

Eficiência agronômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1676-6709

Novembro/2009

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 45

Eficiência agronômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo

Veronica Massena Reis
Segundo Urquiaga
Willian Pereira
Marinete Flores da Silva
Guilherme Hipólito
Renan Pedula Oliveira
Rafael Fiusa de Moraes
Jose Marcos Leite
Nivaldo Schultz
Rafael Bucke Baptista

*Seropédica – RJ
2009*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia

BR 465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 3441-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê Local de Publicações: Norma Gouvea Rumjanek (Presidente)

José Ivo Baldani

Guilherme Montandon Chaer

Luis Henrique Barros Soares

Bruno José Rodrigues Alves

Ednaldo Araújo

Carmelita do Espírito Santo (Bibliotecária)

Expediente:

Revisores e/ou ad hoc: José Ivo Baldani e Stefan Schwab

Normalização Bibliográfica: Carmelita do Espírito Santo

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2009): 50 exemplares

R375e Reis, Veronica Massena.

Eficiência agrônômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo. / Veronica Massena Reis et al. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009. 22 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa & Desenvolvimento, 45).

ISSN 1676-6709

1. Inoculante. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Cana planta. I. Urquiaga, S. II. Pereira, W. III. Silva, M. F. IV. Hipólito, G. V. Oliveira, R. P. VI. Moraes, R. F. VII. Leite, J.M. VIII. Schutz, N. IX. Título. X. Embrapa Agrobiologia. XI. Série.

CDD 633.61

Autores

Veronica Massena Reis

Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, C. Postal 74.505, BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23851-970. e-mail: veronica@cnpab.embrapa.br

Segundo Urquiaga

Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, C. Postal 74.505, BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23851-970. e-mail: urquiaga@cnpab.embrapa.br

Willian Pereira

Estudante de Mestrado da UFRRJ, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Marinete Flores da Silva

Doutora em Ciência do Solo da UFRRJ, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Guilherme Hipólito

Estudante de Graduação da UFRRJ, Instituto de Agronomia. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Renan Pedula Oliveira

Estudante de Graduação da UFRRJ, Instituto de Agronomia. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Rafael Fiusa de Moraes

Doutorando em Ciência do Solo da UFRRJ, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Jose Marcos Leite

Estudante de Graduação da UFRRJ, Instituto de Agronomia. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Nivaldo Schultz

Doutorando em Ciência do Solo da UFRRJ, Instituto de Agronomia, Departamento de Solos. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

Rafael Bucke Baptista

Estudante de Graduação da UFRRJ, Instituto de Agronomia. BR 465 km 07, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000.

SUMÁRIO

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Introdução	9
Material e Métodos.....	10
Local 1: Campo dos Goytacazes	11
Local 2. Seropédica	12
Resultados	12
Conclusões	20
Referências Bibliográficas	20

Eficiência agronômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo¹

*Veronica Massena Reis
Segundo Urquiaga
Willian Pereira
Marinete Flores da Silva
Guilherme Hipólito
Renan Pedula Oliveira
Rafael Fiusa de Moraes
Jose Marcos Leite
Nivaldo Schultz
Rafael Bucke Baptista*

Resumo

A inoculação de cana-de-açúcar utilizando bactérias diazotróficas selecionadas pode reduzir a demanda de nitrogênio fertilizante na cultura. O objetivo deste trabalho foi testar o inoculante contendo uma mistura de cinco espécies de bactérias diazotróficas em duas variedades de cana-de-açúcar, RB72454 e RB867515, plantadas em três locais sendo duas usinas produtoras de açúcar do Estado Rio de Janeiro e o terceiro no Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia. No primeiro ano de plantio no campo, apenas a variedade RB867515 respondeu a inoculação utilizando a mistura de estirpes.

Palavras chaves: cana-de-açúcar, bactérias diazotróficas, nitrogênio, fixação biológica

¹ Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), projeto 420274/2005-7 e 52820/2007-5 e CT-Agro (processo 480178/05-4) e bolsas de produtividade de pesquisa do primeiro autor e pela Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) – bolsa Cientista do Nosso Estado. Os autores também agradecem a CAPES e ao CNPq pelas bolsas de iniciação científica, mestrado e doutorado dos estudantes e ao curso de pós-graduação em Ciência do Solo da UFRRJ.

Agronomic efficiency of the sugarcane inoculant applied in three field assays planted in Rio de Janeiro State during the just year

Abstract

Sugarcane inoculation using selected diazotrophic bacteria can reduce the nitrogen fertilizer applied in this crop. The aim of this work was to test the inoculant containing a mixture of five species of diazotrophic bacteria using two sugarcane varieties; RB72454 e RB867515, planted in three experimental fields localized in two sugar industries of Rio de Janeiro State and one in the Experimental Field Station of Embrapa Agrobiologia. In the first year, only the variety RB867515 responded to the inoculation using the bacterial mixture.

Keys words: sugarcane, diazotrophic bacteria, nitrogen, biological fixation

Introdução

O nitrogênio é um dos nutrientes mais diretamente relacionados com o rendimento das culturas, sendo especialmente crítico em solos tropicais e subtropicais. No caso da cultura de cana, que demanda grandes quantidades de N, a produção da cultura depende da disponibilidade de N do solo, do adubo aplicado e da contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN), como tem sido demonstrado em variedades eficientes para esta característica. A dependência do uso de adubos nitrogenados, devido ao alto consumo de energia fóssil necessária para sua síntese, pode inviabilizar a manutenção de qualquer programa bioenergético. Frente a esse problema, os estudos desenvolvidos na Embrapa Agrobiologia têm demonstrado que bactérias diazotróficas associadas naturalmente à cultura de cana-de-açúcar conseguem contribuir com até 60% das necessidades de N da cultura (BODDEY et al., 2003; URQUIAGA et al., 1992)

A cana-de-açúcar é plantada no Brasil desde 1.600 e atualmente é o único país a implantar, em larga escala, um programa bioenergético baseado na produção de etanol derivado da cultura de cana-de-açúcar, para uso como combustível renovável para substituição da gasolina, além de ser o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, que ocupa atualmente mais de 7,7 milhões de hectares, área esta que corresponde a mais de 35% da área canavieira mundial. Esta cadeia produtiva emprega mais de 1 milhão de empregos rurais e gera, além do açúcar e do álcool combustível, uma série de outros subprodutos como o bagaço utilizado como combustível nas usinas como na co-geração de energia elétrica, além de ser utilizado como um condicionador de solo juntamente com a vinhaça e a torta de filtro.

Esta cultura é capaz de se associar com uma grande diversidade de bactérias diazotróficas e obter contribuições efetivas de N do ar através do processo de redução do nitrogênio atmosférico, processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio. A descoberta de bactérias endofíticas colonizando plantas de cana-de-açúcar em populações elevadas como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (REIS et al., 1994), *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* (OLIVARES et al., 1996) espécies do gênero *Azospirillum* e novas espécies do gênero *Burkholderia* (REIS et al., 2004; PERIN et al., 2006) apresentam diferentes características ecológicas e fisiológicas e colonizam a planta desde as suas raízes e podem ser isoladas de

amostras de colmos e folhas. Esta grande diversidade dificulta o entendimento da associação e existem diferentes características da interação com a planta, que depende da variedade e do ambiente.

Após 20 anos de pesquisa a Embrapa Agrobiologia lançou em 2008 o primeiro inoculante de bactérias diazotróficas para esta cultura. Os estudos sobre a eficiência e o impacto na nutrição nitrogenada da cultura estão em andamento.

Este Boletim Técnico visa apresentar os dados dos primeiros ensaios de inoculação de cana-de-açúcar implantados no Estado do Rio de Janeiro, de forma a mostrar para o agricultor a viabilidade de utilização deste produto selecionado para a aplicação na cana-planta.

Material e Métodos

O plantio de cana-de-açúcar foi feito com toletes contendo três gemas e oriundos de plantas derivadas de mudas micropropagadas, as quais receberam os seguintes tratamentos de inoculação com bactérias diazotróficas:

1. Toletes provenientes de plantas que não foram inoculadas “in vitro” (controle absoluto);
2. Toletes de plantas que foram inoculadas “in vitro” e re-inoculadas no campo (padrão);
3. Toletes de plantas que foram inoculadas apenas “in vitro” (“in vitro”) e
4. Toletes de plantas que não foram inoculadas “in vitro”, mas foram adubadas com 120 kg ha⁻¹ de N-fertilizante na forma de uréia (controle nitrogenado).

Estas plantas foram produzidas na Estação Experimental da UFRRJ – Campus Leonel Miranda localizado em Campos dos Goytacazes, RJ. Ao final da fase de enraizamento, as plantas mantidas em condições controladas (*in vitro*), foram inoculadas conforme descrito por REIS et al. (1999). Cada frasco com capacidade de 250 mL recebeu 0,1 mL de cada cultura microbiana, com densidade ajustada de 10⁸ células por mL, inoculado em 50 mL de meio de cultivo utilizado para micropropagar as plantas (MURASHIGE e SKOOG, 1962 modificado) onde todos os nutrientes, exceto hormônios e ácido cítrico que são

omitidos e a concentração de todos os sais e a sacarose foram diluídos 10 vezes. O uso deste meio diluído permitiu a colonização das plantas em um intervalo máximo de sete dias. A seguir as plantas foram transferidas para a fase de aclimatização, quando foram plantadas em caixas tipo Plantágil®, usada como suporte. Após seis meses, foram transplantadas para o solo no campus experimental da UFRRJ. Estas plantas cresceram por 18 meses e o material propagativo foi então utilizado para o plantio das três áreas experimentais descritas neste boletim.

Para a inoculação foi usado um coquetel contendo cinco estirpes de bactérias diazotróficas: BR 11281^T de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, BR11145 de *Azospirillum amazonense*, BR11335 de *Herbaspirillum seropedicae*, BR 11504 de *H. rubrisubalbicans* e BR11366^T de *Burkholderia tropica*. Todas as bactérias do inoculante foram cultivadas em meio líquido seguindo a metodologia descrita por Oliveira *et al.* (2002). Por ocasião do plantio, os colmos foram divididos em toletes de três gemas e imersos na solução contendo o inoculante por um período de 30 a 60 min. O inoculante foi preparado no momento do plantio, quando foi feita a mistura das cinco estirpes diluída 1/100 (p/v) em água.

Local 1: Campo dos Goytacazes

Foram realizados dois experimentos em condições de campo no município de Campos de Goytacazes, na Usina Santa Cruz num Cambissolo e na Usina Sapucaia em um Argissolo. Os experimentos foram conduzidos seguindo um arranjo fatorial com distribuição de blocos ao acaso, empregando duas variedades de cana-de-açúcar: RB72454 e RB867515, com quatro tratamentos (inoculado e não inoculado x 2 variedades) e quatro repetições por tratamento. As parcelas foram distribuídas em quatro linhas de 4 m de comprimento, espaçadas de 1,40 m, totalizando uma área de 22,4 m² para cada parcela. A adubação aplicada foi de 400 kg ha⁻¹ da formulação 04-30-20. Deve-se destacar que foi aplicado o equivalente a 15 e 30 t ha⁻¹ de torta de filtro no fundo dos sulcos no momento do plantio, nas usinas Sapucaia e Santa Cruz, respectivamente. Foram plantadas 12 gemas por metro linear e colocadas no fundo dos sulcos de plantio.

Aos 18 meses após o plantio foi avaliado o rendimento de colmos de cada parcela. O material foi separado em colmo, palha e ponteiros (folhas verdes) que foram pesadas frescas no campo e a seguir

retiradas amostras para avaliação de biomassa seca, além do acúmulo de N-total pelo método de Kjeldal (ALVES et al., 1999). Os resultados coletados foram avaliados estatisticamente pelo programa SISVAR.

Local 2. Seropédica

O experimento foi implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia (Seropédica, RJ) em um solo classificado como Planossolo háplico, de baixa fertilidade natural, especialmente em nitrogênio (0,06%). O solo foi arado e gradeado e 500 kg calcário mineral com 100% PRNT foram aplicados por hectare. Os fertilizantes foram aplicados no fundo do sulco, nas doses de 100 kg P_2O_5 ha⁻¹ como superfosfato simples, 80 kg K_2O ha⁻¹ como cloreto de potássio e 50 kg de micronutrientes FTE BR12. Cada parcela foi composta de 4 linhas de 4 m linear, com espaçamento de 1,10 m entre linhas totalizando 32 parcelas de 17,6 m². A área útil de cada parcela (8,8 m²) foi composta de 2 linhas centrais. Foram plantadas 12 gemas por metro linear. No tratamento adubado foram efetuadas três aplicações em cobertura de 40 kg N ha⁻¹ como uréia aos 30, 90 e 120 DAP (dias após o plantio).

Durante a colheita da cana foram consideradas as duas linhas centrais de cada parcela (área útil), sendo que, a parte aérea das plantas de cana-de-açúcar foi separada em colmo, ponteiros (folhas verdes) e palha (folhas secas). Estimou-se a produtividade da lavoura (rendimento de colmos frescos) e fitomassa fresca dos ponteiros e da palha, através de pesagem em campo. Em seguida foram retiradas amostras que foram pesadas, levadas à estufa de secagem a 65°C até estabilização de seus pesos, as amostras foram novamente pesadas para determinação da matéria seca e N-total em cada parte, sendo o nitrogênio analisado pelo método semi-micro Kjeldahl (ALVES et al., 1999).

Resultados

De uma forma geral, os valores de produtividade de colmos das duas variedades nos três locais, não diferiram entre si, embora os valores observados na coleta da Usina Santa Cruz apresentaram uma tendência de maiores rendimentos e os menores foram observados na Usina Sapucaia.

A aplicação do produto inoculante contendo a mistura das cinco estirpes e aplicado por imersão no plantio e na fase de micropropagação (tratamento *in vitro*), foi superior na variedade RB867515, para o experimento implantado na Usina Sapucaia. Nos ensaios colhidos na Usina Santa Cruz e Seropédica, embora a diferença não seja estatística, a cultura produziu mais de 150 Mg ha⁻¹ quando inoculada “*in vitro*” e a mesma quantidade quando recebeu 120 kg de N por hectare. O mesmo tratamento no ensaio implantado em Seropédica rendeu 28 Mg ha⁻¹ comparado com o mesmo controle com adição de N-fertilizante. Nesta mesma variedade, a forma de inoculação foi superior ao controle não inoculado e igual ao tratamento nitrogenado, se compararmos as médias dos três locais, mostrando a efetividade da inoculação nesta variedade. Infelizmente no caso da variedade RB72454 não houve resposta a adição do fertilizante e nem a inoculação.

É de se destacar que este alto rendimento da cultura nestes experimentos foi reflexo do melhoramento das técnicas de manejo da cultura na região, aonde atualmente vem-se aplicando torta de filtro e adequada adubação. Em Campos dos Goytacazes, a média de rendimento da cultura fica em torno de 60 Mg ha⁻¹ e nestes dois ensaios a produtividade foi superior a 100 Mg.

Esta mesma mistura de cinco estirpes foi testada em três locais por Oliveira et al. (2006). Os ensaios foram implantados Jaú, Piracicaba e também na mesma Estação Experimental da Embrapa Agrobiologia e as variedades avaliadas foram SP701143 e SP813250. A resposta a inoculação “*in vitro*” também foi dependente do local de plantio e da variedade utilizada, sendo superior no solo de menor fertilidade natural (Planossolo).

Outros estudos de inoculação também observaram que a resposta a inoculação pode variar com a estirpe e espécie utilizada. Canuto et al. (2003) estudando a inoculação das estirpes BR11509, BR11281 de *Gluconacetobacter diazotrophicus* e BR11335, BR11380, BR11510 de *Herbaspirillum seropedicae*, sobre a produção de fitomassa seca total de cana-de-açúcar oriundas de sementes, cruzamento de SP 701143 x Co421, verificaram que a inoculação das estirpes BR11509, BR11380 e BR11335 promoveu as maiores produções, ao redor de 54 kg ha⁻¹ de fitomassa seca, sendo superior as plantas não inoculadas, porém inferior a produção de fitomassa seca das plantas adubadas.

Tabela 1: Avaliação do rendimento de colmos de dois genótipos de cana de açúcar sob diferentes tratamentos de inoculação e ambientes, em cana-planta.

Tratamentos	Produtividade de colmos frescos (Mg ha ⁻¹)			Média
	Usina Santa Cruz	Usina Sapucaia	Agrobiologia Seropédica	
	Cambissolo	Argissolo	Planossolo	
Variedade RB 72454				
Controle absoluto	172,4 Aa	141,2 Ba	143,5 Ba	152,4 a
Controle nitrogenado	177,7 Aa	145,1 Ba	140,6 Ba	154,5 a
Inoculação "in vitro"	153,1 Aa	139,3 Aa	153,3 Aa	148,6 a
Inoculação padrão	154,1 Aa	136,1 Aa	147,8 Aa	146,1 a
Média	164,3	140,4	146,3	
Variedade RB 867515				
Controle absoluto	132,8 Aa	103,8 Bb	135,9 Aa	124,2 b
Controle nitrogenado	157,7 Aa	130,4 Ba	129,5 Ba	139,2 a
Inoculação "in vitro"	152,9 Aa	109,8 Bb	157,7 Aa	140,1 a
Inoculação padrão	142,9 Aa	142,3 Aa	141,4 Aa	142,2 a
Média	146,6	121,6	141,1	
CV %	13,04			

Os valores de cada tratamento x ambiente são oriundos de 4 repetições. Os valores da média são oriundos de 12 e 16 repetições. Valores seguidos das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5 % de significância.

Prado Jr. (2008) testaram duas variedades de cana-de-açúcar, a mesma RB72454 e outra variedade do Instituto Agrônomo de Campinas, a IACSP936006. Ambas foram também inoculadas com a espécie *G. diazotrophicus* (estirpe BR11281) em condições de campo. O autor descreveu os resultados positivos principalmente para a var. RB72454 inoculada com uma concentração ao redor de 10⁷ células mL⁻¹. Neste caso a aplicação foi feita por pulverização no momento do corte no sulco de plantio e este modo de aplicar a bactéria favoreceu o crescimento da planta.

Na tabela 2 são apresentados os resultados de acúmulo de matéria seca de palhada e ponteiros nas duas variedades. De uma forma geral, a produção de palhada e ponteiros refletem a produção de colmos, sendo a usina Sapucaia a que produziu menores valores. A produção de palha e ponteiros não foi influenciada pela aplicação do inoculante para as duas variedades testadas e nem respondeu a adição de N-fertilizante. Apenas no ensaio implantado em Seropédica, onde o plantio não recebeu torta de filtro, a aplicação do inoculante no plantio rendeu 1 Mg ha⁻¹ a mais que o controle nitrogenado na variedade RB72454 e 2 Mg ha⁻¹ a mais na variedade RB867515, sendo que

neste ensaio os valores absolutos foram também superiores aos dois outros ensaios conduzidos nas usinas.

Tabela 2: Produção de matéria seca de palhada e ponteiros de duas variedades de cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos de inoculação e locais experimentais em cana-planta.

Tratamentos	Matéria seca de palhada e ponteiros (Mg ha ⁻¹)			
	Usina Santa Cruz	Usina Sapucaia	Agrobiologia Seropédica	Média
	Cambissolo	Argissolo	Planossolo	
Variedade RB 72454				
Controle absoluto	20,4 Aa	14,6 Aa	17,9 Aa	17,6 a
Controle nitrogenado	20,1 Aa	11,9 Ba	20,7 Aa	17,5 a
Inoculação "in vitro"	15,7 Aa	12,3 Aa	18,5 Aa	15,5 a
Inoculação padrão	16,9 Ba	12,3 Ba	21,6 Aa	16,9 a
Média	18,3	12,8	19,7	
Variedade RB 867515				
Controle absoluto	13,0 Ba	11,1 Ba	22,1 Aa	15,4 a
Controle nitrogenado	18,1 Aa	12,2 Ba	18,2 Aa	16,2 a
Inoculação "in vitro"	16,2 Ba	11,8 Ba	20,7 Aa	16,2 a
Inoculação padrão	14,1 Ba	11,6 Ba	20,8 Aa	15,5 a
Média	15,3	11,7	20,4	
CV %	21,00			

Os valores de cada tratamento x ambiente são oriundos de 4 repetições. Os valores médios são oriundos de 12 e 16 repetições. Valores seguidos das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5 % de significância.

Embora a palhada não seja utilizada na indústria para produzir açúcar e álcool, ela é um ótimo condicionador de solo, aumentando a retenção de água e nutrientes. Este efeito na produção de palha e ponteiros pode ser vantajoso no que se refere à co-produção de energia e também para a manutenção de resíduo de matéria orgânica que pode ser deixado no campo para a próxima safra.

Na tabela 3 são apresentados os resultados de acúmulo de matéria seca total dos três ensaios de inoculação. Esta variável também não foi influenciada pela adição do inoculante nem do fertilizante, acompanhado os resultados de acúmulo de biomassa de palha e ponteiros. A diferença foi comparando os locais de plantio. O ensaio implantado em Seropédica produziu mais palhada do que os ensaios na usinas quando inoculado na fase de micropropagação ("in vitro") chegando a produzir 20 Mg ha⁻¹ a mais de fitomassa seca total.

Tabela 3: Acúmulo de matéria seca total em dois genótipos de cana de açúcar sob diferentes tratamentos de inoculação e ambientes, em cana-planta.

Variedade RB 72454								
Tratamentos	Matéria seca total (Mg ha ⁻¹)							
	Usina Santa Cruz		Usina Sapucaia		Agrobiologia Seropédica			
	Cambissolo		Argissolo		Planossolo			
Controle absoluto	69,9	Aa	59,2	Aa	71,3	Aa	66,8	a
Controle nitrogenado	72,5	Aa	59,7	Aa	69,6	Aa	67,2	a
Inoculação “in vitro”	63,5	Ba	62,1	Ba	83,6	Aa	69,7	a
Inoculação padrão	67,2	Aa	59,5	Aa	69,6	Aa	65,4	a
Média	68,3		60,1		73,5			
Variedade RB 867515								
Controle absoluto	58,7	Aa	48,4	Aa	68,7	Aa	58,6	a
Controle nitrogenado	69,6	Aa	61,5	Aa	67,0	Aa	66,1	a
Inoculação “in vitro”	74,0	Aa	51,0	Ba	76,0	Aa	67,0	a
Inoculação padrão	63,7	Aa	64,0	Aa	71,5	Aa	66,4	a
Média	66,5		57,0		70,8			
CV %			16,27					

Os valores de cada tratamento x ambiente são oriundos de 4 repetições. Os valores médios são oriundos de 12 e 16 repetições. Valores seguidos das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5 % de significância.

Se observarmos os valores absolutos de rendimento de fitomassa seca das duas variedades, os dados coletados da inoculação “in vitro” mostraram o acúmulo de 2,5 Mg ha⁻¹ a mais na média dos três locais para a variedade RB72454 e 0,9 Mg ha⁻¹ para a variedade RB867515, comparado ao controle nitrogenado. Esta tendência de aumento foi ainda maior se compararmos ao controle sem adição de N, onde a variedade RB72454 acumulou mais 2,9 Mg ha⁻¹ e a RB867515, mais 7,8. Já para a variedade RB867515, a inoculação “in vitro” produziu 8,4 Mg ha⁻¹ a mais que a testemunha sem adição de N e 0,9 que a nitrogenada.

Na tabela 4 são apresentados os dados de acúmulo de nitrogênio na matéria seca das plantas de cana-de-açúcar. Apenas em um local e com a variedade RB867515 houve diferença da adição do N-fertilizante. Nos outros locais as duas variedades não responderam a

adubação aplicada, mesmo nos valores que foram utilizados. Também na usina Santa Cruz a aplicação do inoculante diminuiu a resposta ao nitrogênio total na variedade RB72454. Se compararmos os locais de plantio, a resposta do nitrogênio teve uma tendência de ser maior no solo mais pobre (Planossolo) acumulando quase 40 kg N ha⁻¹ a mais para a var. RB72454 e 52 kg N ha⁻¹ para a var. RB867515 que as mesmas plantadas na usina Santa Cruz, em um cambissolo e com a aplicação de torta de filtro.

Estudos realizados por Urquiaga et al. (1992) visando à seleção de variedades comerciais de cana-de-açúcar com potencial para fixação biológica de nitrogênio mostraram que entre as dez variedades estudadas, houve um maior acúmulo total de nitrogênio na variedade RB 72-454 de 265 kg N ha⁻¹ em relação às outras cultivares. Este estudo foi realizado sob condições controladas onde se potencializou o rendimento da cultura e com isso a demanda potencial de N pela planta, e ficou demonstrado que nesta cultura existe uma grande variação de comportamento quanto a eficiência para FBN.

Tabela 4: Nitrogênio total acumulado na matéria seca em dois genótipos de cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos de inoculação e ambientes, em cana-planta.

Variedade RB 72454							
Tratamentos	Nitrogênio total na matéria seca (kg ha ⁻¹)						
	Usina Santa Cruz		Usina Sapucaia		Agrobiologia Seropédica		Média
	Cambissolo		Argissolo		Planossolo		
Controle absoluto	228,3	Aa	226,1	Aa	244,8	Aa	233,1 a
Controle nitrogenado	229,5	Aa	212,0	Aa	215,6	Aa	219,0 a
Inoculação "in vitro"	136,4	Bb	236,4	Aa	238,1	Aa	203,6 a
Inoculação padrão	154,0	Ab	201,2	Aa	208,9	Aa	188,0 a
Média	187,0		218,9		226,8		
Variedade RB 867515							
Controle absoluto	136,8	Ba	195,0	Aa	214,7	Aa	182,2 a
Controle nitrogenado	187,7	Aa	178,3	Aa	220,8	Aa	195,6 a
Inoculação "in vitro"	200,1	Aa	183,9	Aa	242,3	Aa	208,7 a
Inoculação padrão	161,5	Aa	181,6	Aa	215,0	Aa	186,0 a
Média	171,5		184,7		223,2		
CV %	20,94						

Os valores de cada tratamento x ambiente são oriundos de 4 repetições. Os valores médios são oriundos de 12 e 16 repetições. Valores seguidos das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5 % de significância.

Trabalhos realizados em outros países mostraram que estirpes de bactérias diazotróficas pertencentes a espécie *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* sp. também podem atuar na promoção do crescimento desta cultura. Muthukumarasamy et al. (1999) avaliaram a inoculação das estirpes T8 de *Gluconacetobacter diazotrophicus* e H22 de *Herbaspirillum* sp sobre a produção de biomassa e acúmulo de nitrogênio nas plantas micropropagadas de cana-de-açúcar variedade Coimbatore - Co 86032. Estes autores verificaram que tanto a inoculação das estirpes como a inoculação das estirpes acompanhada de 140 kg N ha⁻¹ (50% da dose recomendada) promoveram maior acúmulo de biomassa seca por planta sendo que este incremento foi

de 3,35 e 3,39 kg planta⁻¹, respectivamente, e o aumento no conteúdo de nitrogênio acumulado nas plantas foi de 4,31 e 4,21 mg g⁻¹ de massa seca, respectivamente, quando comparado as plantas fertilizadas com a dose recomendada de 280 kg N ha⁻¹ por um período de 180 dias após o plantio.

Leite et al. (2008) estudando a inoculação da mistura de cinco estirpes de bactérias diazotróficas sobre o acúmulo de nitrogênio total das variedades RB72454 e RB867515 na região Norte Fluminense, verificaram que tanto a inoculação quanto a re-inoculação não promoveram incrementos no conteúdo total de nitrogênio na parte aérea da plantas. Entretanto, foi verificado que a variedade RB72454 apresentou um acúmulo de 124 kg N ha⁻¹, sendo 15% superior ao da variedade RB867515. Em números absolutos, os autores observaram maiores acúmulos de N quando as variedades RB72454 e RB867515 foram cultivadas com uma adubação de 120 kg N ha⁻¹ e com a re-inoculação dos toletes. Estes resultados indicam que o efeito da inoculação pode dever-se também ao comportamento de produção de fitohormônios pelas bactérias favorecendo o crescimento das plantas, assunto que merece também intensos estudos.

Se analisarmos os ensaios de inoculação utilizando as duas variedades e os diferentes locais podemos observar a diferença de rendimento e acúmulo de biomassa e nitrogênio e que a adição de N-fertilizante neste primeiro ano não representa maiores ganhos de produção da cultura. Este fato já é descrito na literatura e o produtor não faz uso de quantidades elevadas deste nutriente. A adubação utilizada foi superior a recomendada para dar ênfase a resposta de N pelas variedades testadas frente a aplicação do inoculante.

Outro ponto que deve ser ressaltado neste ensaio foi o de verificar se a inoculação na fase “in vitro” poderia manter a efetividade em um ensaio implantado dois anos após esta aplicação. Podemos dizer que esta prática foi comparável a inoculação no momento do plantio e em alguns casos foi superior. Outro fator aqui observado é que as duas variedades produziram mais de 120 toneladas de colmos frescos por hectare em condições ótimas de nutrientes e que o inoculante pode aumentar esta produtividade, sendo que o local e a variedade utilizada podem modular esta resposta.

Conclusões

1. A inoculação de plantas de cana-de-açúcar promove o crescimento e a produtividade comparada ao controle sem adição de N-fertilizante e é dependente da variedade utilizada e do grau de fertilidade do solo.
2. É possível substituir 100% do N-fertilizante na variedade de cana-de-açúcar RB867515 no primeiro ano de cultivo, sem redução da produtividade.

Referências Bibliográficas

ALVES, B. J. R.; BAÊTA, A. M.; ALVES, J. V. **Protocolo da Embrapa Agrobiologia para análise de nitrogênio em adubos orgânicos, solo e tecidos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 17 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 100).

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

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

LEITE, J. M.; MORAIS, R. F.; BARROS JÚNIOR, J. C.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio em duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com mistura de bactérias diazotróficas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICRORRISAS, 12.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7., 2008, Londrina. desafios para o uso do solo com eficiência e qualidade ambiental. **Fertibio 2008: anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Embrapa Soja; Universidade Estadual de Londrina, 2008. 1 CD ROM.

MUTHUKUMARASAMY, R.; RAVATHI, G.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Influence of N fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* spp. from the Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.29, n.2, p. 157-169, may.1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. Revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962

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

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; URQUIAGA, S.; REIS, V.M.; BALDANI, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, The Hague, v. 284, n. 1-2, p. 23-32, jun. 2006.

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

PERIN, L.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; BALDANI, J. I.; ESTRADA DE LOS SANTOS, P.; REIS, V. M.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia silvatlantica* sp. nov., a diazotrophic bacterium associated with sugarcane and maize. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology**, Reading v. 56, p. 1931-1937, 2006.

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

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

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

REIS, V. M., OLIVARES, F. L., OLIVEIRA, A. L. M., REIS JUNIOR, F. B., BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Technical approaches to inoculate micropropagated sugar cane plants with *Acetobacter diazotrophicus*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 206, p. 205-211, 1999.

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

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

Embrapa

Agrobiologia

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

