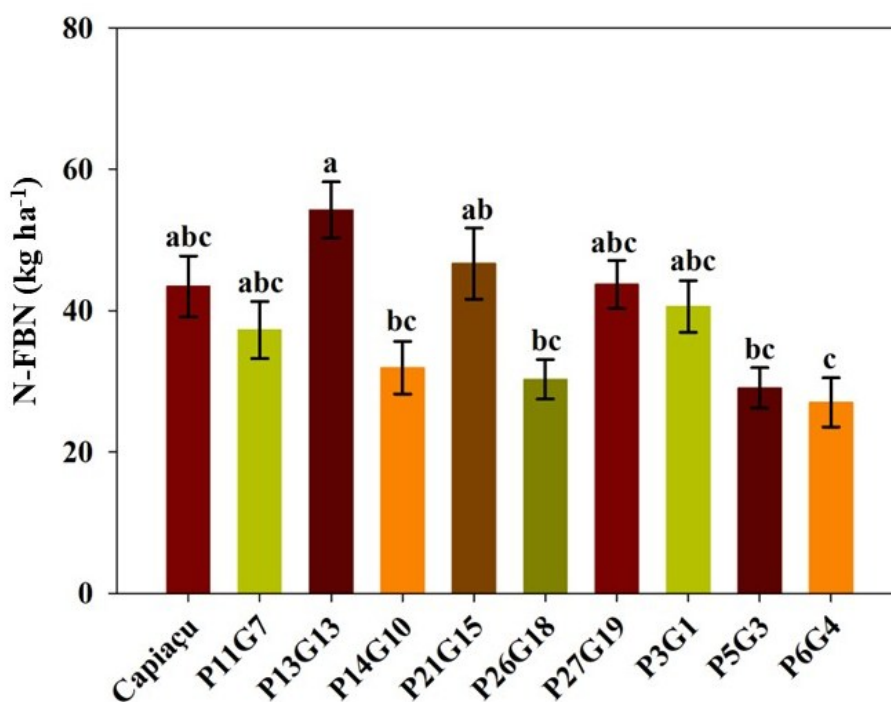


Figura 9. N total derivado do capim-elefante cultivado durante três anos de cultivo ($\text{Mg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra diferem entre si a um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) usando o teste de Tukey.

Diversos estudos sobre quantificação de FBN têm demonstrado que o capim-elefante foi influenciado pelo processo biológico em questão. Os índices de FBN encontrados por alguns autores variaram de 30 a 35% (QUESADA et al., 2000), 20 a 50% (MORAIS et al.,

2009) e 30 a 42% (MORAIS et al., 2012), onde diferentes genótipos foram avaliados em condições de cultivo sem a utilização de adubação nitrogenada, evidenciando a capacidade biológica de fixação de nitrogênio do capim-elefante em solos de baixa fertilidade.

Foi realizado uma análise de correlação entre as variáveis (Figura 10) e revelou-se uma relação positiva entre o N total e as variáveis de massa fresca e seca. Isso sugere que o aumento da absorção e da concentração de N total, bem como do N derivado da FBN, contribui para uma maior produtividade do capim-elefante. No entanto, nenhuma correlação foi observada entre a taxa de FBN (%) e o N total, a massa fresca ou a massa seca. Isso implica que a porcentagem de FBN, por si só, não influencia diretamente a produtividade da massa fresca, da massa seca e o acúmulo de N total.

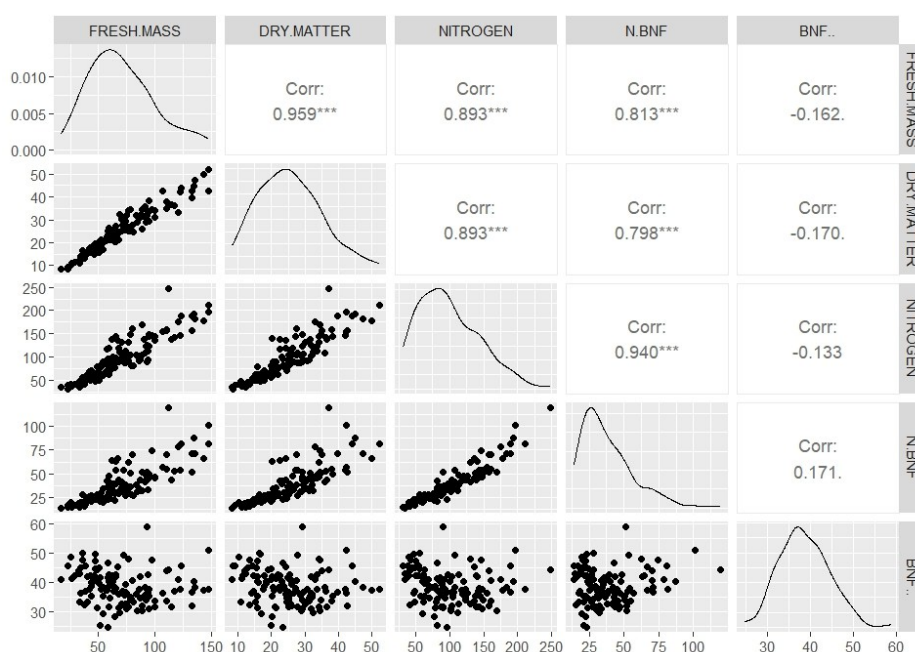


Figura 10. Correlograma entre as variáveis avaliadas (massa fresca, massa seca, nitrogênio, FBN (%) e N derivado da FBN) em diferentes genótipos de capim-elefante durante três ciclos de produção. Resultados estatisticamente significativos ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) (***).

O nitrogênio tem papel fundamental na produtividade das culturas e, por isso, maior produção de massa fresca e seca pode estar associada a maior absorção de N (LADHA et al., 2022). Portanto, a quantidade de N aumenta a produtividade total da biomassa (LATIRI-SOUKI et al., 1998). Quando o nitrogênio é obtido por meio da FBN, sua contribuição para o aumento da produtividade é determinada pela taxa de FBN alcançada. No entanto, um aumento na taxa de FBN não eleva necessariamente a concentração total de N na planta, mas sim a proporção de N derivada da FBN, reduzindo assim a dependência de fertilizantes nitrogenados

sintéticos e tornando o cultivo mais sustentável (LATIRI-SOUKI et al., 1998; SOUMARE et al., 2020).

A longo prazo, a FBN pode aumentar a fertilidade do solo, reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos de nitrogênio e, conseqüentemente, reduzir os custos de produção (LADHA et al., 2005). No entanto, o sucesso da FBN depende do manejo adequado do solo e de um fornecimento adequado de nutrientes como fósforo, potássio e micronutrientes. Além disso, a sustentabilidade é melhor alcançada quando os sistemas de produção adotam práticas agrícolas que ajudam a manter a fertilidade do solo, como rotação de culturas ou cultivo consorciado com leguminosas (BODDEY et al., 1997). Comparado à fertilização sintética com nitrogênio, a FBN se apresenta como uma estratégia mais sustentável e econômica. No entanto, para culturas altamente exigentes, a fertilização com nitrogênio ainda pode ser necessária (TYAGI et al., 2022). Nesses casos, é essencial combinar ambas as abordagens de produção agrícola para otimizar a redução de custos e minimizar o impacto ambiental.

3.6 CONCLUSÕES

A contribuição da fixação biológica de nitrogênio nos genótipos avaliados foi de 38%, o que influenciou positivamente a produção de biomassa e o acúmulo de nitrogênio em capim-elefante cultivado em solo com baixa disponibilidade de nitrogênio e sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Foram registradas produtividades médias de 30 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca total da parte aérea e 100 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de nitrogênio acumulado. Considerando os resultados obtidos nas condições experimentais deste estudo, o genótipo P13G13 tem seu uso recomendado para a produção de biomassa para bioenergia, especialmente quando a FBN é uma importante fonte externa de N na produção. Estudos futuros envolvendo outros genótipos de capim-elefante, cultivados em diferentes tipos de solo, sob diferentes condições climáticas e submetidos a diferentes sistemas de produção, podem fornecer uma maior compreensão da eficiência da FBN em atender à demanda de nitrogênio da cultura.

4. CAPÍTULO II: POTENCIAL PRODUTIVO E QUANTIFICAÇÃO DA FBN DE TRÊS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR CULTIVADAS EM SOLO DE BAIXA FERTILIDADE PARA FINS ENERGÉTICOS

Parte dos resultados apresentados neste capítulo foram publicados no artigo científico:

OLIVEIRA, C. A. G. de; MONTEIRO, E. C.; SOUZA, W. de S.; PIO, P. V. A.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. **Productive Potential and Contribution of Biological Nitrogen Fixation To Sugarcane Cultivation for Energy Purposes.** *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2025. doi.org/10.1007/s42729-025-02544-3.

4.1 RESUMO

A cana-de-açúcar é conhecida por sua alta eficiência fotossintética e substancial capacidade de acumulação de matéria seca, sendo uma boa opção para produção de biomassa visando geração de energia. Este estudo teve como objetivo avaliar o impacto da fixação biológica de nitrogênio (FBN) na produtividade de massa seca (MS) de três variedades de cana-de-açúcar e quantificar a contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada da cultura. O experimento foi conduzido na Embrapa Agrobiologia em Seropédica-RJ, utilizando um tanque de concreto de 120 m² preenchido com solo Argissolo Vermelho distrófico enriquecido com ¹⁵N. O estudo empregou o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, e as avaliações foram realizadas durante o 1º, 2º e 3º ciclos da cultura. A técnica de diluição isotópica de ¹⁵N foi utilizada para quantificar a FBN. As medições incluíram massa fresca do colmo (FSM), massa fresca total (FM), massa seca (MS), acúmulo de nitrogênio nas plantas (N) e nitrogênio derivado da FBN (N-FBN). Diferenças significativas foram observadas no acúmulo de FSM, MS e N-FBN entre as variedades de cana-de-açúcar. A variedade RB867515 demonstrou desempenho superior em comparação à SP81-3250. Ao longo dos três ciclos de cultivo, o nitrogênio total acumulado médio, a proporção de nitrogênio derivado da FBN e o nitrogênio total derivado da FBN foram de aproximadamente 100 kg ha⁻¹, 30% e 30 kg N ha⁻¹, respectivamente. A cana-de-açúcar se beneficia significativamente do nitrogênio derivado da FBN e possui potencial considerável para acúmulo de biomassa, tornando-a uma excelente candidata para produção de biomassa energética.

Palavras-chave: Bioenergia; Biomassa; ¹⁵N; *Saccharum* spp

4.2 ABSTRACT

Sugarcane is known for its high photosynthetic efficiency and substantial capacity for dry matter accumulation, being a good option for biomass production aimed at energy generation. This study aimed to evaluate the impact of biological nitrogen fixation (BNF) on the dry mass (DM) productivity of three sugarcane varieties and to quantify BNF's contribution to the crop's nitrogen nutrition. The experiment was conducted at Embrapa Agrobiologia in Seropédica-RJ, using a 120 m² concrete tank filled with soil Acrisol (WRB/FAO) or Hapludolto Típico (USDA, Soil Taxonomy) labeled with ¹⁵N. The study employed a randomized block design with four replications, and evaluations were carried out during the 1st, 2nd, and 3rd crop cycles. The ¹⁵N isotope dilution technique was utilized to quantify BNF. Measurements included fresh stem mass (FSM), total fresh mass (FM), dry mass (DM), nitrogen accumulation in plants (N), and nitrogen derived from BNF (N-BNF). Significant differences were observed in the accumulation of FSM, DM, and N-BNF among the sugarcane varieties. The RB867515 variety demonstrated superior performance compared to SP81-3250. Across the three crop cycles, the average accumulated total nitrogen, proportion of nitrogen derived from BNF, and total nitrogen derived from BNF were approximately 100 kg ha⁻¹, 30%, and 30 kg N ha⁻¹, respectively. Sugarcane significantly benefits from nitrogen derived through BNF and possesses considerable potential for biomass accumulation, making it an excellent candidate for energy biomass production.

Keywords: Bioenergy; Biomass; ¹⁵N; *Saccharum* spp

4.3 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar com seu metabolismo C₄, alta eficiência fotossintética e grande capacidade de acumular matéria seca, é uma excelente opção para produção de biomassa para fins energéticos (BYRT et al., 2011; URQUIAGA et al., 2012). É uma cultura nativa do continente asiático, pertencente à família Poaceae e produzida em quase todo o território brasileiro. Ela contribui significativamente para a produção de biomassa, beneficiando o setor de biocombustíveis ao gerar etanol e bagaço, usados como combustível em usinas e destilarias, além de produzir eletricidade excedente que é exportada para a rede elétrica nacional (SCUDELETTI et al. 2023).

O Brasil se destaca como um dos maiores produtores de cana-de-açúcar e é líder em exportação. Segundo dados da Conab (2025) área colhida de cana, na safra de 2024/25, foi de 8766,3 mil hectares, a produção total foi de aproximadamente 676.959,1 mil toneladas e a produtividade média na mesma safra foi de 77.223 kg por hectare. Esses números evidenciam a relevância da cultura para a economia nacional e também seu papel na matriz energética, sendo a principal fonte de etanol e bioeletricidade.

Assim como no caso do capim-elefante, para que a biomassa da cana-de-açúcar seja uma opção eficiente, a cultura deve apresentar alta capacidade de acumulação de biomassa e bom desenvolvimento em ambientes com deficiência de nitrogênio ou sem necessidade de alta fertilização nitrogenada (URQUIAGA et al., 2006). A cana-de-açúcar é uma cultura tropical que apresenta boas perspectivas para a produção de biomassa com uso mínimo de nitrogênio sintético, destacando o papel da FBN (CARVALHO et al., 2017).

O processo da FBN ocorre por meio da associação entre plantas e bactérias diazotróficas endofíticas, principalmente *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* e *Azospirillum amazonense* (REIS et al., 2009; VIDEIRA et al., 2012; BALDANI et al., 2014 ; LADHA et al., 2022; THIENGO et al., 2025). Estudos anteriores já investigaram o uso da biomassa de cana-de-açúcar para fins energéticos (de SOUZA et al., 2018; CAVALCANTI et al., 2020; WIESBERG et al., 2021). Porém, o desenvolvimento de variedades que combinem alta produtividade de biomassa com eficiência de FBN ainda pode ser um desafio e por isso a avaliação de novas variedades de cana-de-açúcar com esse propósito permite a seleção das mais adequadas.

Diante disso, a hipótese levantada neste estudo é que a FBN é a principal fonte externa de nitrogênio no cultivo de cana-de-açúcar, levando a uma maior produtividade da cultura em solos de baixa fertilidade sem o uso de fertilização sintética com nitrogênio. Os objetivos do

estudo foram avaliar a produtividade de massa fresca e seca de três variedades de cana-de-açúcar, quantificar o acúmulo de N total em diferentes partes da planta e quantificar a contribuição da FBN na nutrição nitrogenada da cana por meio da técnica abundância natural de ^{15}N .

4.4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.4.1. Material Vegetal e Condições Experimentais

O estudo foi realizado na área experimental da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica-RJ (22°44'38" Sul, 43°42'28" Oeste e 26 m de altitude). A região é caracterizada por clima do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen, com invernos secos e verões quentes e chuvosos, com temperaturas variando de 16 a 34°C e precipitação média anual de 1.224 mm. As variedades de cana-de-açúcar avaliadas neste estudo foram: RB92579, RB867515 e SP81-3250, todas provenientes da estação experimental da UFRRJ, Campus Goytacazes-RJ. A escolha das variedades levou em consideração sua excelente adaptação às diversas condições edafoclimáticas do Brasil, destacando-se pela alta produtividade. As três variedades são amplamente cultivadas no Brasil, apresentando excelente brotação e resistência (DAROS et al., 2015)

O experimento foi realizado em tanque de concreto fechado, localizado em campo aberto, com área de 120m² e 60 cm de profundidade, preenchido com solo classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico enriquecido com ¹⁵N (URQUIAGA et al., 1992). Foi realizada uma coleta de solo na profundidade de 0–40 cm para análise de fertilidade antes do plantio e o solo apresentou as seguintes propriedades: pH 5,9; Ca+Mg 3,3 cmolc dm⁻³; K 29 mg dm⁻³; P 16 mg dm⁻³ e N total 0,07 g dm⁻³. Areia, 800 g kg⁻¹; silte, 36 g kg⁻¹; e argila, 164 g kg⁻¹. A partir desses resultados, foi recomendada calagem com 2 Mg ha⁻¹ de calcário dolomítico (> 12% MgO) e uma adubação no plantio de 100 kg ha⁻¹ de K₂O, 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 100 kg ha⁻¹ de micronutrientes (FTE BR12, com a composição de 18 B, 8 Cu, 30 Fe, 20Mn, 1 Mo e 90 Zn g kg FTE⁻¹). A adubação de cobertura foi realizada 80 dias após o plantio, onde foram aplicados 100 kg ha⁻¹ de K₂O, 15 kg ha⁻¹ de sulfato de cobre e 50 kg ha⁻¹ de FTE BR12. Não foi realizada inoculação bacteriana no plantio.

O plantio foi realizado utilizando colmos de cana, cada um contendo pelo menos três gemas viáveis e no momento do plantio, os colmos foram dispostos em fileira dupla dentro do sulco para garantir uma população de plantas uniforme (Figura 11). O plantio ocorreu em setembro de 2019. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e as parcelas foram constituídas por três linhas de plantio de 3 m com espaçamento de 1,25 m entre fileiras, onde cada parcela possuía área útil de 9 m² (Figura 12). O manejo de irrigação no experimento foi efetuado por meio de chuvas naturais, complementadas por

irrigação via gotejamento. Durante a condução do experimento, o solo foi mantido próximo à capacidade de campo, atendendo às exigências da cultura.



Figura 11. Etapas do plantio de cana-de-açúcar na área experimental da Embrapa Agrobiologia (Fotos: Carolina Almada).

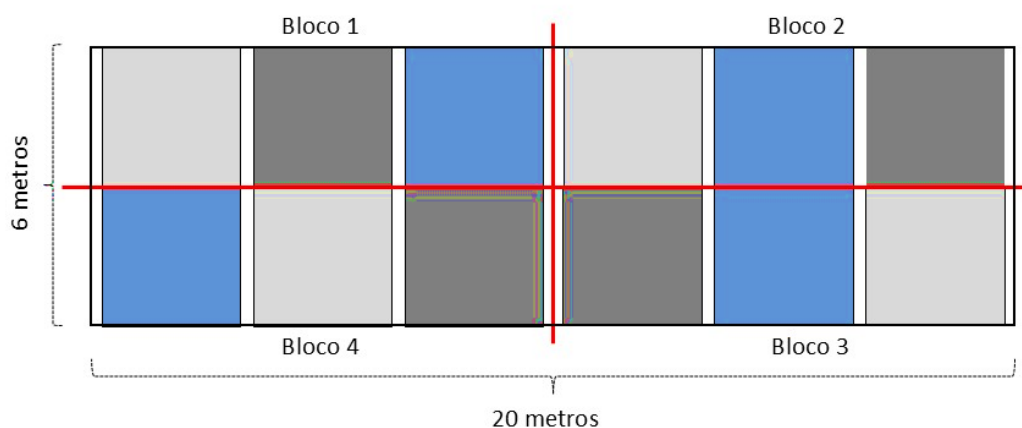


Figura 12. Esquema da área experimental (20×6m), subdividida em quatro blocos. As linhas vermelhas representam os limites dos blocos e as caixas coloridas representam as 3 linhas de plantio de cada variedade.

O presente estudo integra um experimento de longo prazo iniciado em 2019, conduzido ao longo de cinco anos, com colheitas realizada anualmente nos seguintes períodos: setembro/2020 (1°); setembro/2021 (2°), setembro/2022 (3°), setembro/2023 (4°) e setembro/2024 (5°). As variáveis avaliadas foram produtividade de massa fresca de colmos (MFC); massa fresca total (MF); produtividade de massa seca (MS), em $\text{Mg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, da planta inteira; teor de N acumulado na massa seca, em $\text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, contribuição da FBN (%) para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar e nitrogênio derivado da FBN (N-FBN) em $\text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$.

4.4.2 Massa fresca de colmos, massa fresca, massa seca total e N em plantas

A produtividade de massa fresca total (MC), massa fresca de colmos (MFC) e massa seca total (MS) foi determinada a cada colheita, após um ciclo completo de 12 meses. No momento da colheita, foram selecionadas quatro plantas aleatórias e representativas de cada parcela para amostragem. Em seguida, a parte aérea das parcelas foi cortada e separada em colmos, folhas verdes e palha, sendo cada fração pesada individualmente.

As quatro plantas aleatórias selecionadas foram pesadas em campo, fracionadas e, de cada fração, retiraram-se subamostras. Essas subamostras foram pesadas para determinação da massa fresca e, posteriormente, secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h ou até a estabilização da massa. Após a secagem, as amostras foram novamente pesadas para determinação da massa seca. Com base nos valores de massa fresca e seca das subamostras, calculou-se a massa seca total (MS) da cana-de-açúcar.



Figura 13. a) Demonstração do corte de cana-de-açúcar. b) Seleção de plantas aleatórias nas linhas de plantio de cada parcela c) Pesagem em campo da massa fresca de cana-de-açúcar (Fotos: Carolina Almada).

As amostras secas foram moídas em moinho tipo Wiley, com peneira de 2 mm, para determinação do teor total de nitrogênio (N) no tecido vegetal, utilizando análise elementar (CHNSO). O acúmulo de N foi determinado nas frações de colmos, folhas verdes e palha, a partir do produto entre a massa seca e a concentração de N de cada fração. O N total se deu a partir do somatório das frações das plantas.

4.4.3 Contribuição da FBN e N derivado da FBN

A quantificação da FBN foi realizada utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N (SHEARER e KOHL, 1986). As amostras moídas em um moinho tipo Willey (peneira de 2 mm), obtidas no experimento e no estudo complementar, foram posteriormente moídas até um pó fino em um moinho de rolos (ARNOLD e SCHEPERS, 2004).

Para obter o valor da abundância natural de ^{15}N do N disponível no solo e o valor de abundância natural de ^{15}N da planta teste fixadora (cana-de-açúcar). O valor referente ao ^{15}N

do N disponível no solo foi obtido por meio de um teste com plantas referência (não fixadoras de nitrogênio), enquanto o valor referente a cana-de-açúcar foi obtido a partir de subamostras de cana, previamente moídas em moinho de facas Wiley (2 mm) e submetidas a uma segunda moagem em moinho de rolos até atingirem o tamanho de partícula com granulometria adequada para análises isotópicas.

A partir da análise do teor de N, calculou-se a massa de cada amostra que foi pesada em balança científica com leitura de 0,01 mg (Mettler Toledo AG245, Greifensee, Switzerland) em cápsulas de estanho (5 × 9 mm, D1008, Elemental Microanalysis Ltd, Devon, UK) e posteriormente analisadas em um espectrômetro de massas de razão isotópica Delta V Advantage acoplado a um analisador elementar Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), usado para obtenção dos valores de abundância natural de ^{15}N das amostras.

Plantas não fixadoras de N (plantas de referência) foram cultivadas em três épocas diferentes em uma estufa para determinar o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do nitrogênio disponível no solo, que foi usado para calcular a taxa de fixação de nitrogênio. No final de cada colheita de cana-de-açúcar, amostras de solo foram coletadas para o cultivo das plantas de referência. As três espécies não fixadoras de N usadas no estudo foram milheto (*Panicum miliaceum*), milheto (*Pennisetum glaucum*) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Essas espécies foram escolhidas principalmente devido às suas similaridades com a cana-de-açúcar, especialmente em relação ao acúmulo de massa seca e às características do sistema radicular. Nesse estudo adicional, cinco sementes de cada espécie de planta de referência foram semeadas em vasos de 400 mL cheios de solo coletado do tanque de concreto a uma profundidade de 0–30 cm. Essas plantas foram cultivadas até que o nitrogênio do solo fosse esgotado, conforme indicado por sinais de clorose foliar. Após 35 dias, as plantas foram colhidas e submetidas ao mesmo processo de secagem e moagem da cana-de-açúcar.

Para determinar a abundância de ^{15}N das amostras, as amostras de plantas referência e de cana-de-açúcar foram analisadas utilizando um espectrômetro de massas de razão isotópica Delta V Advantage acoplado a um analisador elementar Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) no Laboratório de Isótopos Estáveis John Day da Embrapa Agrobiologia.

O cálculo da contribuição percentual de FBN foi realizado aplicando-se a fórmula:

$$\% \text{ Ndfa} = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta fixadora}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \text{B})} \times 100$$

Onde $\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N disponível no solo obtido das plantas controle não fixadoras, usadas como referência; $\delta^{15}\text{N}_{\text{planta fixadora}}$ é o valor de $\delta^{15}\text{N}$ da planta teste fixadora de N_2 ; B é o valor da discriminação isotópica de ^{15}N durante o processo de FBN. Neste estudo, o valor de B será considerado zero (BODDEY et al. 2001).

4.4.4 Análises Estatísticas

Foram realizadas análises individuais para cada ano, considerando-se apenas as variedades como fonte de variação. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando houve efeito significativo dos tratamentos pelo teste F, foi realizada a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias dos erros pelo teste de Bartlett com 5% de significância antes da análise de comparação de médias. As análises estatísticas foram realizadas no software RStudio (R Development Core Team, 2018).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Massa fresca de colmos, massa fresca total, massa seca total e N acumulado nas plantas

Os resultados apresentados a seguir são referentes a produtividade de massa fresca de colmos (MFC), massa fresca total (MF), massa seca total (MS) e N total acumulado da cana-de-açúcar cultivada em tanque de concreto enriquecido com ^{15}N . Os dados correspondem a cinco ciclos de cultivo, realizados entre 2020 e 2024, sendo os valores expressos como médias dos anos avaliados. O efeito da FBN no cultivo da cana-de-açúcar resultou em altos índices de MFC, MF e MS durante o período de avaliação, mesmo em condições de cultivo não convencionais.

A média de MFC para as variedades avaliadas (Figura 14) foi geralmente alta, atingindo aproximadamente 144 Mg ha^{-1} no primeiro ciclo. No entanto, observou-se um declínio progressivo na produtividade do primeiro ao terceiro ciclo e um aumento do quarto ao quinto ciclo. Apesar desse declínio, os valores de produtividade permaneceram relativamente altos, mesmo sob condições limitantes de solo caracterizadas por baixa disponibilidade de nitrogênio e mais de 30 anos de cultivo contínuo sem fertilização com nitrogênio no tanque. Esses resultados enfatizam a forte capacidade produtiva das variedades avaliadas, mesmo em ambientes com deficiência de nutrientes.

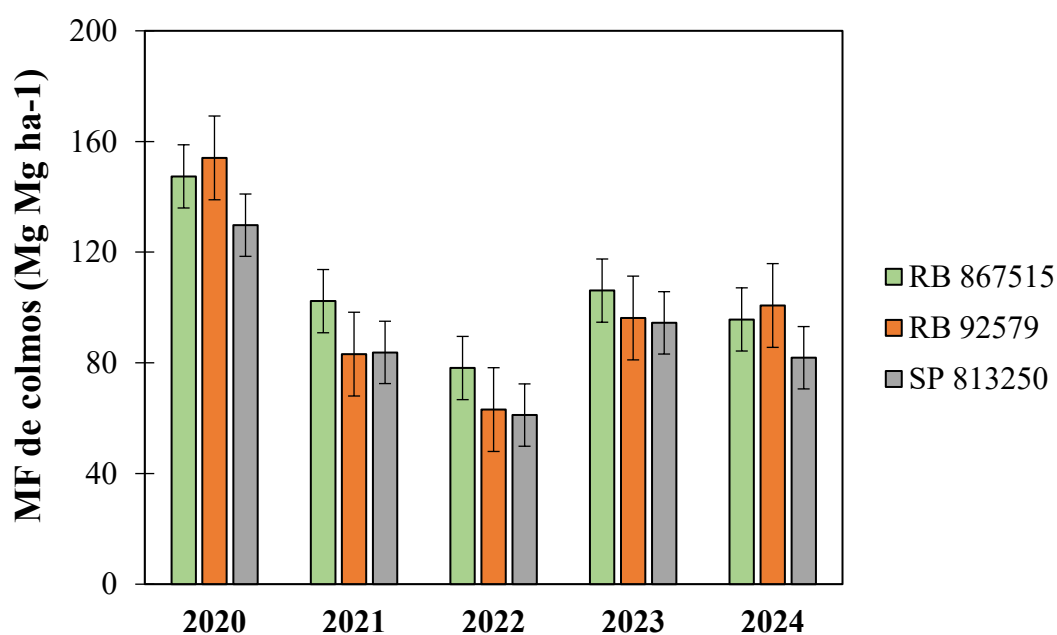


Figura 14. Massa fresca de colmos (MFC) de cana-de-açúcar cultivada durante cinco ciclos de cultivo (Mg ha^{-1}). As barras representam o erro padrão da média. Médias comparadas dentro de cada ano pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No que se refere a MF total, observa-se um destaque positivo para a variedade RB92579 produzindo aproximadamente 180 Mg ha⁻¹ em 2020 (Figura 15), um valor consideravelmente superior à média nacional. Nos anos seguintes, a variedade RB867515 superou os valores absolutos de média, atingindo os maiores rendimentos de colmos. Não foi observada diferença estatística entre as variedades nos anos observados, porém deve-se destacar que o comportamento das variedades seguiu um padrão ao longo dos anos.

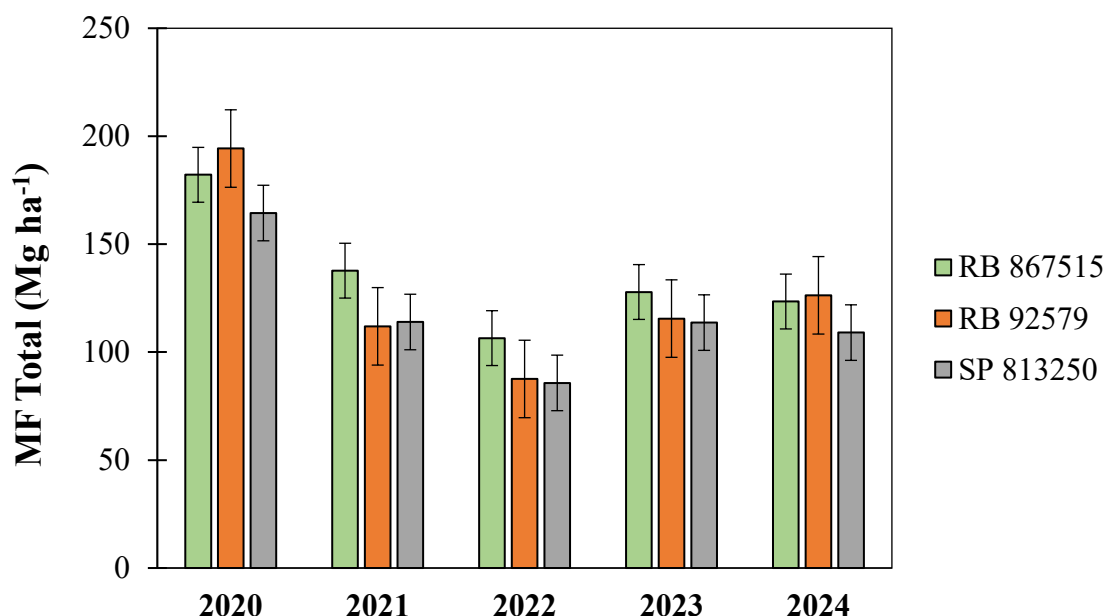


Figura 15. Massa fresca total (MF) de cana-de-açúcar cultivada durante cinco ciclos de cultivo (Mg ha⁻¹). As barras representam o erro padrão da média. Médias comparadas dentro de cada ano pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A produtividade média da cana-de-açúcar no Brasil nos últimos cinco anos foi de 75 Mg ha⁻¹ (CONAB, 2021; 2023; 2025). Assim, este estudo obteve bons resultados de produtividade no experimento conduzido a campo sob condições específicas, onde não houve aporte de nitrogênio via fertilizante N sintético, adubação verde ou qualquer outro insumo além da FBN associada à planta.

Um ponto importante quando se fala sobre espécie vegetal para produção de biomassa energética é o acúmulo de MS. Observou-se ao longo dos ciclos da cultura, um declínio de MS (Figura 16) do primeiro ciclo (plantio de cana) para os dois ciclos subsequentes e um aumento de produtividade do quarto para o quinto ano. Essa característica também foi observada nas variáveis anteriores.

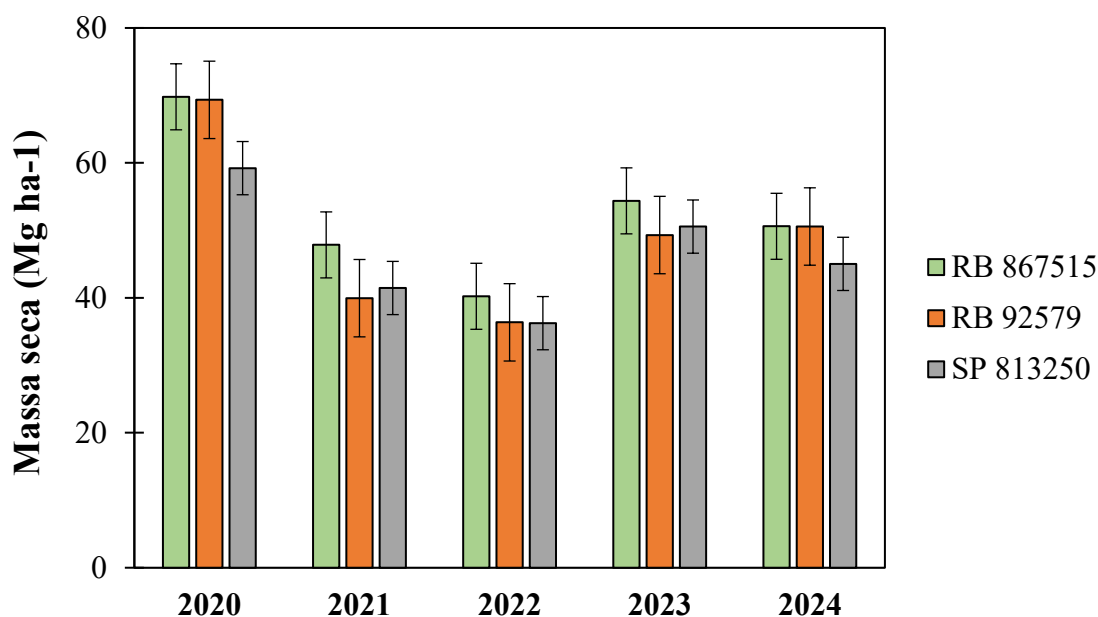


Figura 16. Massa seca (MS) de cana-de-açúcar cultivada durante cinco ciclos de cultivo (Mg ha^{-1}). As barras representam o erro padrão da média. Médias comparadas dentro de cada ano pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Um experimento com cana-de-açúcar conduzido em Juazeiro, BA-Brasil, com a variedade RB92579 e cultivo convencional apresentou produtividade média de 60 Mg ha^{-1} de acúmulo de MS em dois ciclos de cultivo (SILVA et al., 2014). Os resultados obtidos no presente estudo indicam um acúmulo médio de aproximadamente 50 Mg ha^{-1} de massa seca (MS) ao longo dos cinco anos de avaliação. De modo semelhante, ambos os estudos demonstraram que a variedade RB92579 apresentou produtividades de MS comparáveis, mesmo sob condições de cultivo sem adubação nitrogenada, o que reforça a hipótese de elevada contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN).

Em estudos realizados por Martins et al. (2020) e Monteiro et al. (2021), foram observadas altas produtividades de massa fresca de colmos, matéria seca e acúmulo de N para as variedades RB867515 e RB92579 utilizadas em ambos os estudos. Os autores conduziram seus experimentos para comparar o efeito da inoculação com bactérias diazotróficas para favorecer a FBN e, consequentemente, aumentar a produtividade da cultura. Schultz et al. (2016) relataram aumentos na produtividade de colmos e de toda a matéria seca da parte aérea da cana-de-açúcar em experimentos de campo quando as variedades RB867515 e RB72454 foram inoculadas com bactérias diazotróficas.

No que se refere ao nitrogênio total acumulado, observou-se o mesmo comportamento apresentado no acúmulo de MS (Figura 17) nas três variedades avaliadas, apresentando declínio progressivo ao longo dos anos de cultivo. Ao longo dos ciclos de cultivo, observou-se variação

no acúmulo total de nitrogênio pelas plantas. Nos dois primeiros anos, o acúmulo foi maior inicialmente e apresentou redução no segundo ciclo. A partir do terceiro ciclo, verificou-se um leve aumento nos valores, comportamento que se manteve até o quinto ano de cultivo.

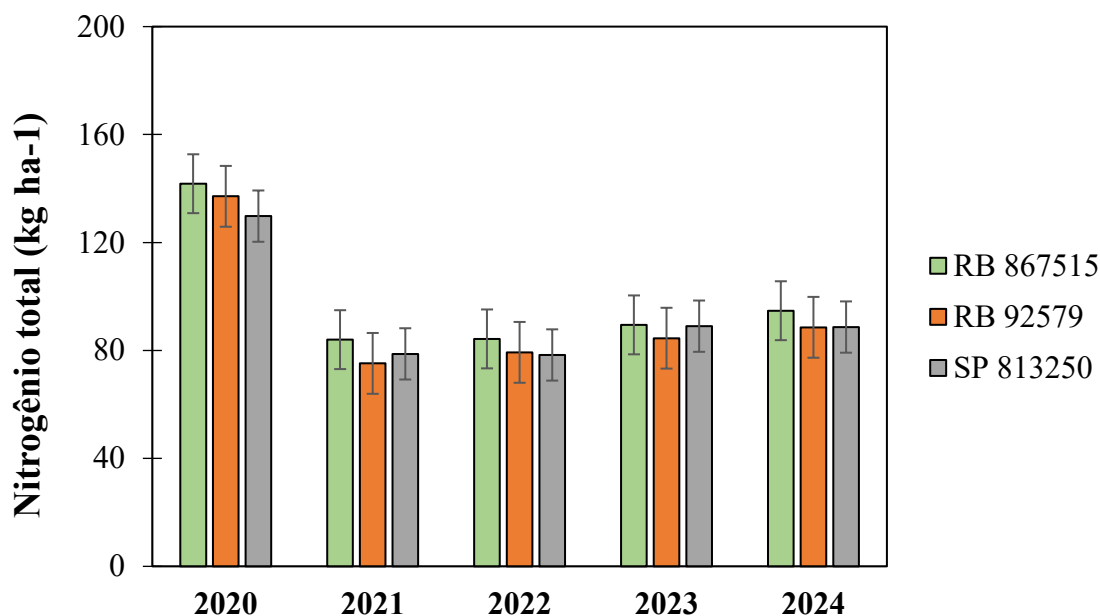


Figura 17. Nitrogênio total acumulado (N) de cana-de-açúcar cultivada durante cinco ciclos de cultivo (kg ha⁻¹). As barras representam o erro padrão da média. Médias comparadas dentro de cada ano pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apesar dessas variações nos valores médios, não foram encontradas diferenças estatísticas na concentração de nitrogênio ao longo dos ciclos, e o aumento total de N seguiu o comportamento esperado, consistente com o padrão de acúmulo de massa seca e massa fresca. Esse comportamento reforça a relação direta entre a produtividade da cultura e a absorção de nitrogênio ao longo dos ciclos de cultivo. A adoção de estratégias adequadas de fertilização nitrogenada em uma cultura agrícola tende a aumentar a eficiência do uso do N e a reduzir os danos ambientais causados pelo uso excessivo desse nutriente (OLIVEIRA et al., 2023). O processo de FBN é uma forma de suprir a demanda por N sem os custos adicionais dos fertilizantes nitrogenados industrializados, permitindo um balanço energético positivo da cultura.

O acúmulo médio de nitrogênio do estudo nos cinco ciclos demonstra como as variedades utilizadas podem apresentar boa produtividade mesmo em condições de baixa disponibilidade de N e sem adubação nitrogenada, porém com manejo adequado dos demais nutrientes. O comportamento das variedades de cana-de-açúcar quanto ao desenvolvimento anual da cultura e quanto nitrogênio pode ser acumulado ao longo dos ciclos, dependerá da

disponibilidade de nutrientes no sistema de cultivo, tipo de solo, textura do solo, condições climáticas, disponibilidade de água, entre outros fatores (MARIN et al., 2008).

4.5.2 Contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada das culturas e nitrogênio derivado da FBN

A média da contribuição da FBN nos anos avaliados foi de 30%, e observou-se uma variação nessas taxas ao longo dos cinco anos de cultivo (Tabela 3). Essa variação reflete as diferentes interações entre fatores fisiológicos e ambientais que afetam a dinâmica do nitrogênio no sistema solo-planta. As maiores taxas de FBN ocorreram nos dois primeiros cultivos, quando as plantas apresentavam maior vigor e atividade radicular. No terceiro e quarto ciclo, a redução da abundância de ^{15}N e do vigor das plantas pode ter resultado em uma menor estimativa de FBN.

Tabela 3. Contribuição da FBN (%) das variedades de cana-de-açúcar, cultivadas em solo de baixa fertilidade, ao longo três anos.

<i>VARIEDADE</i>	<i>1º CICLO</i>	<i>2º CICLO</i>	<i>3º CICLO</i>	<i>4º CICLO</i>	<i>5º CICLO</i>
<i>RB867515</i>	34	35	19	24	28
<i>RB92579</i>	38	35	24	22	37
<i>SP81-3250</i>	32	34	16	20	23
MÉDIA	35	34	20	22	30

Os valores da tabela representam as médias da contribuição da FBN (%) para cada variedade avaliada de cana-de-açúcar cultivada ao longo de cinco anos.

De modo geral, mesmo com oscilações entre os anos, a FBN manteve papel importante no suprimento de nitrogênio e na sustentação da produtividade da cana-de-açúcar, garantindo uma média de 30 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N derivado da FBN. A quantidade de N-FBN seguiu o mesmo comportamento das outras variáveis avaliadas ao longo do experimento (Tabela 4).

Tabela 4. Nitrogênio derivado da FBN (kg ha⁻¹) das variedades de cana-de-açúcar, cultivadas em solo de baixa fertilidade, ao longo três anos.

<i>VARIEDADE</i>	<i>1º CICLO</i>	<i>2º CICLO</i>	<i>3º CICLO</i>	<i>4º CICLO</i>	<i>5º CICLO</i>
<i>RB867515</i>	47,7	30	16,1	20,1	22,4
<i>RB92579</i>	51,8	26,8	21,1	18,8	30,7
<i>SP81-3250</i>	41,8	26,1	13,3	17,8	20,7
MÉDIA	47,1	27,7	16,5	18,8	24,6

Os valores da tabela representam as médias do nitrogênio derivado da FBN para cada variedade avaliada de cana-de-açúcar cultivada ao longo de cinco anos.

Carvalho et al. (2017) avaliaram variedades de cana-de-açúcar, incluindo RB867515 e RB92579, em casa de vegetação plantada em um Latossolo Vermelho distroférrico, e

registraram valores de acúmulo de nitrogênio variando de 80 a 160 mg N planta⁻¹ e valores entre 20 e 25 mg N planta⁻¹ derivados da FBN, o que representa uma média de 23% do N vegetal derivado da FBN no cultivo.

A cana-de-açúcar é uma cultura agrícola que pode ser favorecida pela FBN em sua nutrição nitrogenada (BODDEY et al., 2001; URQUIAGA et al., 2012) e tem potencial para alcançar respostas positivas de produtividade da FBN (MARTINS et al., 2020; MONTEIRO et al., 2021). O efeito da inoculação com bactérias diazotróficas na cana-de-açúcar foi descrito em estudos anteriores (SCHULTZ et al., 2017; MARTINS et al., 2020; PEREIRA et al., 2019; MONTEIRO et al., 2021), porém, a contribuição da FBN em gramíneas não inoculadas com bactérias diazotróficas, mas de vida livre no solo, também pode ser significativa.

Algumas variedades comerciais de cana-de-açúcar são superiores em FBN e esta é uma importante fonte de N no manejo da cultura (SCHULTZ et al., 2016). Estudos anteriores mostram como a FBN pode ser significativa no cultivo de cana-de-açúcar (BODDEY et al., 2001; URQUIAGA et al., 2012) e algumas variedades de cana-de-açúcar podem apresentar respostas positivas na produção de massa fresca, acúmulo de nitrogênio e matéria seca à inoculação com bactérias diazotróficas (MARTINS et al., 2020; PEREIRA et al., 2019; MONTEIRO et al., 2021). Valores de aproximadamente 47% de N derivado da FBN foram registrados em experimentos com cana-de-açúcar em casa de vegetação onde a influência e o efeito da inoculação com bactérias diazotróficas foram testados (MONTEIRO et al., 2021). A FBN em cultivares de cana-de-açúcar pode fornecer até 60% do N total requerido pela cultura (URQUIAGA et al., 1992; MONTEIRO et al., 2021). Esses resultados corroboram o presente estudo, onde a contribuição da FBN média para os três ciclos foi de 30%, o que representou 47 kg de N derivado da FBN no primeiro ciclo da cultura.

Nos cinco ciclos de cana-de-açúcar avaliados no presente estudo, os resultados demonstraram que houve contribuição significativa da FBN como fonte de N para as variedades de cana-de-açúcar. A FBN pode ter sido influenciada pelas condições edafoclimáticas ambientais (SCHULTZ et al., 2016), neste caso, o aumento ou diminuição da contribuição da FBN ao longo dos cinco ciclos pode ser atribuído às condições ambientais que não puderam ser controladas em campo.

Diversos estudos sobre quantificação da FBN demonstram que a cana-de-açúcar se beneficia do processo que corresponde a uma parcela da nutrição nitrogenada da cultura, reduzindo os altos custos de produção e os impactos ambientais causados pelo uso excessivo de fertilizantes nitrogenados sintéticos (SCHULTZ et al., 2016; MARTINS et al., 2020;

MONTEIRO et al., 2021). A partir dos resultados obtidos, há fortes evidências de que as variedades utilizadas neste estudo, principalmente RB867515 e RB92579, são capazes de atingir alta produtividade a partir do aporte da FBN.

4.6 CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a fixação biológica de nitrogênio foi uma fonte externa de nitrogênio muito importante no cultivo de cana-de-açúcar, garantindo alta produtividade de massa seca em solo de baixa fertilidade e sem adubação nitrogenada. A contribuição da FBN foi de aproximadamente 30%, resultando em uma produtividade média de 100 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de massa fresca de colmos, 50 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca e um acúmulo anual de nitrogênio de 100 kg ha⁻¹ ano⁻¹ nas plantas. Considerando os resultados obtidos, as três variedades estudadas podem ser recomendadas para uso com fins energéticos. A capacidade das variedades RB92579, RB867515 e SP81-3250 de manter sua produtividade sem o uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos reforça o potencial da FBN como estratégia sustentável para a produção de biomassa energética.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos nesta tese demonstram que a FBN desempenhou um papel muito importante para o suprimento da demanda de nitrogênio do capim-elefante e cana-de-açúcar, contribuindo para a sustentabilidade de sistemas de produção de biomassa energética. Em condições de solo com baixa disponibilidade e na ausência de adubação nitrogenada sintética, as duas culturas em estudo mantiveram elevado acúmulo de nitrogênio e alta produtividade de massa seca, evidenciando a capacidade das variedades e genótipos avaliados.

A taxa de FBN de 38% no capim-elefante e de 30% na cana-de-açúcar assegurou um desenvolvimento eficiente das culturas, evidenciando o potencial dessa estratégia em sistemas com baixa disponibilidade de nitrogênio. O genótipo P13G13 destacou-se pelo elevado acúmulo de massa seca e maior contribuição da FBN, sendo considerado um genótipo promissor para uso energético em ambientes de baixa disponibilidade de nitrogênio. Na cana-de-açúcar, as variedades RB92579, RB867515 e SP81-3250 apresentaram elevada produtividade mesmo na ausência de fertilizantes nitrogenados sintéticos, confirmando a relevância da FBN como fonte externa de nitrogênio para a cultura.

Diante disso, conclui-se que os resultados obtidos reforçam que a FBN não atua apenas como uma fonte complementar de nitrogênio, mas como uma estratégia para sistemas agrícolas sustentáveis, especialmente em cultivos destinados à produção de biomassa energética.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese demonstrou um panorama sobre a contribuição da FBN em dois cenários produtivos diferentes, com as culturas de capim-elefante e cana-de-açúcar, visando demonstrar seu potencial como alternativa viável para sustentar elevadas produtividades com menor aporte de N mineral e maior eficiência do sistema agrícola. A seleção e o manejo de genótipos de capim-elefante e variedades de cana-de-açúcar com elevada capacidade de fixar nitrogênio biologicamente podem reduzir o uso de fertilizantes sintéticos, minimizar impactos ambientais e promover sistemas de produção mais sustentáveis. Nesse contexto, estudos futuros seriam interessantes para aprofundar a compreensão dos mecanismos fisiológicos, genéticos e microbiológicos da FBN, bem como avaliar sua estabilidade em diferentes ambientes e sistemas de manejo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, S. L.; SCHEPERS, J. S. A Simple Roller-Mill Grinding Procedure for Plant and Soil Samples. **Commun Soil Sci Plant Anal**, 35:537–545, 2004. <https://doi.org/10.1081/CSS-120029730>
- AZIMI, S.; KAUR, T.; GANDHI T. K. A deep learning approach to measure stress level in plants due to Nitrogen deficiency. **Measurement**, 173, 108-650, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108650>
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. História da pesquisa em fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: ênfase especial na experiência brasileira. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n.3, 549-579, 2005.
- BALDANI, J. I.; TEIXEIRA, K. R. S.; SCHWAB, S. et al. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família da Poaceae (antiga gramínea). In: RIBEIRO M. R. ARAÚJO, NASCIMENTO, C. W.; RIBEIRO FILHO, M. R.; CANTALICE, J. R. B. (Ed.). Tópicos em Ciência do Solo. **1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. p. 203-271, 2009.
- BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; VIDEIRA, S. S.; BODDEY, L.H.; BALDANI, V. L. D. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: A practical guide for microbiologists. **Plant and Soil**, 384, 413–431, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- BODDEY, R. M., URQUIAGA, S., DE ASSIS, R. L., DÖBEREINER, J. **Fixação biológica de nitrogênio por bactérias associadas à cana-de-açúcar**. EMBRAPA-CNPBS, 1992.
- BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE A.S.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Use of the ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to grasses and cereals. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, n.9, p.889–895, 2001.
- BODDEY, R.M.; SÁ, J.C.D.M.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. The contribution of biological nitrogen fixation for sustainable agricultural systems in tropics. **Soil Biol. Biochem.** 1997, 29, 787–799.
- BORDONAL, R. D O.; CARVALHO, J. L. N.; LAL, R.; FIGUEIREDO, E. B.; OLIVEIRA, B. G. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agron. Sustain. Dev.** 38, 13, 2018. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>

BOSSOLANI, J.W.; LEITE, M.F.; MOMESSO, L.; TEN BERGE, H.; BLOEM, J.; KURAMAE, E.E. Nitrogen input on organic amendments alters the pattern of soil–microbe–plant co-dependence. **Sci. Total Environ.** 890, 164–347, 2023.

BYRT, C. S.; GROF, C. P. L.; FURBANK, R. T. C4 Plants as Biofuel Feedstocks: Optimising Biomass Production and Feedstock Quality from a Lignocellulosic Perspective. **Journal of Integrative Plant Biology**, 53, 120–135, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.01023.x>

CAMELO, A.; BARRETO, C.P.; VIDAL, M.S.; ROUWS, J.R.C.; DA SILVA LÉDO, F.J.; SCHWAB, S.; BALDANI, J.I. Field response of two seed propagated elephant grass genotypes to diazotrophic bacterial inoculation and in situ confocal microscopy colonization analyses. **Symbiosis**, 83, 41–53, 2021.

CAVALCANTI, E.J.; CARVALHO, M.; DA SILVA, D. R. Energy, exergy and exergoenvironmental analyses of a sugarcane bagasse power cogeneration system. **Energy Convers. Manag.**, 222, 113-232, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113232>

CBIE. **Como a biomassa se transforma em energia elétrica?** 2019. Disponível em: <https://cbie.com.br/artigos/como-a-biomassa-se-transforma-em-energia-eletrica/>. Acesso em junho de 2024.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB 2021). **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-Açúcar**, v. 8 - Safra 2020/21, n. 3 - Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-63, 2021. Disponível em <http://www.conab.gov.br/>.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB 2023). **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-Açúcar**, v. 10 - Safra 2022/23, n4/Quarto levantamento, Brasília, 1-49. Acesso em 12 Jan 2023.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB 2025). **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-Açúcar**, v. 13 - Safra 2025/26, n. 3 - Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-64, 2025. Disponível em <http://www.conab.gov.br/>.

da SILVA, E.L.; da SILVA, J.F.C.; VÁSQUEZ, H.M.; DE ANDRADE, E.M.; DEMINICIS, B.B.; DE MORAIS, J.P.G.; COSTA, D.P.B.; ARAÚJO, S.A.C. Características agronômicas e nutritivas das principais cultivares de capim-elefante do Brasil. **Vet. Zootec.** 2010, 17, 324–334.

DAROS, E; OLIVEIRA, R. A.; BARBOSA, G. V. S. **45 anos de variedades RB de cana-de-açúcar: 25 anos de Ridesa**. 1. ed. – Curitiba: Graciosa, 2015. 156 p. Vários autores. ISBN: 978-85-66456-08-0.

de ALCANTARA, R. M. C. M.; de SOUSA, S. R.; XAVIER, G. R.; de MOURA ROCHA, M.; RUMJANEK, N. G. **Mecanismo bioquímicos, fisiológicos e moleculares relacionados com a eficiência de uso de nitrogênio em leguminosas e gramíneas**. Embrapa Meio-Norte. 39p, ISSN 0104- 866X; 195, 2009.

de CARVALHO, E. X.; MENEZES, R. S. C.; FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. S.; NETO, D. E. S.; TABOSA, J. N.; PRIMO, D. C.; QUEIROZ, R. O. The ^{15}N natural abundance technique to assess the potential of biological nitrogen fixation (BNF) in some important C4 grasses. **Aust. J. Crop Sci.** 2017, 11, 1559–1564.

de OLIVEIRA, A.P.M.; FUGANHOLI, N. S.; CUNHA, P. H.; BARELLI, V. A.; BUNEL, M. P. M.; NOVAZZI, L. F. Technical and economical analysis of renewable energy. **J. Eng. Exact Sci.** 2018, 4, 0163–0169.

de SOUZA, C. C.; LEANDRO, J. P.; dos REIS NETO, J. F.; FRAINER, D. M.; CASTELÃO, R. A. Cogeneration of electricity in sugar-alcohol plant: Perspectives and viability. **Renew Sustain Energy Rev**, 91, 832-837, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.047>

EPE, Empresa de Pesquisa Energética. **Balanco Energético Nacional 2025: ano base 2024** – Relatório Síntese. Rio de Janeiro: EPE, 2025. 74p.

FLORES, R. A.; URQUIAGA, S. S.; ALVES, B. J. R.; COLLIER, L. S.; MORAIS, R. F.; PRADO, R. M. Adubação nitrogenada e idade de corte na produção de matéria seca do capim-elefante no Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.12, 2012.

HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; BODDEY, R. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant Soil**, p 311:1–18, 2008.

LADHA, J. K.; PATHAK, H.; KRUPNIK, T. J.; SIX, J.; VAN KESSEL, C. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects. **Advances in Agronomy**, 2005, 87, 85–156.

- LADHA, J. K.; PEOPLES, M. B.; REDDY, P. M.; BISWAS, J. C.; BENNETT, A.; JAT, M. L.; KRUPNIK, T. J. Biological nitrogen fixation and prospects for ecological intensification in cereal-based cropping systems. **Field Crops Res.** 2022, 283, 108–541.
- LATIRI-SOUKI, K.; NORTCLIFF, S.; LAWLOR, D.W. Nitrogen fertilizer can increase dry matter, grain production and radiation and water use efficiencies for durum wheat under semi-arid conditions. **Eur. J. Agron.** 9, 21–34, 1998.
- LINO, A. C. M. **Fixação biológica de nitrogênio em soqueira de cana-de-açúcar com Azospirillum brasilense e na compatibilidade com agroquímicos.** Dissertação de Mestrado, UFU. 2018. 79 f. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/21461>
- MANHÃES, C. M. C.; GARCIA, R. F.; FRANCELINO, F. M. A.; FRANCELINO, H. O.; COELHO, F. C. Fatores que afetam a brotação e o perfilhamento da cana-de-açúcar. **Revista Vértices**, 17, 163–181, 2015.
- MARAFON, A. C.; CÂMARA, T. M. M.; SANTIAGO, A. D.; RANGEL, J. D. A. Potencial de produção de biomassa de clones de capim-elefante com fins energéticos na região dos Tabuleiros Costeiros. **RenovEnergia'14**, 36, 1–3, 2014.
- MARAFON, A. C.; SANTIAGO, A. D.; AMARAL, A. F. C.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L.; GUIMARAES, V. S. **Uso da Biomassa para Geração de Energia. Documentos/Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 1–29, 2016. Doi 10.13140/RG.2.2.29341.51687
- MARAFON, A.; MACHADO, J.; AMARAL, A.; GUIMARÃES, V. D. S.; dos SANTOS, J. P. **Frequência de corte em genótipos de capim-elefante na produção de biomassa para fins energéticos.** 2019. Doi 10.13140/RG.2.2.18751.87207
- MARAFON, A.; MACHADO, J.; dos SANTOS, J. P.; GUIMARAES, V. D. S. **Desenvolvimento radicular, produção e qualidade da biomassa em variedades de capim-elefante na Zona da Mata de Alagoas. Boletim de Pesquisa/Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2022. Doi 10.13140/RG.2.2.36165.93922
- MARAFON, A. Cultivo dedicado de capim-elefante para uso energético da biomassa. **Rev. Biomassa** (6) 60, 2022.
- MARIN, F. R.; LOPES-ASSAD, M. L.; ASSAD, E. D.; VIAN, C. E.; SANTOS, M. C. Sugarcane crop efficiency in two growing seasons in São Paulo State, Brazil. **Pesquisa**

Agropecuária Brasileira, 2008, 43, 1449–1455. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001100002>

MARTINS, D. S.; REIS, V. M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; PEREIRA, W.; BODDEY, R. M. Both the contribution of soil nitrogen and of biological N₂ fixation to sugarcane can increase with the inoculation of diazotrophic bacteria. **Plant Soil**, 454, 155–169, 2020.

MISTURA, C.; FAGUNDES, J. L.; FONSECA, L. M.; MOREIRA, C. L. M.; JÚNIOR, D. M.; JÚNIOR, J. R. Disponibilidade e qualidade do capim-elefante com e sem irrigação adubado com nitrogênio e potássio na estação seca. **Rev. Bras. Zootec**, 35, 372–379, 2006.

MONTEIRO, E. C.; SILVA, C. G. N.; MARTINS, M. R.; REIS, V. M.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Strategy for the sampling of sugarcane plants for the reliable quantification of n₂ fixation using ¹⁵N natural abundance. **J. Soil Sci. Plant Nutr.** 21, 2741–2752, 2021.

MORAIS, R. F.; ZANETTI, J. B.; JANTALIA, C. P.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J.; URQUIAGA, S. Produção e qualidade da biomassa de diferentes genótipos de capim-elefante cultivados para uso energético. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v 4, n 2, 2009.

MORAIS, R. F.; SOUZA, B. J.; LEITE, J. M.; SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Elephant grass genotypes for bioenergy production by direct biomass combustion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 44, 133–140, 2009.

MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant Soil**, 356, 23–34, 2012.

OLIVEIRA, A. P. M.; FUGANHOLI, N. S.; de SOUZA, P. H. C.; BARELLI, V. A.; BUNEL, M. P. M.; NOVAZZI, L. F. Technical and economical analysis of renewable energy. **J Eng Exact Sci**, 4:0163-0169, 2018. <https://doi.org/10.18540/jcecvl4iss1pp0163-0169>

OLIVEIRA, B. G.; LOURENÇO, K. S.; CARVALHO, J. L. N.; GONZAGA, L. C.; TEIXEIRA, M. C.; TAMARA, A. F.; JOHNNY, R.; SOARES, J. R.; CANTARELLA, H. New trends in sugarcane fertilization: Implications for NH₃ volatilization, N₂O emissions and crop yields. **J Environ Manage**, 342, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118233>

PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; SCHULTZ, N.; REIS, V. M. Sugarcane Productivity as a Function of Nitrogen Fertilization and Inoculation with Diazotrophic Plant Growth-Promoting Bacteria. **Sugar Tech**, 21. 71–82, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12355-018-0638-7>

POHIT, S.; BISWAS, P. K.; KUMAR, R.; JHA, J. International experiences of ethanol as transport fuel: Policy implications for India. **Energy Policy** 37, 4540–4548, 2009 <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2009.06.010>

QUESADA, D. M.; FRADE, C.; RESENDE, A.; POLIDORO, J. C.; REIS, V. M.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; XAVIER, D. A fixação biológica de nitrogênio como suporte para a produção de energia renovável. In: **Proceedings of the 3. Encontro de Energia No Meio Rural, Campinas/SP (Brazil)**, 12-15, 2000.

QUESADA, D. M.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. **Parâmetros qualitativos de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para a produção de energia através da Biomassa**. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia, 2004. 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Circular Técnica, 8).

RAMOS, R.C. e NACHILUK, K. **Geração de Bioenergia de Biomassa da Cana-de-açúcar nas Usinas Signatárias ao Protocolo Agroambiental Paulista, Safra 2015/2016**. Instituto de economia agrícola (IEA), v. 12, n. 4, 2017.

REID, W. V.; ALI, M. K.; FIELD, C. B. **O futuro da bioenergia**. Biologia da mudança global. v. 26, n. 1, pág. 274-286, 2020.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; URQUIAGA, S. Recomendação de uma mistura de estirpes de cinco bactérias fixadoras de nitrogênio para inoculação de cana-de-açúcar: *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR 11281), *Herbaspirillum seropedicae* (BR 11335), *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BR 11504), *Azospirillum amazonense* (BR 11145) e *Burkholderia tropica* (BR 11366). **Circ. Técnica Embrapa 2009**, 30, 1-4.

RIBEIRO, G. F.; JUNIOR, A. B. The global energy matrix and use of agricultural residues for bioenergy production: A review with inspiring insights that aim to contribute to deliver solutions for society and industrial sectors through suggestions for future research. **Waste Manag. Res.**, 41, 1283–1304, 2023

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da Cana-de-açúcar**. 69p. Botucatu-SP: Universidade Federal Paulista, UNESP, 1995.

- RODRIGUES, L. R. de A.; PEDREIRA, J. V. S.; MATTOS, H. B. de. Adaptação ecológica de algumas plantas forrageiras. *Zootecnia, Nova Odessa*, v.13, n.4, p. 201-218, 1975.
- SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Productivity and ^{15}N isotope dilution of sugarcane inoculated with diazotrophic bacteria. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51:1594-160, 2016. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000900059>
- SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; da SILVA, P. A.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Yield of sugarcane varieties and their sugar quality grown in different soil types and inoculated with diazotrophic bacteria consortium. *Plant Prod Sci*, 20:366–374, 2017. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2017.1374869>
- SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; de ALBUQUERQUE SILVA, P.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Yield of sugarcane varieties and their sugar quality grown in different soil types and inoculated with a diazotrophic bacteria consortium. *Plant Prod. Sci.*, 20, 366–374, 2018.
- SCUDELETTI, D.; CRUSCIOL, C. A. C.; MOMESSO, L.; BOSSOLANI, J. W.; MORETTI, L. G.; OLIVEIRA, E. F.; HUNGRIA, M. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a strategy to enhance sugarcane biomass production and bioenergy potential. *European Journal of Agronomy*, 144:126, 749, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2023.126749>.
- SHEARER, G.; KOHL, D. H. N_2 fixation in field settings: estimations based on natural ^{15}N abundance. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13, 699-756, 1986. <https://doi.org/10.1071/PP9860699>
- SILVA, T. G. F. D.; MOURA, M. S. B. D.; ZOLNIER, S.; SOUZA, L. S. B. D. Biomassa seca acumulada, partições e rendimento industrial da cana-de-açúcar irrigada no Semiárido brasileiro. *Revista Ceres*, 61, 686-696, 2014. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461050012>
- SOUMARE, A.; DIEDHIOU, A. G.; THUITA, M.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; GOPALAKRISHNAN, S.; KOUISNI, L. Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route Towards a Sustainable Agriculture. *Plants*, 11, 1011, 2020.
- THIENGO, C. C.; GALINDO, F. S.; BERNARDES, J. V. S.; da ROCHA, L. O.; da SILVA, C. D.; BURAK, D. L.; LAVRES, J. Nitrogen fertilization regulates crosstalk between marandu palisadegrass and *Herbaspirillum seropedicae*: An investigation based on ^{15}N isotopic analysis and root morphology. *Environmental Research*, 249, 118–345, 2024.

THIENGO, C. C.; GALINDO, F. S.; RODAK, B. W.; BERNARDES, J. V. S.; da ROCHA, L. O.; GAZIOLA, S. A.; AZEVEDO, R. A.; BURAK, D. L.; OLIVARES, F. L.; LAVRES, J. Harnessing plant growth-promoting bacteria (*Herbaspirillum seropedicae*) from an optimal mineral nitrogen supply: A study on improving nitrogen use efficiency in marandu palisadegrass. **Plant Physiol Biochem.**, 10, 109–497, 2025.

TYAGI, J.; AHMAD, S.; MALIK, M. Nitrogenous fertilizers: Impact on environment sustainability, mitigation strategies, and challenges. **Int. J. Environ. Sci. Technol.** 2022, Doi 10.1007/s13762-022-04027-9.

UNKOVICH, M. J.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; CHALK, P. **Measuring Plant-associated Nitrogen Fixation in Agricultural Systems**. N°136, 2008.

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

URQUIAGA, S.; JANTALIA, C. P.; RESENDE, A. D.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade de sistemas agrícolas na América Latina. **Embrapa Informação Tecnológica**, 181–200, 2006.

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

VIDEIRA, S. S.; de OLIVEIRA, D. M.; de MORAIS, R. F.; BORGES, W. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant Soil**, 356, 51–66, 2012.

WIESBERG, I. L.; DE MEDEIROS, J. L.; de MELLO, R. V. P.; MAIA, J. G. S.; BASTOS, J. B. V.; ARAÚJO, O. D. Q. F. Bioenergy production from sugarcane bagasse with carbon capture and storage: Surrogate models for techno-economic decisions. **Renew Sustain Energy Rev**, 150, 111-486, 2021.

ZANETTI, J.B.; MORAIS, R.F.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; SOARES, L.H.B. Balanço de energia na produção de capim-elefante em condições experimentais. **Boletim de Pesquisa de Desenvolvimento**. 2010, 71, 18p.