

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

DISSERTAÇÃO

**Análise de Crescimento de Cana-de-açúcar
Inoculada com Bactérias Diazotróficas e com
Adubação Nitrogenada**

Renan Pedula Oliveira

2013



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

**ANÁLISE DE CRESCIMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E COM
ADUBAÇÃO NITROGENADA**

RENAN PEDULA OLIVEIRA

Sob a Orientação do Professor
Dr. Segundo Sacramento Urquiaga

e Co-orientação da Professora
Dra. Veronica Massena Reis

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

Seropédica, RJ
Fevereiro, 2013

Renan Pedula Olivira.

Orientador: Segundo Urquiaga

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Instituto de Agronomia

1.– Teses. 2. – . II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto
de Agronomia. III. Título

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

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

RENAN PEDULA OLIVEIRA

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/03/2013

Segundo Urquiaga. Dr. Embrapa Agrobiologia
(Orientador)

Adelson Paulo Araujo. Dr. UFRRJ

José Carlos Polidoro. Dr. Embrapa Solos

AGRADECIMENTOS

A Deus,

A Sandra Regina (Mãe), Ivo Pedula (Pai), Renato Pedula (Irmão) e a Viviane Almeida (Namorada) pela compreensão e paciência.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e a toda equipe do CPGA-CS.

A Dr Veronica Massena Reis e ao Dr Segundo Sacramento Urquiaga pela orientação.

A toda equipe da Embrapa Agrobiologia envolvida no trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

RESUMO

OLIVEIRA, Renan Pedula. **Análise de crescimento de cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas e com adubação nitrogenada.** 2013. 46f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O uso da inoculação de bactérias promotoras de crescimento pode proporcionar maior eficiência no aproveitamento dos nutrientes disponíveis no solo, reduzindo assim os impactos ambientais negativos, decorrentes da adubação química. O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento e o acúmulo de nutrientes (N; P; K; Ca e Mg) pela cultura de cana-de-açúcar, variedade RB92579, submetida a aplicação do inoculante bacteriano lançado pela Embrapa Agrobiologia, no ciclo de cana-planta. O experimento foi instalado em maio de 2011 em um Argissolo localizado no Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos foram 50 kg ha⁻¹ de N; 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação; inoculação e o controle (sem nitrogênio e sem inoculação). As bactérias que compuseram o inoculante foram *Gluconacetobacter diazotrophicus* – estirpe BR 11281, *Herbaspirillum seropedicae* – estirpe BR 11335, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* – estirpe BR 11504, *Azospirillum amazonense* – estirpe BR 11145 e *Bulkholderia tropica* – estirpe BR 11366. As parcelas foram constituídas de 4 linhas, com 5 m de comprimento e espaçadas a 1,2 m. A adubação de plantio foi realizada com base em análise química de solo nas profundidades de 0 a 20 e 20 a 40 cm de profundidade e na exigência nutricional da cultura. As parcelas com 50 kg ha⁻¹ de N receberam adubo enriquecido com 0,8% átomos de 15-N em excesso, para a avaliação do efeito do inoculante na recuperação do N-fertilizante pela planta em cada coleta realizada. Foram efetuadas amostragens de plantas em um metro por parcela aos 100, 130, 168, 212, 261 e 295 dias após o plantio, a fim de se quantificar o acúmulo biomassa, nutrientes e o índice de área foliar. Foram estimadas as taxas de crescimento absoluto, relativo, índice de área foliar e acúmulo de massa seca. Os resultados apontaram para um maior acúmulo de biomassa, índice de área foliar (IAF), taxa de crescimento da cultura (TCC) e taxa de crescimento relativo (TCR) do tratamento submetido à aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N associado à inoculação e inoculado quando comparado com o tratamento controle.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas. Cana-de-açúcar. Análise de crescimento.

ABSTRACT

Oliveira, Renan Pedula. **Growth analysis of cane sugar inoculated with diazotrophs and nitrogen fertilization.** 2013. 46p. Dissertation (Master Science in Agronomy, Soil Science) Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The use of inoculating growth-promoting bacteria can provide a more efficient use of available nutrients in soil; thereby reducing the negative environmental impacts from chemical fertilizer. As the nitrogen, which when added to the soil can make the atmosphere as N₂O, exacerbating the gas emission. The objective of this study was to evaluate the development and accumulation of nutrients (N, P, K, Ca and Mg) by sugarcane variety RB92579, when subjected to the application of microbial inoculants developed by Embrapa Agrobiology during the first crop year. The experiment was conducted in May 2011, in an Ultisol located in the experimental field of Embrapa Agrobiology, Seropédica, RJ. The experimental design was randomized blocks with four replications. Treatments were application of 50 kg N ha⁻¹, 50 kg N ha⁻¹ + inoculation, inoculation and control (0 kg N). Bacteria used as an inoculation were *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* and *Bulkholderia tropica*. The plots consisted of 4 rows; 5 m long and spaced at 1.2 m. Fertilization at planting was based on chemical analysis of soil at depths of 0 to 20 and 20 to 40 cm deep and the nutritional requirements of the crop. Plots with 50 kg ha⁻¹ of N received fertilizer enriched with 0.8% ¹⁵N atoms in excess to evaluate the effect of inoculants in recovering the N-fertilizer by the plant at each harvest performed. The growth analysis was performed by one meter per plot at 100, 130, 168, 212, 261 and 295 days after planting, in order to quantify the accumulation of nutrients and obtain growth rates (absolute growth rate - TAA, relative growth rate - RGR; leaf index area - LIA and dry matter accumulation - MS). The results showed a higher biomass accumulation, leaf area index (LIA), absolute growth rate - TAA, and relative growth rate (RGR) in the treatment underwent application of 50 kg N ha⁻¹ associated with inoculated or inoculation without N-fertilized plots when compared to the absolute control treatment.

Key-words: Diazotrophic bacteria. Sugarcane. Growth analysis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A Cana-de-açúcar no Brasil.....	3
2.2 Nitrogênio na Cana-de-açúcar	3
2.3 Bactérias Promotoras de Crescimento.....	4
2.4 Análise de Crescimento	5
2.5 Técnica de Diluição Isotópica de N ¹⁵	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Metodologia Geral	7
3.2 Taxa de Crescimento	10
3.3 Abundância Natural de ¹⁵ N no Perfil do Solo	11
3.4 Avaliação da Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio	12
3.5 Avaliação da Recuperação de Nitrogênio Aplicado.....	13
3.6 Análises Estatísticas	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1 Perfilhamento	14
4.2 Acúmulo de Matéria Seca	15
4.3 Índice de Área Foliar e Taxa de Assimilação Líquida	22
4.4 Acúmulo de Nutrientes na Cana-de-açúcar e Taxa de Absorção	24
4.5 Colheita Final	32
4.6 Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio	36
4.7 Recuperação de N-fertilizante	38
5 CONCLUSÕES	40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é a commodity que mais cresce no Brasil em relação ao uso do solo na agricultura. Na safra de 2012 a área plantada com cana-de-açúcar foi de 10,5 milhões de hectares, sendo aproximadamente 12% da área plantada com a variedade RB92579. Esta variedade ainda se destaca fortemente na região nordeste do Brasil onde o total da área cultivada com esta é da ordem de 54%. Estes percentuais plantados com a variedade RB92579 mostram seu crescimento ocupando área representativa no plantio dos canaviais brasileiros.

O setor sucroenergético é de grande importância para a economia brasileira, pois gera divisas e um número expressivo de empregos diretos e indiretos ao longo de sua cadeia produtiva. Nesta cultura o atual sistema de produção ainda preconiza o uso de adubação nitrogenada, o que favorece a emissão de N_2O , um gás agravante do efeito estufa, que cujo impacto ambiental equivale a cerca de 300 unidades do efeito do CO_2 . Frente a este cenário é de grande importância social e ambiental o desenvolvimento de tecnologias limpas, que possibilitem a elevação da eficiência no uso dos nutrientes prontamente disponíveis ou aplicados no solo.

Dentre diversas tecnologias a inoculação de bactérias promotoras de crescimento das plantas é uma alternativa de grande potencial. Segundo relatos na literatura os efeitos da inoculação podem estar relacionados com a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (REIS ET AL., 2009) e a produção de reguladores de crescimento, como o ácido indolacético (VIDEIRA et al., 2012).

Os estudos testando a eficiência do inoculante lançado pela Embrapa Agrobiologia para a cana-de-açúcar são animadores e apontam para uma maior produtividade de colmos e biomassa seca (SCHULTZ et al., 2012). No entanto, ainda existe controvérsia sobre os mecanismos que proporcionam esta elevação na produtividade. Reis (2006), afirma que alguns questionamentos sobre a associação planta microorganismo continuam sem resposta.

Os objetivos do presente estudo foram avaliar o desenvolvimento das plantas, o acúmulo de nutrientes (N, P K, Ca e Mg); a FBN e a recuperação de N-fertilizante na cana-de-açúcar (variedade RB92579) inoculada com bactérias promotoras de crescimento de plantas com e sem associação com N-fertilizante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cana-de-açúcar no Brasil

No Brasil a cultura de cana-de-açúcar sempre influenciou de forma decisiva na economia e crescimento do país. Atualmente o Brasil encontra-se na posição de maior produtor mundial, com aproximadamente 10,5 milhões de hectares plantados, com produtividade média de $71,3 \text{ Mg ha}^{-1}$ e produção de 670,7 milhões de toneladas para a safra 2012 (IBGE-SIDRA, 2013). De acordo com a FIESP (2011), o impulso na geração de empregos no estado de São Paulo nos últimos anos se deu em função do setor sucroenergético, sendo dos 46 mil novos postos de trabalhos criados no estado de São Paulo em abril, cerca de 63% relacionados com o setor sucroenergético.

A área plantada com cana-de-açúcar no Brasil vive um momento de grande expansão que se mostra de maneira diferenciada ao longo do território nacional. O maior percentual da expansão da área plantada se observa em São Paulo seguido por Minas e Goiás. Apesar destes números favoráveis relacionados com a área plantada, a perspectiva é de que a produtividade seja 9,8% menor que a safra 2010/2011 devido a oscilações climáticas (CONAB, 2011).

A expansão das lavouras de cana-de-açúcar implica na elevação da demanda por fertilizantes, em especial os nitrogenados. Assim sendo, faz-se necessário a busca de tecnologias que favoreçam a eficiência no uso dos nutrientes aplicados ou disponíveis no solo, tornado a agricultura brasileira mais sustentável.

2.2 Nitrogênio na Cana-de-açúcar

O comércio de fertilizantes nitrogenados em 2011 foi 24,7% superior ao mesmo período do ano passado, aumentando de 1,2 milhões de toneladas no ano de 2010 para 1,5 milhões de toneladas em 2011 (ANDA, 2011). Este crescimento se deu em função da elevação da demanda das culturas de cana-de-açúcar, milho, arroz e trigo. No Brasil a cana-de-açúcar é a 2º cultura que mais consome adubos nitrogenados, e estima-se que o consumo de N-mineral pela cultura seja de 15% do total que é comercializado no mercado interno (ANDA, 2009).

O N está entre os nutrientes mais exigidos pela cultura, atuando como constituinte de aminoácidos, aminas, bases nitrogenadas, alcalóides, clorofila e reações enzimáticas. A deficiência de N se manifesta nas folhas mais velhas na forma de clorose foliar devido à redução da formação da clorofila. Quando as folhas mais velhas entram em senescênci, a proteína é degradada e formas solúveis de N são translocadas para os pontos de crescimento da planta, ou seja, para as partes mais novas, razão pela qual os sintomas de deficiência de N se manifestam primeiramente nas folhas mais velhas (CARNAUBA, 1990).

Experimentos realizados com cana-de-açúcar demonstraram que esta cultura é altamente extratora de N. Coletti et al. (2006) avaliaram a extração média de N das variedades SP81-3250 e RB835486 cultivadas no estado de São Paulo (São José do Rio Preto) e observaram que ao final do ciclo houve a extração de 109 kg ha^{-1} de N para uma produtividade de 100 toneladas de colmos.

A resposta da cana-de-açúcar a adubação nitrogenada no primeiro ano de cultivo é considerada baixa, isto se deve entre outros fatores ao N acumulado nos toletes, ao melhor vigor do sistema radicular e a fixação biológica de nitrogênio (VITTI et al. 2008). Na prática o que se observa é a aplicação de 30 a 60 kg ha^{-1} de uma única vez no sulco de plantio e de 60 a 120 kg ha^{-1} em cana soca (ROSSETTO et al. 2005). Com a exportação do N contido no

colmo do campo para a usina e a queima da palha antes do corte, era de se esperar que o cultivo contínuo da cana-de-açúcar por muitos anos seguidos provocasse o esgotamento das reservas de N do solo, no entanto, em geral isto não ocorre. O fato do estoque do N no solo não esgotar-se ao longo do tempo com o cultivo sucessivo, indica que o N deste sistema está sendo reposto através do processo de FBN (URQUIAGA et al., 1992; 2012; XAVIER, 2006).

O N mineral quando aplicado ao solo pode ser perdido por volatilização ou lixiviação (TRIVELLIN et al. 2002), o que proporciona contaminação dos recursos ambientais, como solos, rios e o lençol freático. Além disso, o N ainda pode ser emitido na forma de óxido nitroso (N_2O), um gás com um potencial de aquecimento global de cerca de 300 unidades superior ao CO_2 , agravando o efeito estufa (IPCC, 2007).

Desta forma se faz necessário a busca por tecnologias que proporcionem uma agricultura sustentável. Dentre as diversas inovações no setor agrícola, a que tem se destacado nos últimos anos para a cana-de-açúcar é a inoculação de bactérias promotoras de crescimento.

2.3 Bactérias Promotoras de Crescimento

Nos anos 1950 Dra. Johana Dobereiner iniciou seus estudos verificando a ocorrência de *Azotobacter* em solos ácidos da região da baixada fluminense (DÖBEREINER, 1961). Em 1960 a grama batatais (*Paspalum notatum*) que recobria os campos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro chamou a atenção de Dobereiner pelo fato de se encontrar sempre verde, mesmo sem adição de N fertilizante e sendo podada constantemente. Estudos iniciais demonstraram que *Beijerinckia* e *Azotobacter* predominavam na região da rizosfera desta gramínea. Machado & Döbereiner (1969) mostraram que exudados radiculares poderiam estar favorecendo a associação destas bactérias a grama batatais. Em 1971 um estudo pioneiro apresentou a contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada de *Paspalum notatum*, cv. Batatais, mostrando que cerca de 18 kg ha^{-1} de N ano $^{-1}$ era incorporado ao sistema decorrente da atividade de *Azotobacter paspali* (KASS et al., 1971). A partir de então diversos estudos foram iniciados no sentido de avaliar a influência da inoculação de bactérias diazotróficas no crescimento das plantas. Sendo que as melhores respostas foram obtidas mediante o uso da mistura de diferentes estirpes de bactérias (Oliveira et al., 2003).

Oliveira et al. (2002) avaliaram a FBN decorrente da inoculação de diversas combinações de estirpes bacterianas em planta de cana-de-açúcar (SP70-1143) micropropagada cultivadas em vasos com solo. Ao término de 400 dias de avaliação os resultados demonstraram que a associação das bactérias *Gluconacetobacter diazotrophicus* (PAL5); *Azospirillum amazonense* (CBAmC); *Herbaspirillum seropedicae* (HRC54); *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (HCC103) e *Burkholderia tropica* (PPe8) foram as que mais contribuíram para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar com 30 % do N derivado da FBN. Dois anos depois os mesmos autores avaliaram a influência da inoculação de bactérias promotoras de crescimento e a mistura das estirpes citadas anteriormente quanto à contribuição da FBN em duas variedades de cana-de-açúcar (SP70-1143 e SP81-3250) cultivadas em um Latossolo, um Planossolo e um Nitossolo. Ao término do período de avaliação foi possível constatar que a inoculação das cinco bactérias na variedade SP70-1143 cultivada em Planossolo e sem adição de N-fertilizante proporcionou melhores rendimentos de colmo e maior contribuição da FBN (OLIVEIRA et al., 2006).

Nas últimas décadas tiveram início diversas linhas de pesquisas demonstrando que os efeitos positivos das bactérias vão além da FBN. Estes estudos apontam para a capacidade das bactérias em promover o crescimento vegetal mediante a produção de reguladores de crescimento (DOBBELAERE et al., 2003).

Sevilla et al. (2001) comparando uma estirpe de *Gluconacetobacter* com uma mutante Nif negativa, concluíram que outros fatores, não somente a FBN, poderiam ser responsáveis pelos benefícios proporcionados pela inoculação. Geralmente, essas bactérias não conseguem suprir totalmente a demanda de N das plantas somente pela FBN, como acontece com os rizóbios na cultura da soja. Porém, podem influenciar fortemente a nutrição nitrogenada das culturas, as quais estão associadas, aumentando a capacidade de assimilação de N, indiretamente, com o aumento do sistema radicular, ou diretamente, estimulando o sistema de transporte de N das plantas (MANTELIN & TOURAIN, 2004). Trabalhos realizado por Saubidet et al. (2002) sugerem que a inoculação de bactérias com capacidade de fixar N atmosférico, não substitui a adubação nitrogenada, entretanto, melhora a utilização deste. Ainda de acordo com Khalid et al. (2003) cerca de 80 % das bactérias que são isoladas da rizosfera são dotadas da capacidade de produção de ácido indol acético (AIA).

A produção de auxinas pelas bactérias inoculadas é um fator importante na nutrição e desenvolvimentos das plantas. Esta elevação nas concentrações de AIA proporciona um maior desenvolvimento da superfície radicular, o que favorece a uma maior exploração do solo e aquisição de nutrientes (SPAEPEN et al., 2009).

Estudos indicam que a inoculação de bactérias *Azospirillum* pode favorecer a uma maior tolerância ao estresse hídrico. Os resultados afirmam que plantas inoculadas apresentaram um maior potencial matricial e teor de água na folha. Além de uma menor temperatura do dossel quando em comparação com plantas não inoculadas (DOBBELAERE et al. 2003).

De acordo com Baldani & Baldani (2005) resultados sobre a FBN de bactérias endofíticas demonstraram que mais estudos devem ser feitos a fim de melhor entender o potencial deste processo biológico para a cultura. Neste aspecto, ferramentas que possibilitem observar alterações no crescimento vegetal podem contribuir para elucidar os efeitos positivos da inoculação de bactérias promotoras de crescimento.

2.4 Análise de Crescimento

A análise de crescimento possibilita a obtenção de informações sobre a produção de comunidades vegetais sem que se faça uso de equipamentos sofisticados. Este método foi desenvolvido pelos fisiologistas de plantas da escola inglesa, sendo atualmente considerado como uma ferramenta de grande importância na estimativa da produtividade primária de comunidades vegetais (PEREIRA et al., 1987). Andrade et al. (2005) ainda complementam afirmando que a análise de crescimento vegetal possibilita identificar as diferenças no crescimento do vegetal decorrente de sua interação com o meio e adaptação aos estresses ambientais.

Mediante o estudo do crescimento vegetal é possível observar a tendência das condições morfofisiológicas das plantas em intervalos de tempos pré-determinados, permitindo a avaliação da produtividade e a resposta a diferentes práticas agronômicas que são utilizadas ao longo do ciclo produtivo (MAGALHÃES, 1986).

Benincasa (1988) afirma que mediante a determinação da massa seca (MS) e área foliar (AF), amostrados em intervalos de tempo, pode-se estimar alguns índices fisiológicos, como: Taxa de Assimilação Líquida (TAL); Taxa de Crescimento Relativo (TCR) e Taxa de Crescimento da Cultura (TCC).

Vários são os estudos que demonstram a capacidade da análise de crescimento em apontar alterações na marcha do desenvolvimento vegetal. Andrade et al. (2004) avaliaram o crescimento do capim elefante (Napier) submetidos a quatro doses de N e K (T1: 100 kg ha⁻¹ de N + 80 kg ha⁻¹ de K, T2: 200 kg ha⁻¹ de N + 160 kg ha⁻¹ de K, T3: 300 kg ha⁻¹ de N + 240

kg ha⁻¹ de K e T4: 400 kg ha⁻¹ de N + 320 kg ha⁻¹ de K) em sistemas irrigado e não irrigado. Após o período 123 dias de avaliação, foram obtidos os índices fisiológicos TAL; TCR; RAF e IAF, onde foi possível observar que a maior combinação das doses de N e K em ambiente irrigado favoreceram o desenvolvimento do vegetal.

Lopes e colaboradores (2009) analisaram o crescimento de plantas de milho, (IAC8333) cultivadas em Campinas-SP em um Latossolo Vermelho Distroférrico típico, submetidas ao sistema de plantio convencional ou direto. Ao término da condução do ensaio se verificou que o sistema convencional proporcionou melhores IAF; TCC e acúmulo de fitomassa.

Gava et al. (2000) avaliaram o crescimento da cana-de-açúcar cultivada em solo classificado como Podzólico no estado de São Paulo onde durante 315 dias após o plantio avaliou-se a influência da palhada no desenvolvimento das plantas. Ao término do período de avaliação foi possível observar valores de TCR da ordem de 0,15 g g⁻¹ dia⁻¹. Santos et al. (2009) avaliaram o efeito da adubação com P no crescimento da cana-de-açúcar cultivada no estado de Alagoas, observando valor de índice de área foliar da ordem de 5 m⁻² m⁻². Já Oliveira (2004) analisou o desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar (RB72454, RB855536 e RB855113) em Latossolo Vermelho Amarelo localizado na estação experimental de Paranavaí - UFPR, onde ao término do período de avaliação foi possível observar valores máximos de IAF, TCC e TCR respectivamente de 5 m⁻² m⁻², 27 g m⁻² dia⁻¹ e 0,08 g g⁻¹ dia⁻¹ respectivamente.

2.5 Técnica de Diluição Isotópica de N¹⁵

A técnica baseia-se na alteração da proporção natural entre os isótopos ¹⁵N e ¹⁴N artificialmente enriquecidos com ¹⁵N (át.% ¹⁵N > 0,3663) em proporção conhecida, ou seja, adubos marcados com ¹⁵N. Plantas que só obtenham N do solo marcado possuirão um enriquecimento em ¹⁵N semelhante à marcação do N disponível deste solo marcado com ¹⁵N. Por outro lado, plantas que obtenham além do N marcado proveniente do solo, N atmosférico (não marcado) sofrem uma diluição no seu enriquecimento em ¹⁵N. Quanto maior a magnitude da diluição, maior a quantidade de N atmosférico incorporado e, por conseguinte, maior a contribuição da FBN (BODDEY, 1984; XAVIER, 2006).

A aplicação da técnica de diluição isotópica de ¹⁵N depende de uma premissa básica: as plantas fixadoras e testemunhas devem absorver N do solo com a mesma marcação de ¹⁵N. Para satisfazer essa condição é necessário que a marcação de ¹⁵N do solo seja uniforme e estável no perfil e no tempo ou que as plantas fixadoras e testemunhas tenham marcha de absorção de N do solo semelhante (BODDEY, 1984). Além disso, outras entradas de N no sistema solo-planta, tais como o N contido na água de irrigação, chuvas, agroquímicos e fertilizantes nitrogenados devem ser de magnitudes desprezíveis ou iguais tanto para a planta teste (fixadora de N₂) como para a planta testemunha. O N total e o enriquecimento de ¹⁵N contido nas sementes e mudas devem ser quantificados e levados em consideração, especialmente em leguminosas que forem colhidas precocemente, pois neste caso tais valores podem ser de tal magnitude que diluem (ou concentram, no caso de semente enriquecida em ¹⁵N) a composição isotópica de N das plantas assim colhidas (VITTY et al., 1991). A planta testemunha não deve fixar nenhum “N₂ atmosférico”, ou a quantidade de N fixado deve ser desprezível em relação à quantidade fixada pela planta teste.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Metodologia Geral

O experimento foi implantado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia – Seropédica-RJ, na primeira semana de maio de 2011, em área de solo Argissolo Vermelho Amarelo. O clima da região é do tipo Aw, segundo classificação de Köppen, com inverno seco e verão quente e chuvoso, e com temperatura média anual de 23,7°C.

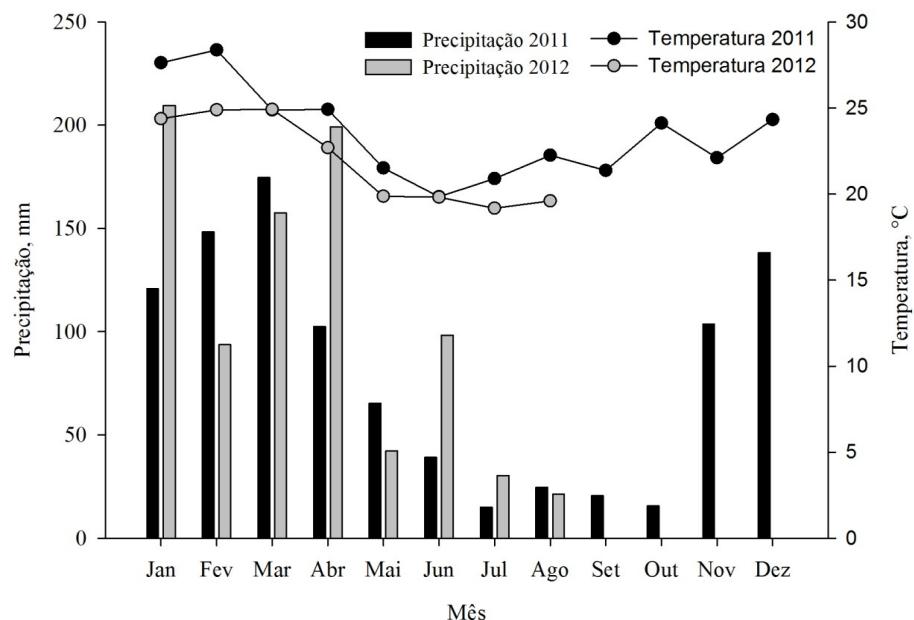


Figura 1: Precipitação acumulada e temperatura média mensal referente ao período entre janeiro de 2011 e agosto de 2012. Dados da estação meteorológica de Seropédica-RJ.

A adubação de plantio foi realizada com base em análise química de solo nas profundidades de 0 a 20 e 20 a 40 cm e na exigência nutricional da cultura baseado no trabalho de RAIJ et al. (1996) (Tabela 1).

Tabela 1: Analise química do solo da área experimental localizado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, Seropédica – RJ.

Profundidade	Al	Mg	Ca	pH	K	P
cm	-----	-----cmolc.d ⁻³ -----	-----	-----	-----mg.L ⁻¹ -----	-----
0-20	0,1	45	2,7	5,6	45	18
20-40	0,1	0,8	2,0	5,3	26	5,5

Foram aplicados 1000 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico na área total com auxílio de implemento acoplado ao trator 45 dias antes do plantio, 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na forma de super fosfato simples em dose única no sulco no momento do plantio; 160 kg ha⁻¹ K₂O na

forma de cloreto de potássio, sendo 50% da dose aplicado no sulco no plantio e 50% após 60 dias; 40 kg ha⁻¹ de micronutrientes FTE BR 12 e 0,4 kg ha⁻¹ de molibdato de amônio aplicado no fundo do sulco no momento do plantio. A adubação nitrogenada nos respectivos tratamentos foi realizada no momento do plantio sendo que a ureia foi aplicada em dose única no fundo do sulco.

A variedade em estudo foi a RB92579, que apresenta as seguintes características: maturação média e elevado teor de sacarose, boa brotação, elevado perfilhamento em cana-planta, bom fechamento de entrelinhas, alta produtividade agrícola e não apresenta restrição a ambiente de produção. Ainda de acordo com RIDESA (2003), a variedade RB92579 apresenta hábito de crescimento ereto, folhas com pontas curvas e limbo largo, pouco florescimento e velocidade lenta de crescimento.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso onde foram avaliados três tratamentos e o controle experimental com quatro repetições. Os tratamentos foram adubação com 50 kg ha⁻¹ de N; 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação; inoculação e o controle sem N. A fonte de N foi uréia (45% de N).

As bactérias diazotróficas utilizadas para inoculação foram: *Gluconacetobacter diazotrophicus* (estirpe BR-11281), *Herbaspirillum seropedicae* (estirpe BR-11335), *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (estirpe BR-11504), *Azospirillum amazonense* (estirpe BR-11145) e *Bulkholderia tropica* (estirpe BR-11366); conforme anteriormente selecionadas por Oliveira et al. (2002, 2006). As bactérias foram cultivas inicialmente em meio Dyg's (RODRIGUES NETO et al., 1986) para crescimento e na sequência em meio específico, a citar: *Gluconacetobacter* (LGIP + 10 mmol L⁻¹ de NH₄SO₄, Ph 5,5); *Herbaspirillum* (JNFb + 1 g NH₄Cl, Ph 5,8); *Azospirillum* (LGI + 1 g de KNO₃, Ph 6) e *Bulkolderia* (JMV + 10 mmol L⁻¹ de glutamato de sódio, Ph 5). Após o crescimento as células foram ajustadas para 10⁹ celulas ml⁻¹ por estirpe. Posteriormente as 5 estipes das bactérias foram diluídas em 100 L de água limpa, para a preparação da solução inoculante para plantio. As estipes não foram misturadas ao veículo (Turfa ou polímero) devido a proximidade do laboratório ao local de condução do ensaio. Os toletes (muda) com três gemas foram alocados em sacos de ráfia de acordo com a quantidade necessária por linha de plantio e imergidos na solução inoculante por 1 hora e mantidas em repouso sob sombra natural por 30 minutos após a inoculação.

Foram feitas amostragens mensais ao longo de 395 dias após plantio, onde se fez amostragem de um metro da linha em cada época de avaliação, totalizando seis coletas (agosto/2011 até fevereiro/2012). Desta forma as parcelas experimentais seguiram o seguinte padrão. As parcelas com os tratamentos controle e inoculado tinham 8 linhas, as 4 primeiras linhas foram adotadas para amostragem seriada, de maneira que a primeira linha era bordadura, seguida por linha útil, totalizando 2 linhas úteis. Dentro de cada linha útil foi adotado 0,5 m de bordadura decorrente do metro amostrado o que proporcionou 3 coletas em cada linha útil, totalizando 6 coletas por parcela. As quatro linhas restantes foram adotadas para obter a produtividade final, com a colheita das duas linhas centrais.

As parcelas que receberam os tratamentos com 50 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação seguiram o mesmo padrão descrito a cima, no entanto nas duas linhas úteis adotadas para as análises destrutivas se aplicou N-fertilizante enriquecido com 0,8% de átomos de ¹⁵N em excesso, para avaliação do efeito do inoculante na recuperação do N-fertilizante em cada época da avaliação. Nas duas linhas úteis utilizadas para produtividade foi marcado um metro dentro da linha útil onde se aplicou N-fertilizante enriquecido para determinar a recuperação do N-fertilizante por ocasião da colheita final (Figura 2).

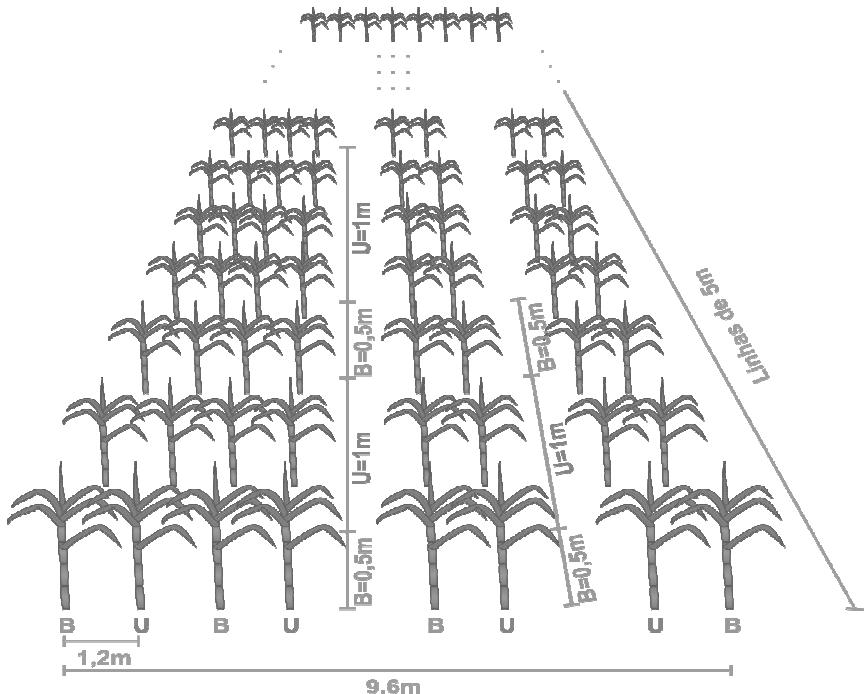


Figura 2: Esquema da parcela experimental. B= bordadura e U= linha útil, 1,2 m = espaçamento e 9,6m = largura da parcela.

Para quantificar o acúmulo de biomassa e de nutrientes, foi amostrado um metro da linha de plantio em cada época da avaliação. Após a coleta das amostras estas foram subdivididas em colmo, palha e folhas-bandeira. As subamostras foram secas em estufa de circulação de ar forçado a 65 °C até atingirem peso constante. Posteriormente elas foram passadas em moinho tipo Wiley (2 mm) para depois serem finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004). Após esta etapa as amostras foram enviadas ao laboratório para determinação dos teores de N, K, P, Ca e Mg (NOGUEIRA & SOUZA, 2005).

Para obter o acúmulo de nutrientes na biomassa se multiplicou o teor do nutriente pela massa do material seco colhido no metro avaliado.

Em cada época de avaliação foi realizada a contagem do número de perfis em 1,2 m⁻² a fim de avaliar o estande da cultura.

A área de folhas representativas foi determinada por meio da contagem do número de folhas verdes (folha totalmente expandida com o mínimo de 20% de área verde, contada a partir da folha zero) e pelas medições realizadas na folha + 1, que é a primeira folha que apresenta a lígula aberta (CASAGRANDE, 1991). Sendo assim foi medido o comprimento e a largura da folha +1 na porção mediana, segundo metodologia descrita por Hermann & Câmara (1999):

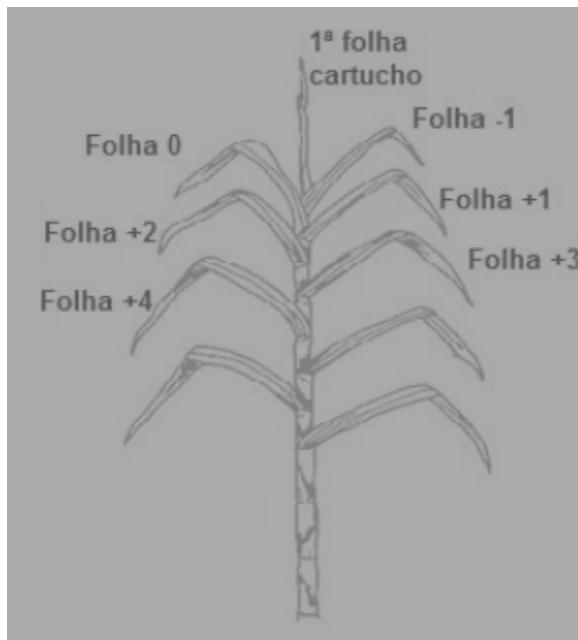


Figura 3: Numeração das folhas da cana-de-açúcar baseado no sistema estabelecido por Kuijper, adaptado de Casagrande (1991).

$$AF = C \times L \times 0,75 \times (N+2)$$

Onde: AF - área foliar por colmo;

C - comprimento da folha +1;

L - largura da folha +1;

0,75 - fator de forma;

N - número de folhas abertas com pelo menos 20% de área verde (folha 0 a +7).

O Índice de Área Foliar (IAF) em $m^2 \cdot m^{-2}$ foi obtido em função da área foliar (AF) por perfilho, do número de perfis m^{-1} , segundo metodologia de Watson citado por Larcher (2000):

$$IAF = AF \times n^o P / S$$

Onde: AF – área foliar total $perfilho^{-1}$

$n^o P$ – número de perfis m^{-1}

S – superfície do solo

3.2 Taxa de Crescimento

Para obtenção das taxas de crescimento vegetal foi utilizado o método funcional de análise de crescimento.

A massa seca foi ajustada a uma função exponencial polinomial de segunda ordem, $W = \text{Exp}(a+bt+ct^2)$ e sua linearização obtida por $\ln W = a + bt + ct^2$. Onde W significa os dados observados, t o tempo em dias após o plantio e os coeficientes a; b e c obtidos por regressão, mediante o uso do programa Excel 2007. Da mesma forma a massa seca e o índice de área foliar (IAF) foram ajustados a uma função exponencial polinomial de segundo grau:

$$IAF = \exp(e + ft + gt^2)$$

$$\ln IAF = e + ft + gt^2$$

Desta forma foi possível obter por derivação os valores instantâneos das taxas de crescimento da cultura e de assimilação líquida (HUNT, 1982). A opção do modelo exponencial de 2º grau se deu em função do R^2 observado (Tabela 2) e do significado biológico das curvas obtidas.

A Taxa de Crescimento da Cultura (TCC) em $g m^{-2} \text{ dia}^{-1}$ representa a variação da massa seca acumulada pela planta, ao longo de um intervalo de tempo. Adotando o modelo exponencial polinomial de 2º grau tem-se que, a um dado instante de tempo (t), a sua derivada primeira vale:

A Taxa de Crescimento da Cultura (TCC) em $g m^{-2} \text{ dia}^{-1}$ representa a variação da massa seca acumulada pela planta, ao longo de um intervalo de tempo

$$TCC = dW / dt$$

Adotando o modelo exponencial polinomial de 2º grau, tem-se que, a um dado instante de tempo (t), vale:

$$TCC = (b + 2ct) (a + bt + ct^2)$$

A Taxa de crescimento relativo (TCR) representa o incremento na massa seca, por unidade de massa inicial em um intervalo de tempo, expressa em $g g^{-1} \text{ dia}^{-1}$

$$TCR = (1 / W) (dW / dt)$$

Devido ao melhor ajuste ter sido observado em relação a função exponencial polinomial de 2º grau a TCR foi obtida por:

$$TCR = b + 2ct$$

A taxa de assimilação líquida (TAL) representa a taxa de incremento da massa seca por unidade de área foliar existente na planta, expressa em $g m^{-2} \text{ dia}^{-1}$. Desta forma a TAL foi obtida por:

$$TAL = (1 / IAF) (dW / dt), \text{ desta forma a TAL foi obtida por:}$$

$$TAL = (b + 2ct) (a + bt + ct^2) / (e + ft + gt^2)$$

As curvas referentes aos acúmulos de nutrientes e suas respectivas taxas de acumulação absoluta de nutrientes foram obtidas seguindo a mesma metodologia descrita a cima para matéria seca.

3.3 Abundância Natural de ^{15}N no Perfil do Solo

De acordo com Ledgard et al. (1984), os solos apresentam menor valor de abundância de ^{15}N na camada superficial do solo. Tradicionalmente têm sido utilizadas plantas de crescimento espontâneo para avaliar a oscilação de ^{15}N no perfil do solo. No entanto, devido a estas plantas terem muitas vezes um padrão diferente da cana-de-açúcar na exploração do solo, a contribuição da FBN pode estar sendo super ou subestimada.

As plantas espontâneas foram coletadas das entrelinhas das parcelas testemunhas. Após a coleta no campo elas foram secas em estufas de ventilação forçada a 65°C até a estabilização do peso, para posteriormente serem passadas em moinho tipo Wiley (2 mm) e finalmente foram moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004) e enviadas ao laboratório para determinação do N total e delta ^{15}N .

As plantas espontâneas adotadas neste estudo foram: Trapoeraba (*Commelina benghalensis* L); Poaia-branca (*Richardia brasiliensis* Gomez); Maria pretinha (*Solanum americanum*).

Para melhor avaliar a contribuição da FBN e reduzir erros devido a quantificação da oscilação de ^{15}N no perfil do solo foi desenvolvido um estudo adicional em casa de vegetação.

Foram coletadas amostras de solo nas parcelas controle na profundidade de 0 – 15 cm, 15 – 30 cm, 30 – 45 cm e 45 – 60 cm nas quais foram cultivadas plantas não fixadoras ou de fixação desprezível, sendo essas: Sorgo – *Sorghum bicolor*; Painço – *Panicum mileaceum* e Milheto – *Pennisetum glaucum*. As sementes utilizadas para o plantio tiveram seus teores de N total e a abundância natural de N¹⁵ (δN^{15}) determinados seguindo a mesma metodologia descrita acima.

Estas plantas foram cultivadas individualmente em potes com 400 g de solo até sinal de esgotamento do N disponível do solo (Figura 4). A adubação de plantio foi de 100 mg kg⁻¹ de P₂O₅ na forma de super fosfato simples, 100 mg kg⁻¹ de K₂O na forma sulfato de potássio, 20 mg kg⁻¹ de sulfato de magnésio e 50 mg kg⁻¹ de FTE BR12.

Após o amarelecimento das plantas (aproximadamente 30 dias de cultivo) foi realizada a lavagem das raízes e parte aérea (plantas inteiras), secas em estufa de ventilação forçada a 65 °C, determinação do peso seco das plantas inteiras e análise de N total e delta ¹⁵N.

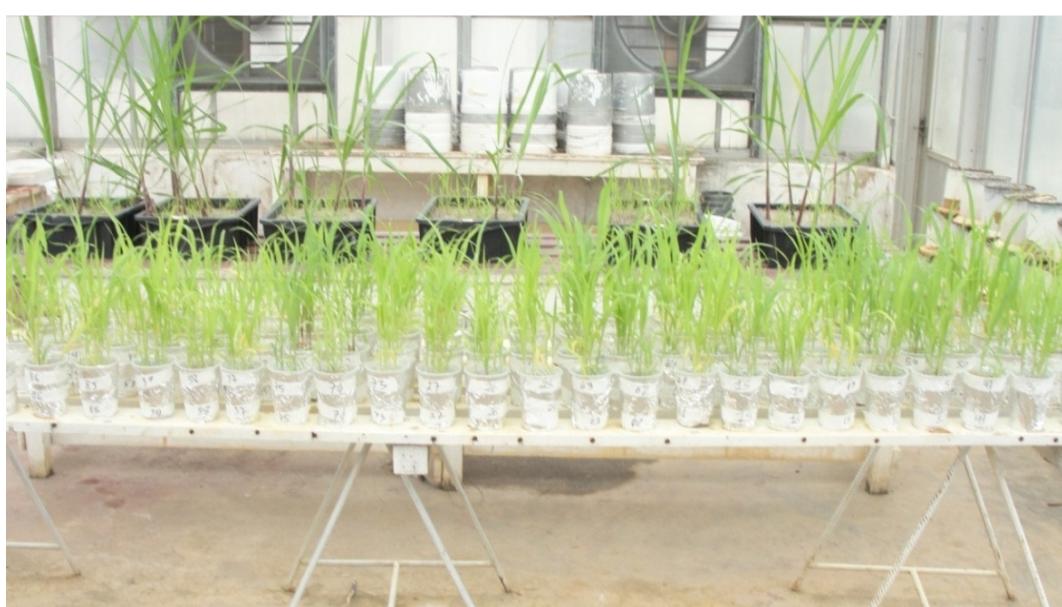


Figura 4: Avaliação de $\delta^{15}\text{N}$ no perfil do solo da área experimental – Ccsa de vegetação – Embrapa Agrobiologia - RJ

3.4 Avaliação da Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio

Após análise de N total determinou-se a abundância natural de do isótopo ¹⁵N nas amostras do controle e do tratamento inoculado, para avaliação da FBN. As análises isotópicas de ¹⁵N foram realizadas em espectrômetro de massas (Finnigan MAT, Bremen, Germany) no Laboratório de Isótopos Estáveis John M Day na Embrapa Agrobiologia (RAMOS et al., 2001).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) foi determinada utilizando a fórmula abaixo conforme descrito por (Unkovich et al., 2008).

$$\% \text{ FBN} = 100 (\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{planta fixadora}}) / (\delta^{15}\text{N}_{\text{planta testemunha}} - \text{B})$$

Onde B significa o valor da discriminação isotópica de ¹⁵N feita pelas plantas durante o processo de FBN, igual a zero segundo (BODDEY et al., 2000).

3.5 Avaliação da Recuperação de Nitrogênio Aplicado

Para avaliar a eficiência de recuperação do N-fertilizante e a influência do inoculante no desenvolvimento da cana-de-açúcar foram adotados os tratamentos com 50 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N + inoculante. Em 2 linhas deste tratamento (10 m) se procedeu a aplicação de 133,4 g fertilizante enriquecido com ¹⁵N (uréia 0,8% de átomos em excesso), aplicados no sulco de plantio misturado em 120 g de solo peneirado a fim de se elevar a precisão da aplicação da ureia.

Ao longo do período de avaliação (100, 130, 168, 212, 261 e 295 DAP) foram realizadas subamostras de colmos, palha seca fresca folhas-bandeira. Este material secado em estufa de ventilação forçada a 65 °C até estabilização do peso. Após esta etapa as amostras foram passadas em moinho tipo Wiley (2 mm) para depois serem finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004) e enviadas ao laboratório para determinação do N total e o excesso de átomos de ¹⁵N. De destes resultados foram realizados os cálculos para quantificar a recuperação do N fertilizante (TRIVELLIN et al., 1994; 1995).

$$\text{NPPF (\%)} = (a/b) \times 100$$

$$\text{NPPF (kg ha}^{-1}\text{)} = [\text{NPPF (\%)} / 100] \times \text{NT (kg ha}^{-1}\text{)}$$

$$R (\%) = [\text{NPPF (kg ha}^{-1}\text{)} / \text{NF (kg ha}^{-1}\text{)}] \times 100$$

Onde:

NPPF- nitrogênio na planta proveniente do fertilizante (kg ha⁻¹).

a e b – átomos ¹⁵N em excesso na planta e no fertilizante, respectivamente.

NT- nitrogênio total acumulado (kg ha⁻¹).

NF- nitrogênio fertilizante aplicado (kg ha⁻¹).

3.6 Análises Estatísticas

Os resultados da contribuição da FBN, recuperação do N-fertilizante e perfilhamento foram submetidos a análises estatísticas, para se verificar a distribuição normal dos dados e a homogeneidade das variâncias pelo programa SAEG. A análise de variância foi efetuada para cada época de avaliação, considerando um único fator (fontes de N), as médias foram comparadas pelo teste LSD a 10% de probabilidade, feitos com o Sisvar 4.3.

Os dados referentes a IAF, acúmulo de matéria seca e de nutrientes foi adotado parcelas subdivididas, onde a sub parcela foi a época de avaliação. Devido a heteroscedastia, conforme relatado por Araujo (2003), os dados originais foram transformados em logaritmo natural para posterior análise de variância e teste de médias (LSD a 10% de probabilidade), utilizando o Sisvar 4.3.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Perfilhamento

Os resultados referentes ao perfilhamento (número de perfilhos em $1,2 \text{ m}^{-2}$) da variedade RB92579 estão apresentados abaixo (Figura 5). De acordo com o teste aplicado no mês de agosto de 2011 (100 DAP) o tratamento inoculado mostrou maior população de perfilhos quando comparado ao controle absoluto, isto é, a inoculação modificou o número de perfilhos desta variedade nesta fase inicial de crescimento. Na segunda avaliação, realizada em setembro de 2011 (130 DAP), a inoculação aplicada em conjunto com a adubação nitrogenada (50 kg ha^{-1} de N + inoculação) foi superior aos demais tratamentos avaliados, exceto com relação ao tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N. No entanto, na avaliação seguinte (outubro de 2011) o tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação se mostrou superior ao tratamento com apenas adubação de 50 kg ha^{-1} de N (Figura 5).

Times New Roman em todas as figuras e tabelas, inclusive nas legendas.

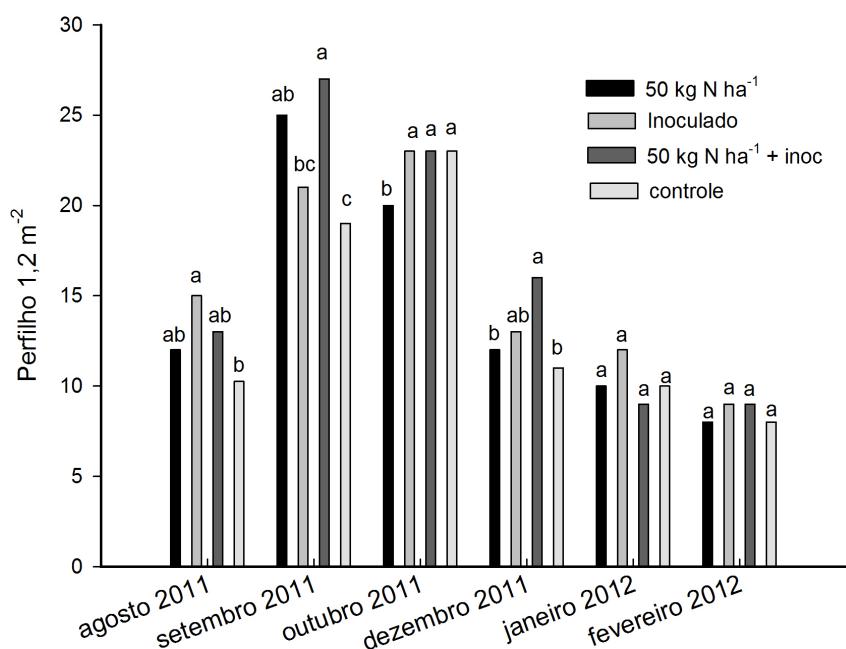


Figura 5: Avaliação de perfilhamento de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto de 2011 a fevereiro de 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental da Embrapa Agrobiologia, Seropédica RJ. Barras seguidas pela mesma letra em cada avaliação, não diferem pelo teste LSD a 10% de probabilidade.

Ainda de acordo com a Figura 5, observa-se que de setembro a dezembro houve redução de 40 e 52% no número de perfilhos dos tratamentos que receberam 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e 50 kg ha^{-1} de N, respectivamente. Esta menor redução no número de perfilho apresentada pela adubação nitrogenada associada à inoculação (50 kg ha^{-1} de N + inoculação) em relação ao tratamento que recebeu somente adubação com 50 kg ha^{-1} de N pode ter sido favorecida pelo maior volume radicular, o que pode proporcionar melhor eficiência no uso dos nutrientes aplicados ou prontamente disponíveis.

Vitorino et al. (2012), avaliou o efeito de doses de N (60 e 120 kg ha⁻¹ de N) e da inoculação de bactérias diazotróficas no número de perfilho da variedade de cana-de-açúcar RB867515 e verificou que a aplicação do N-fertilizante proporcionou o maior número de perfilho aos 60, 90 e 120 DAP em relação aos tratamentos inoculados. Já Scarpari (2008) afirmou que o perfilhamento da cana-de-açúcar está relacionado com fatores ambientais, como a luminosidade, além da disponibilidade de nutrientes para a absorção pela planta, em especial a disponibilidade de N.

Suman et al. (2005) avaliou a influência de sete estirpe de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (IS100, IS 107, IS 111, IS 112, IS 113, IS 120, e IS 121) no desenvolvimento da cana-de-açúcar, variedade CoSe92423 aos 45 DAP e observou que a inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus* elevou o percentual de germinação quando comparado com o controle não inoculado.

De dezembro a fevereiro, a redução no número de perfilho dos tratamentos 50 kg ha⁻¹ de N; inoculado e controle foi de 33; 31 e 26% ,respectivamente. Enquanto o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação apresentou redução de 43%, indicando maior seleção dos perfilho finais. Relatos na literatura sobre a redução do número de perfilhos são comuns. Ido (2003) afirma que em cana-planta é possível observar grande emissão de perfilhos inicialmente, seguida por redução até a estabilização que ocorre por volta dos 350 DAP.

Avaliando o índice de área foliar (IAF) (Figura 12) verificou-se que o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação é superior aos demais tratamentos ao longo do período de avaliação, alcançado seu máximo no mês de dezembro com 5,54 m².m⁻². A partir destes resultados pode-se inferir que o maior IAF ao longo do período de avaliação pode ter contribuído para a redução no número de perfilhos, devido à maior competição intraespecífica por luz.

Embora o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação tenha apresentado queda acentuada no número de perfilhos entre os meses de dezembro a fevereiro (Figura 5) é possível observar que ao término do período de avaliações de análise de crescimento este tratamento (50 kg ha⁻¹ de N + inoculação) se mostra com um incremento no acúmulo de matéria seca (Figura 6), sugerindo que a associação da inoculação à 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou melhor desenvolvimento dos perfilhos remanescentes.

4.2 Acúmulo de Matéria Seca

A partir do ajuste dos dados originais de matéria seca (MS), acúmulo de nutrientes (N, P, K, Ca e Mg) e do índice de área foliar (IAF) (Tabela 2), foram obtidos os coeficientes e R² do modelo ajustado (Tabela 3) e suas correspondentes curvas e taxas de acúmulo.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos dados originais de índice de área foliar, acúmulo de matéria seca, N, P, K, Ca e Mg utilizados para ajuste ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. Período de agosto de 2011 à fevereiro de 2012 (Continua).

DAP	Índice de área foliar (m ² . m ⁻²)						
	Controle	Inoculado	50 + Inoculação	50 kg ha ⁻¹ N			
Agosto/2011	0,88	±0,20	1,00	±0,11	0,94	±0,41	0,90 ±0,1
Setembro/2011	1,64	±0,66	1,61	±0,11	2,83	±0,93	2,20 ±1,2
Outubro /2011	2,89	±0,98	2,77	±0,98	3,50	±1,03	2,60 ±1,0
Novembro/2011	3,34	±1,15	4,50	±1,37	5,54	±0,84	4,10 ±0,4
Dezembro/2011	4,06	±0,61	5,33	±1,43	4,06	±1,73	4,00 ±0,6
Fevereiro 2012	4,28	±0,49	4,59	±1,57	4,40	±1,89	4,30 ±1,1

Tabela 2: Continuação.

DAP	Acúmulo de matéria seca (g.m ⁻²)							
	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
Agosto/2011	232,40	±28,16	269,75	±36,09	310,29	±65,90	291,5	±50,6
Setembro/2011	332,30	±73,50	493,53	±23,10	649,57	±64,07	636,4	±167,4
Outubro /2011	1487,93	±87,59	1712,76	±71,60	1472,25	±78,63	1084,3	±72,5
Novembro/2011	1847,11	±856,71	2125,32	±224,93	2290,80	±413,43	1988,2	±209,4
Dezembro/2011	3093,73	±147,52	3500,52	±275,84	4259,45	±1146,85	3419,2	±72,7
Fevereiro 2012	3949,64	±444,68	4399,71	±131,41	4674,69	±373,95	4056,3	±457,6
Acúmulo de N (g.m ⁻²)								
DAP	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
	2,94	±0,60	2,82	±0,84	3,61	±0,58	3,35	±0,91
Agosto/2011	4,19	±1,09	6,40	±0,36	8,01	±0,95	7,55	±2,20
Setembro/2011	16,03	±3,78	21,16	±1,89	18,21	±1,63	12,50	±1,47
Outubro /2011	18,64	±1,59	20,87	±3,40	20,37	±3,01	18,15	±2,54
Novembro/2011	17,65	±1,91	18,38	±2,26	21,67	±4,28	17,23	±0,89
Fevereiro 2012	19,82	±4,45	26,38	±1,28	23,00	±0,89	18,56	±2,26
Acúmulo de P (g.m ⁻²)								
DAP	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
	0,39	±0,07	0,39	±0,09	0,51	±0,06	0,43	±0,08
Agosto/2011	0,46	±0,11	0,66	±0,11	1,01	±0,07	0,92	±0,24
Setembro/2011	2,29	±0,55	2,74	±0,22	2,51	±0,19	1,83	±0,27
Outubro /2011	2,11	±0,91	2,74	±0,73	2,84	±0,49	2,53	±0,50
Novembro/2011	2,41	±0,13	2,48	±0,19	3,01	±0,60	2,47	±0,36
Fevereiro 2012	2,56	±0,66	3,68	±0,41	3,95	±0,52	2,58	±1,16
Acúmulo de K (g.m ⁻²)								
DAP	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
	2,91	±0,96	4,06	±0,74	4,73	±1,03	5,16	±1,12
Agosto/2011	4,15	±1,23	5,92	±1,75	9,10	±1,06	6,87	±1,21
Setembro/2011	14,70	±3,11	16,32	±1,86	16,52	±0,76	11,28	±2,11
Outubro /2011	13,28	±5,61	20,80	±5,82	22,11	±3,48	19,63	±4,04
Novembro/2011	13,72	±1,81	19,73	±3,54	23,39	±4,52	19,20	±2,62
Fevereiro 2012	15,12	±3,21	15,30	±2,67	17,82	±1,12	19,38	±4,70
Acúmulo de Ca (g.m ⁻²)								
DAP	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
	0,95	±0,15	1,05	±0,19	1,18	±0,24	1,10	±0,19
Agosto/2011	1,14	±0,31	1,66	±0,21	2,69	±0,43	2,65	±1,21
Setembro/2011	3,82	±0,91	5,86	±1,57	5,46	±1,17	3,80	±0,54
Outubro /2011	4,91	±1,76	6,17	±1,27	5,14	±0,20	5,09	±1,02
Novembro/2011	4,68	±0,72	6,06	±1,56	6,33	±2,59	5,09	±1,17
Fevereiro 2012	8,10	±2,60	7,69	±0,60	9,04	±2,18	8,06	±1,64

Tabela 2: Continuação

DAP	Acúmulo de Mg (g.m ⁻²)							
	Controle		Inoculado		50 + Inoculação		50 kg N ha ⁻¹	
Agosto/2011	0,39	±0,04	0,32	±0,07	0,40	±0,16	0,33	±0,07
Setembro/2011	0,47	±0,07	0,69	±0,10	0,90	±0,16	0,99	±0,41
Outubro /2011	1,61	±0,44	2,24	±0,39	1,91	±0,25	1,33	±0,19
Novembro/2011	2,58	±1,18	3,02	±0,45	3,33	±0,41	2,89	±0,48
Dezembro/2011	2,98	±0,41	3,42	±0,59	3,33	±0,64	3,35	±0,12
Fevereiro 2012	3,57	±0,49	3,55	±0,30	3,71	±0,41	3,72	±0,35

Tabela 3: Coeficientes dos modelos exponencial polinomial de 2º grau ajustados aos dados de massa seca (MS), índice de área foliar (IAF), N, P, K, Ca e Mg.

Coeficiente	50 kg N ha ⁻¹	Inoculado		50 kg N + Inoc	Controle
		Massa seca			
A	3,01616	2,08679		2,64622	1,99155
B	0,03153	0,04200		0,03692	0,03994
C	-0,00005	-0,00007		-0,00006	-0,00006
R ²	0,97	0,95		0,97	0,91
IAF					
A	-2,66629	-2,62893		-3,45236	-2,53861
B	0,03236	0,03193		0,04460	0,03018
C	-0,00006	-0,00006		-0,00010	-0,00006
R ²	0,75	0,83		0,69	0,80
Nitrogênio					
A	-1,87628	-2,92432		-2,07834	-2,74933
B	0,03923	0,05044		0,04310	0,04610
C	-0,00008	-0,00010		-0,00009	-0,00009
R ²	0,91	0,87		0,93	0,88
Fósforo					
A	-4,26377	-4,78127		-3,75275	-5,14993
B	0,04336	0,04742		0,03877	0,05031
C	-0,00009	-0,00009		-0,00007	-0,00010
R ²	0,92	0,87		0,92	0,86
Potássio					
A	-0,8776	-2,335770244		-2,10233	-3,10984
B	0,029572	0,045617291		0,045493	0,050165
C	-5,7E-05	-9,65883E-05		-9,7E-05	-0,0001
R ²	0,89	0,89		0,96	0,87
Cálcio					
A	-2,05901	-3,38103		-2,26855	-3,07062
B	0,02762	0,04213		0,03164	0,03503
C	-0,00005	-0,00008		-0,00006	-0,00006
R ²	0,80	0,87		0,82	0,85
Magnésio					
A	-4,43944	-5,44985		-4,74746	-4,66519
B	0,04157	0,05356		0,04731	0,04291
C	-0,00008	-0,00011		-0,00009	-0,00008
R ²	0,92	0,95		0,94	0,91

A, B e C = Coeficientes; R² = Coeficiente de determinação.

Os resultados de acúmulo de matéria seca (MS) estão apresentados na Figura 6. Aos 240 DAP os tratamentos 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e a inoculação apresentam acúmulo de matéria seca da ordem de 3.415 e 3.270 g m^{-2} de MS, com incremento de aproximadamente 635 e 549 g m^{-2} de MS quando comparado com os tratamentos 50 kg ha^{-1} de N e controle, respectivamente. Este mesmo acúmulo de matéria seca só foi obtido pelos tratamentos inoculado e controle aproximadamente 25 dias após esta data. Estes resultados sugerem que a inoculação de bactérias promotoras de crescimento proporcionou melhor vigor vegetativo destes tratamentos, antecipando o desenvolvimento inicial da cultura. O que se confirma com a avaliação visual do desenvolvimento dos colmos (Figuras 7, 8 e 9). Segundo Vessey (2003) a inoculação de *Azospirillum* tem a capacidade de produzir substâncias que vão favorecer o aumento do volume radicular, proporcionando maior exploração do solo e consequentemente maior massa de matéria seca.

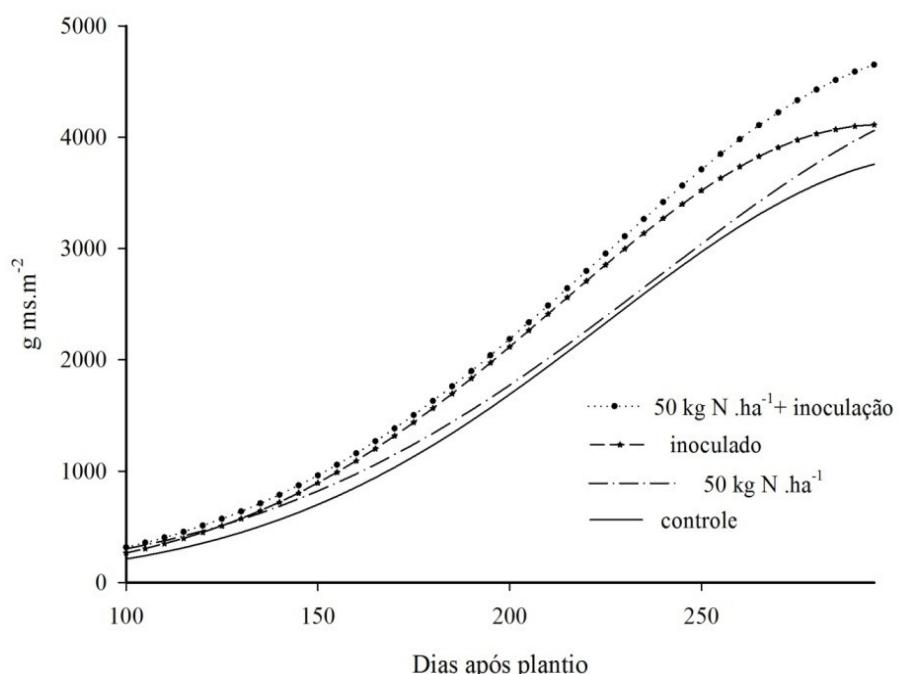


Figura 6: Acúmulo de matéria seca (MS) da parte aérea de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.



Figura 7: Comparação da coleta de plantas no metro linear. À esquerda tratamento 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e direita controle experimental. Comparação dentro do bloco. 13/12/2012- 212 DAP. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.



Figura 8: Comparação da coleta de plantas no metro linear. À esquerda tratamento 50 kg ha^{-1} de N. No centro o tratamento controle e a direita o tratamento 50 kg ha^{-1} de N + inoculação. Comparação dentro do bloco. 31/01/2012- 261 DAP. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.



Figura 9: Comparação da coleta de plantas no metro linear. À esquerda tratamento controle. No centro o tratamento 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e a direita o tratamento inoculado. Comparação dentro do bloco. 10/02/2012- 295 DAP. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Embora o tratamento que recebeu 50 kg ha^{-1} de N + inoculação tenha promovido aumento na produção de matéria seca até os 295 DAP, este efeito não promoveu aumento na produtividade de colmos na colheita final realizada aos treze meses após o plantio (Tabela 4). Ressalta-se que a produtividade de colmos foi elevada e estatisticamente igual para todos os tratamentos, o que pode ser atribuído às características químicas do solo e climáticas, que foram favoráveis ao desenvolvimento da cultura, resultando na produtividade de 181 Mg ha^{-1} de colmos frescos no controle (Tabela 4). A produtividade obtida neste estudo mostra que esta variedade possui elevado potencial produtivo e corrobora resultados relatados por outros autores. Oliveira et al. (2010) avaliando o crescimento de onze variedades de cana-de-açúcar submetidas ao uso de irrigação plena até os 300 DAP, onde foi aplicado uma lâmina de água necessária para suprir a evapotranspiração da cultura até 60 cm de profundidade, verificaram que ao término do período de avaliação a variedade RB92579 acumulou cerca de 100 Mg ha^{-1} de matéria seca no ciclo da cana-planta.

Na avaliação da taxa de crescimento da cultura (TCC), o controle apresentou o menor desempenho ao longo do período de avaliação, sendo o máximo alcançado aos 220 DAP com TCC de $26,44 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$. Esta resposta é similar à apresentada pelo tratamento que recebeu adubação de 50 kg ha^{-1} de N (Figura 10). Relatos de ausência de resposta da cana-planta à adubação nitrogenada são comuns na literatura, sendo apontado como principais fatores responsáveis pela baixa resposta da cana-planta à adubação nitrogenada, o estoque do N contido no colmo utilizado no plantio, a melhoria da fertilidade do solo decorrente da mineralização da matéria orgânica no preparo do solo (VITTI et al., 2008) e a FBN naturalmente associada à cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 1992; 2012).

Os tratamentos que receberam inoculação e adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação apresentaram incrementos na TCC, com valor máximo de $31,98 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e $32,35 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ aos 220 DAP, respectivamente, indicando que a inoculação de bactérias promotoras de crescimento aumentou o crescimento inicial da cultura. Estes resultados

assemelham-se aos relatados por Oliveira (2004) que avaliando a taxa de crescimento de três variedades de cana-de-açúcar em ciclo de cana-planta na estação experimental de Paranavaí, SCA-UFPR, observou valores de TCC da ordem de $39 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$.

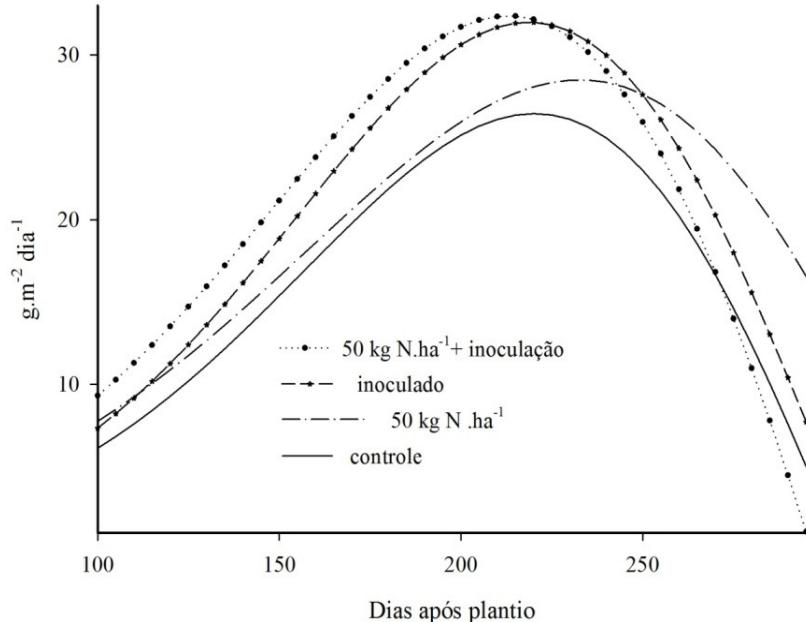


Figura 10: Taxa de crescimento da cultura (TCC) de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A Figura 11 apresenta as taxas de crescimento relativo (TCR), indicando que a TCR inicialmente foi elevada, seguida de queda contínua ao longo do período de avaliação. A menor TCR inicial ocorreu no tratamento com 50 kg ha^{-1} de N com aproximadamente $0,026 \text{ g g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. O tratamento que recebeu 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e o controle apresentam inicialmente TCR da ordem de $0,030$ e $0,029 \text{ g.g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente. Ao término do período de avaliação o tratamento que recebeu adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação apresenta menor TCR (Figura 11). Segundo Gava et al. (2001), a TCR da cana-de-açúcar inicialmente é alta, seguindo de um decréscimo. Este comportamento está relacionado, entre outros fatores, ao aumento da competição intraespecífica por luz e nutrientes. Possivelmente a menor TCR aos 295 DAP do tratamento adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação esteja relacionada à maior TCC e IAF (Figuras 10 e 12), estimulando a competição intraespecífica.

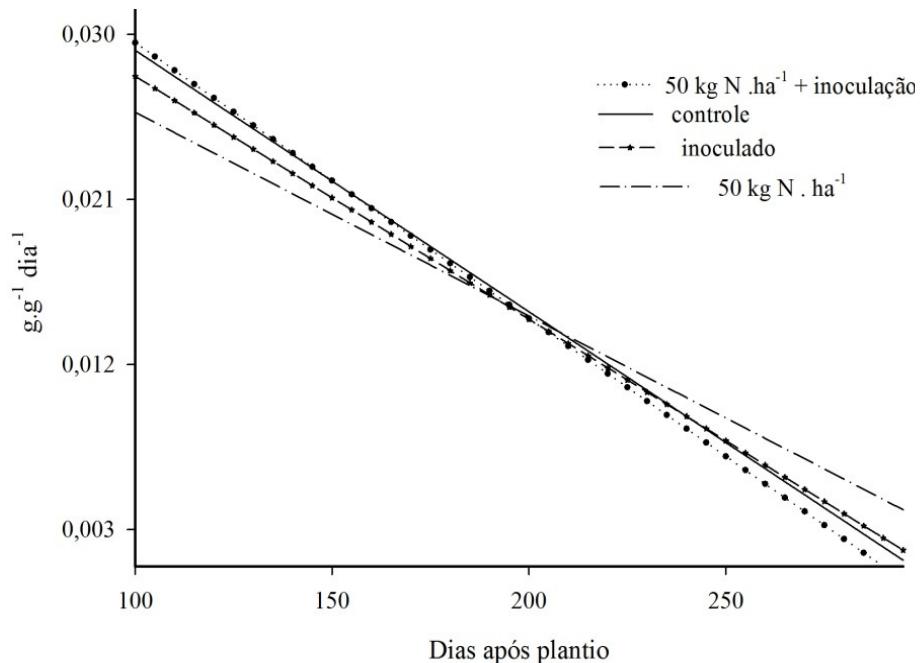


Figura 11: Taxa de crescimento relativo (TCR) de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

4.3 Índice de Área Foliar e Taxa de Assimilação Líquida

O menor índice de área foliar (IAF) ao longo do período de avaliação ocorreu no controle, com valor máximo de 4 m^2 de folha por m^2 de superfície de solo ($\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$) aos 255 DAP, se mostrando similar ao IAF do tratamento 50 kg ha^{-1} de N (Figura 12). Segundo Machado et al. (1982) o IAF ideal para um bom desenvolvimento da cana-de-açúcar está por volta de $4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$, o que proporcionaria o uso de aproximadamente 95% da radiação luminosa. Medina et al. (1970) afirmam que o IAF superior a $4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ pode ser prejudicial a cultura devido ao auto sombreamento. No entanto, este IAF apresentado pelo controle e pelo tratamento 50 kg ha^{-1} de N não proporcionou os melhores rendimentos de massa seca até os 295 DAP (Figura 5).

Embora a inoculação tenha favorecido IAF da cultura, o maior IAF foi obtido pelo tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação. Este tratamento (50 kg ha^{-1} de N + inoculação) apresenta IAF máximo aos 255 da ordem de $5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$, apresentando-se maior do que os demais tratamentos avaliados (Figura 12). Este maior IAF apresentado pelo tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação garantiu maior produtividade de folhas-bandeira na colheita final (Tabela 4). A partir destes resultados é possível inferir que na colheita final o tratamento adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação apresentou maior IAF do que o tratamento controle.

Santos et al. (2009) avaliando a influência de fontes de P no desenvolvimento da cana-de-açúcar, variedade RB75126 em ciclo de cana-planta na Usina Guaxuma (Coruripe, AL), observaram valores de IAF da ordem de $5 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$, corroborando os resultados encontrados no presente ensaio. Oliveira et al. (2007) afirmam que a absorção do N pode elevar a atividade meristemática, estimulando maior perfilhamento e longevidade das folhas, proporcionando maior IAF. Este incremento pode estar elevando a eficiência no uso da radiação solar medida como a fixação de CO_2 , aumentando consequentemente a produção de biomassa. Assim o

maior IAF obtido no tratamento 50 kg ha^{-1} N + inoculação pode ter contribuído com maior acúmulo inicial de biomassa (Figura 6).

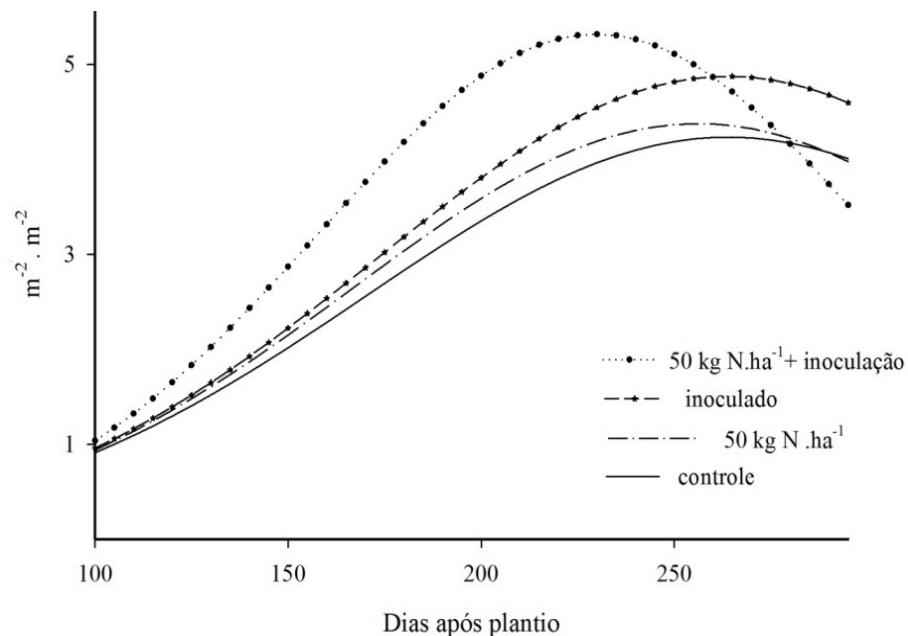


Figura 12: Índice de área foliar (IAF) de cana-de-açúcar, variedade RB92579, entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A curva da taxa de assimilação líquida (TAL) dos tratamentos avaliados apresenta padrão diferenciado (Figura 13). O controle obteve TAL máxima de $9 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ aos 190 DAP e o tratamento com 50 kg ha^{-1} de N apresentou TAL máxima de $7 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ aos 195 DAP.

Embora o tratamento que recebeu adubação com 50 kg ha^{-1} N + inoculação apresente curva da TAL inferior a dos demais tratamentos avaliados, o maior IAF apresentado por este tratamento (50 kg ha^{-1} N + inoculação) pode estar compensando esta redução na taxa de assimilação líquida (Figuras 12 e 13).

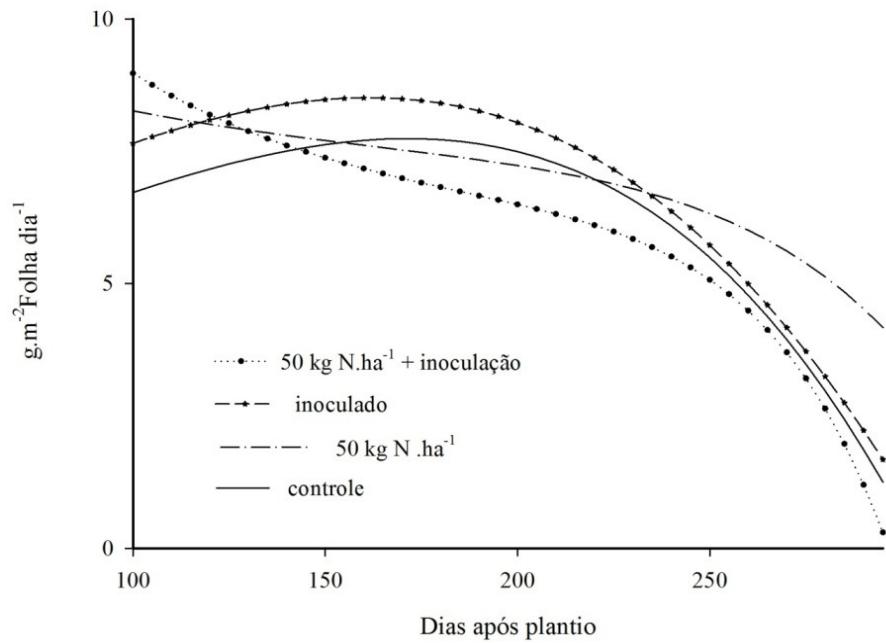


Figura 13: Taxa de assimilação líquida (TAL) de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

4.4 Acúmulo de Nutrientes na Cana-de-açúcar e Taxa de Absorção

A inoculação tanto separada quanto associada a 50 kg ha⁻¹ de N promoveu incremento no acúmulo de N quando em comparação ao controle e o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N, com valores máximos aos 240 DAP (Figura 14).

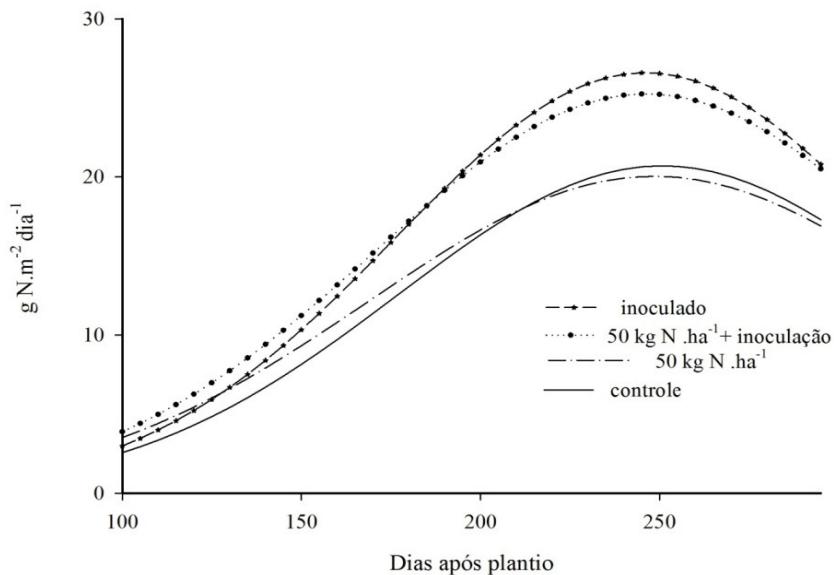


Figura 14: Acúmulo de N na cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A taxa de absorção máxima de N ocorreu aos 170 DAP, seguida por redução contínua até os 250 DAP em todos os tratamentos (Figura 15). O controle e a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N apresentaram menores taxas ao longo do período de avaliação, com valores máximos de 0,15 g de N m⁻² dia⁻¹ e 0,16 g de N m⁻² dia⁻¹, respectivamente. A inoculação proporcionou a maior taxa de absorção de N com 0,23 g de N m⁻² dia⁻¹. A associação da adubação com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação proporcionou taxa de absorção máxima da ordem de 0,20 g de N m⁻² dia⁻¹, indicando que a inoculação favoreceu a taxa de absorção de N das plantas de cana-de-açúcar.

A inoculação e a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação promoveram os maiores aumentos na absorção e acúmulo de N em torno de 240 DAP. Estes resultados mostram que nesta fase de cultivo (240 DAP) a inoculação promoveu aumento na absorção de N em detrimento ao tratamento que recebeu somente a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N e o controle. A superioridade do tratamento inoculado e do tratamento que recebeu 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação refletiu no acúmulo de palha e folhas-bandeira no momento da colheita, indicando que a inoculação promoveu aumento na fração vegetativa das plantas. Vários são os estudos que apontam para a capacidade de bactérias em promover o crescimento das plantas. Dobbelaere et al. (2003), afirmam que a inoculação de *Azospirillum brasiliense* pode produzir substâncias que elevam o desenvolvimento radicular, favorecendo maior exploração do solo e aquisição de nutrientes.

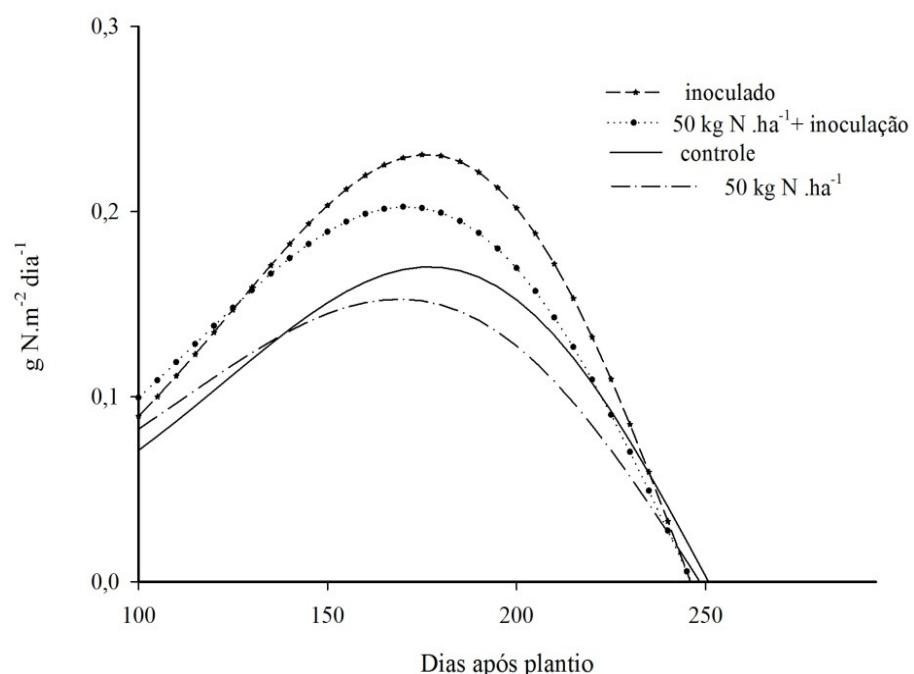


Figura 15: Taxa de absorção de N de cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

De acordo com a Figura 16, o controle e o tratamento com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N apresentaram acúmulo de P similares ao longo do período de avaliação. A associação da inoculação com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou efeito aditivo no acúmulo de P com o máximo acumulado de 3,68 g m⁻² de P aos 260 DAP, se mostrando com maior acúmulo ao longo do período de avaliação. Ao relacionar as curvas de acúmulo de matéria

seca (Figura 6) com a de acúmulo de P observa-se alteração nas distâncias entre as curvas, sugerindo que pode ter ocorrido elevação nos teores de P devido à inoculação das bactérias promotoras de crescimento. Este maior acúmulo de P observado no tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação até os 295 DAP proporcionou superioridade no acúmulo de P na colheita final em relação ao controle e ao tratamento inoculado.

Elevadas doses de P aplicado em solos intemperizados no plantio são justificadas pela grande fixação, principalmente em solos onde se observa predomínio de sesquióxidos (Novais et al., 1999). Este ensaio foi conduzido em um Argissolo, ainda que este seja menos intemperizado que outros solos brasileiros (Latossolos), pode ocorrer a fixação P reduzindo sua disponibilidade para a cultura. Este maior acúmulo de P pelo tratamento com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação e do tratamento inoculado (Figura 16) pode estar relacionada à capacidade das bactérias em produzirem substâncias como auxinas, estimulando o crescimento radicular e ao mesmo tempo solubilizar fosfatos (VIDEIRA et al., 2012).

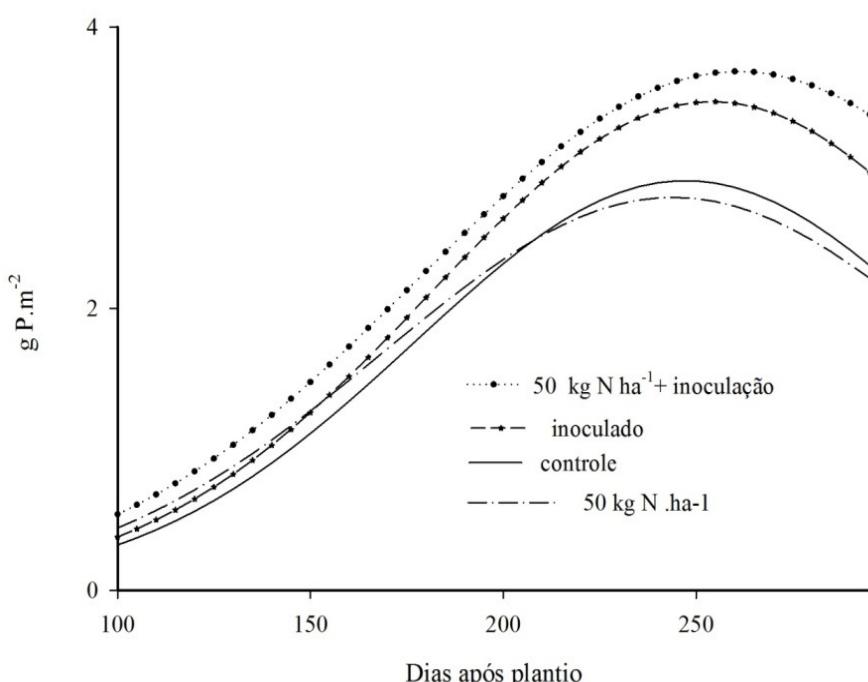


Figura 16: Acúmulo de P em cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A maior taxa de absorção de P foi alcançada pelo tratamento inoculado, com valores da ordem de 0,029 g P m⁻² dia⁻¹, seguido pelo 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação, com máximo de absorção de 0,028 g P m⁻² dia⁻¹ (Figura 17). A adubação com 50 kg ha⁻¹ de N e o controle atingiram absorção máxima da ordem de 0,025 e 0,022 g P m⁻² dia⁻¹, respectivamente. Tanto nos tratamentos, como no controle o máximo da taxa de absorção de P ocorreu por volta dos 180 DAP. A curva de absorção sugere que a inoculação favoreceu a taxa de absorção de P em comparação com o controle e a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N.

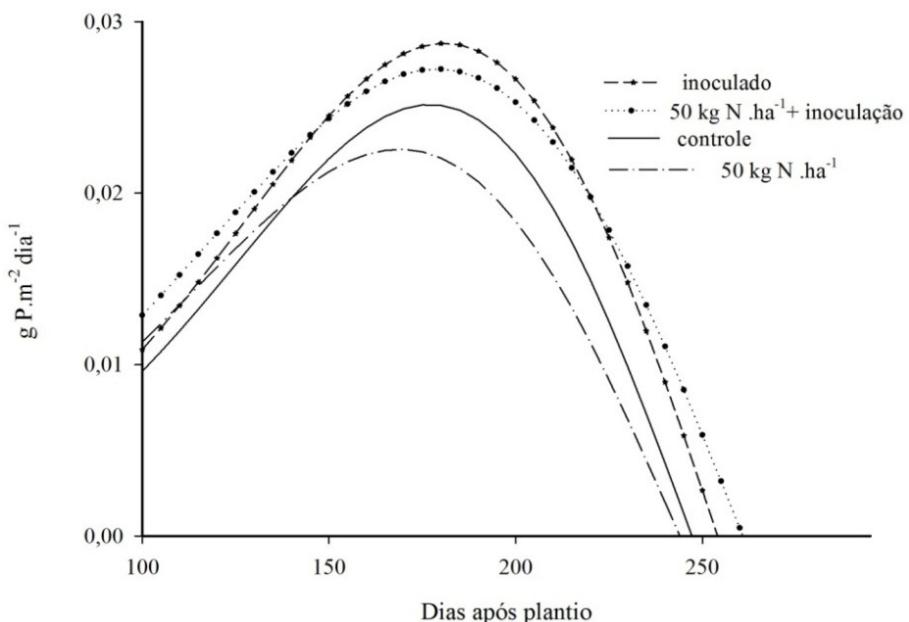


Figura 17: Taxa de absorção de P de cana-de-açúcar, variedade RB92579, entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Os resultados do acúmulo de K acompanharam o acúmulo de matéria seca (Figura 6). Aos 245 DAP o acúmulo de K no tratamento inoculado foi de 20 g m^{-2} , no entanto a associação da inoculação com adubação nitrogenada (50 kg ha^{-1} de N) proporcionou efeito aditivo no acúmulo de K. Nesta época o acúmulo de K para este tratamento (50 kg ha^{-1} de N + inoculação) foi de 24 g m^{-2} (Figura 18). Desta forma, estes resultados sugerem que a inoculação favoreceu o acúmulo de K quando em comparação ao controle e ao tratamento 50 kg ha^{-1} de N. Possivelmente este comportamento inicial tenha contribuído para a elevação no acumulo de K apresentado pelos tratamentos inoculado e adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação observado na colheita final (Tabela 4).

A taxa de absorção do K apresentou seu valor máximo aos 240 DAP (Figura 19). A maior taxa de absorção ocorreu no tratamento adubado com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação, seguido do tratamento inoculado. Nesta época a taxa de absorção do tratamento inoculado foi de $0,17 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ de K e o tratamento 50 kg ha^{-1} de N + inoculado apresentou valor da taxa de absorção da ordem de $0,21 \text{ g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ de K, ambos maiores que a adubação nitrogenada com 50 kg ha^{-1} de N e o controle, indicando um efeito positivo da associação da dose de 50 kg ha^{-1} de N e a inoculação.

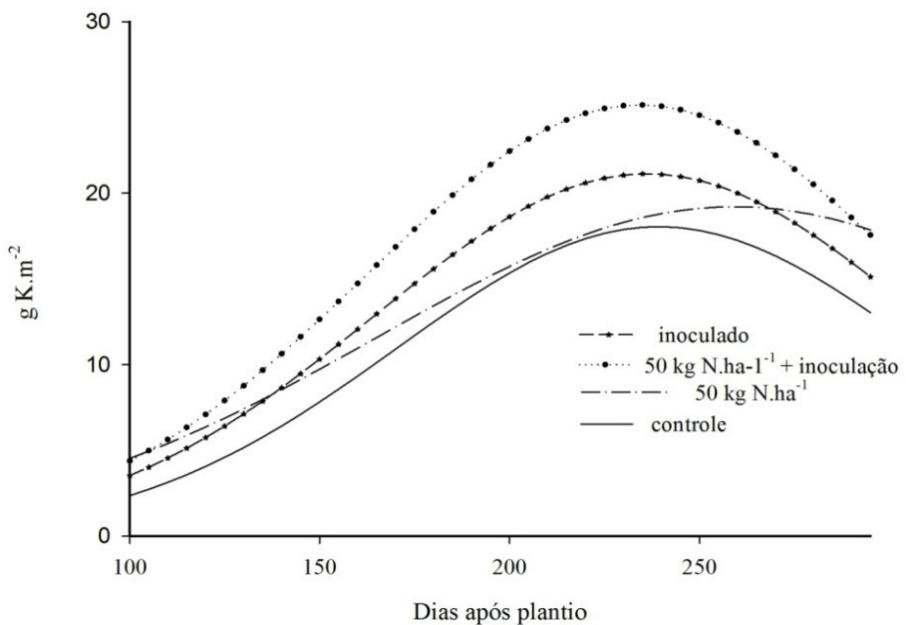


Figura 18: Acúmulo de K, em cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Times New Roman em todas as figuras e tabelas, inclusive nas legendas – Figura acima legenda em y.

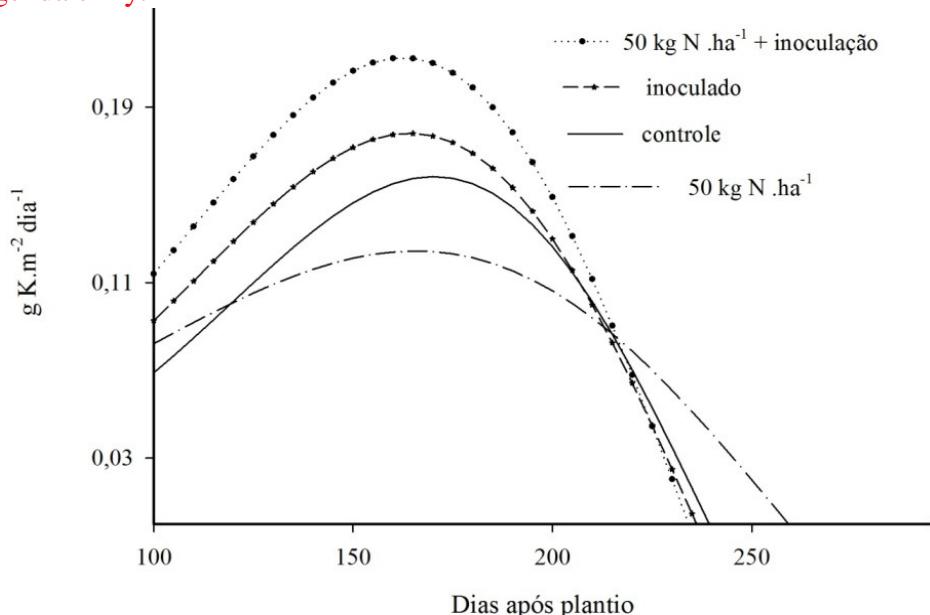


Figura 19: Taxa de absorção de K em cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Embora o tratamento inoculado apresente maior taxa de absorção de Ca em relação ao tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação (Figura 21), é possível observar que o tratamento inoculado tem padrão de acúmulo Ca similar ao tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação

(Figura 20). Este efeito pode estar relacionado ao fato do tratamento inoculado ter apresentado menor produtividade de matéria seca ao longo do período de avaliação (Figura 6). A inoculação favoreceu o acúmulo de Ca, acompanhando os resultados de produtividade de matéria seca ao longo do ciclo vegetativo (Figura 6), entretanto na colheita final não foi possível observar incrementos no acúmulo deste nutriente.

De acordo com a Figura 20 os tratamentos controle e 50 kg ha^{-1} de N apresentaram curvas de acúmulo de Ca similares, com valores máximos obtidos aos 280 DAP. A inoculação favoreceu o acúmulo de Ca de maneira que o acúmulo máximo dos tratamentos inoculado e 50 kg ha^{-1} de N + inoculação se deu aos 255 DAP, com antecipação de 25 dias em relação ao controle e adubação com 50 kg ha^{-1} de N (Figura 20). Khalid et al. (2003) afirmaram que bactérias isoladas da rizosfera são dotadas da capacidade de produzir substâncias reguladoras de crescimento como o ácido indol acético (AIA) que podem promover o desenvolvimento do sistema radicular, facilitando melhor aproveitamento dos nutrientes disponíveis no solo.

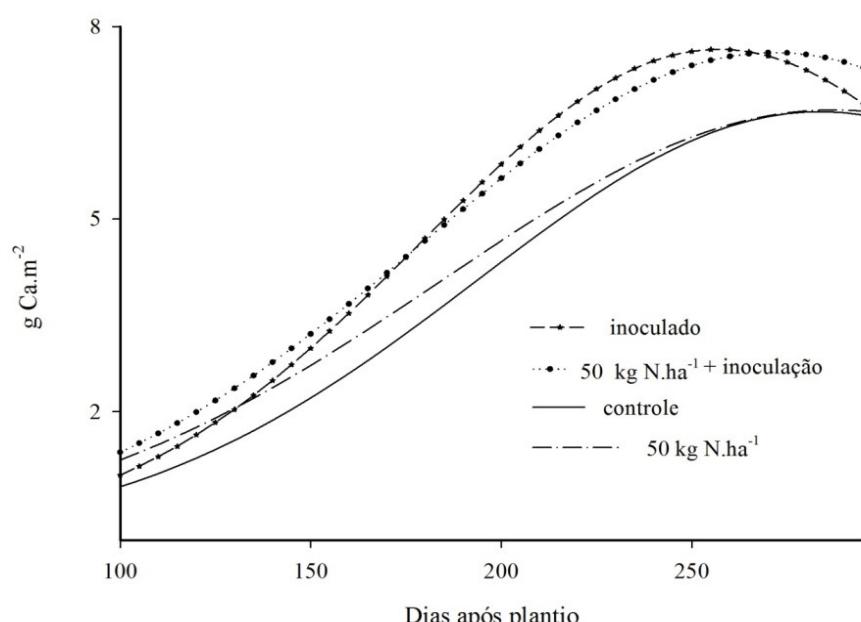


Figura 20: Acúmulo de Ca em cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A taxa de absorção de Ca foi beneficiada pela inoculação e pela associação da adubação nitrogenada ao inoculante (Figura 21). A taxa máxima de absorção de Ca no controle e na adubação com 50 kg ha^{-1} de N ocorreu aos 185 DAP, atingindo valores da ordem de $0,039$ e $0,044 \text{ g m}^2 \text{ dia}^{-1}$, respectivamente. Ao mesmo tempo a inoculado e a associação da dose de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação alcançaram taxa de absorção de $0,059$ e $0,049 \text{ g m}^2 \text{ dia}^{-1}$ a partir dos 120 DAP, respectivamente. Estes resultados mostram que o inoculante proporcionou aumentos na taxa de absorção de Ca, tanto aplicado isoladamente quanto associado à adubação com 50 kg ha^{-1} de N, embora na associação a eficiência seja menor.

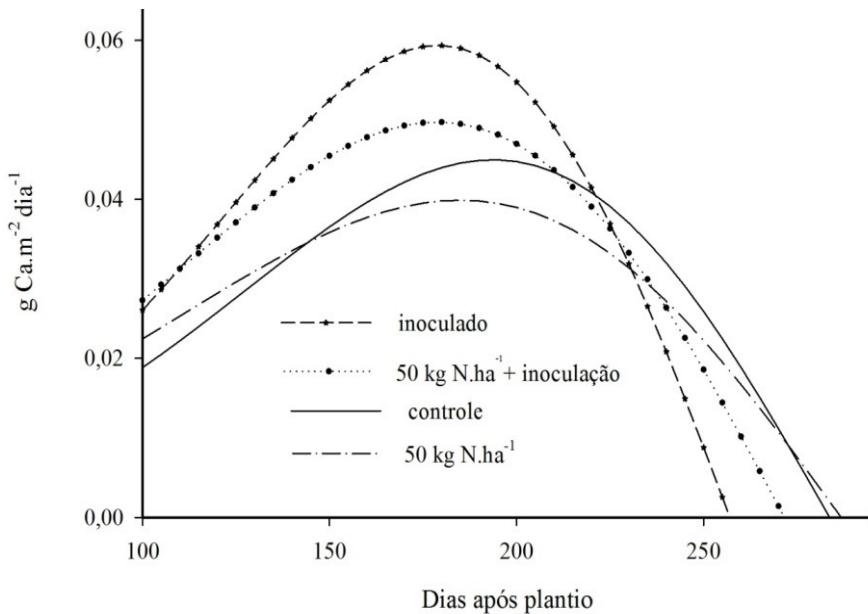


Figura 21: Taxa de Absorção de Ca da variedade de cana-de-açúcar RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica RJ.

O acúmulo de Mg de modo geral acompanhou o padrão do acúmulo de matéria (Figura 22). O controle e o tratamento 50 kg ha^{-1} de N apresentaram acúmulo de Mg inferior ao tratamento inoculado e ao tratamento com adubação com 50 kg ha^{-1} N + inoculação até os 275 DAP. A partir deste ponto houve queda no acúmulo de Mg nos tratamento com inoculação e a adubação com 50 kg ha^{-1} N + inoculação, tornando-se inferiores aos acúmulos observados no controle e na adubação com 50 kg ha^{-1} de N. O acúmulo máximo do controle e da adubação com 50 kg ha^{-1} de N ocorreu aos 275 DAP com valores de $3,36$ e $3,7 \text{ g m}^{-2}$, respectivamente. O tratamento inoculado e adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação apresentaram a curva de acúmulo de Mg similares, com acúmulo máximo de $3,8 \text{ g m}^{-2}$ aos 255 DAP. Embora o tratamento inoculado tenha apresentado padrão de acúmulo de Mg semelhante ao tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculado até os 255 DAP, na colheita final o tratamento inoculado apresentou acúmulo de Mg estatisticamente superior ao tratamento com adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculado (Tabela 4). O Mg faz parte da molécula de clorofila, estando relacionado à atividade da fotossíntese (Maathuis, 2009). Desta forma o maior acúmulo de Mg obtido pelos tratamentos inoculado e adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação ao longo do período de avaliação, associado ao efeito promotor de crescimento das bactérias inoculadas (VESSEY, 2003), pode ter contribuído para a maior acúmulo mátria seca apresentada por estes tratamentos até os 295 DAP (Figuras 6 e 22).

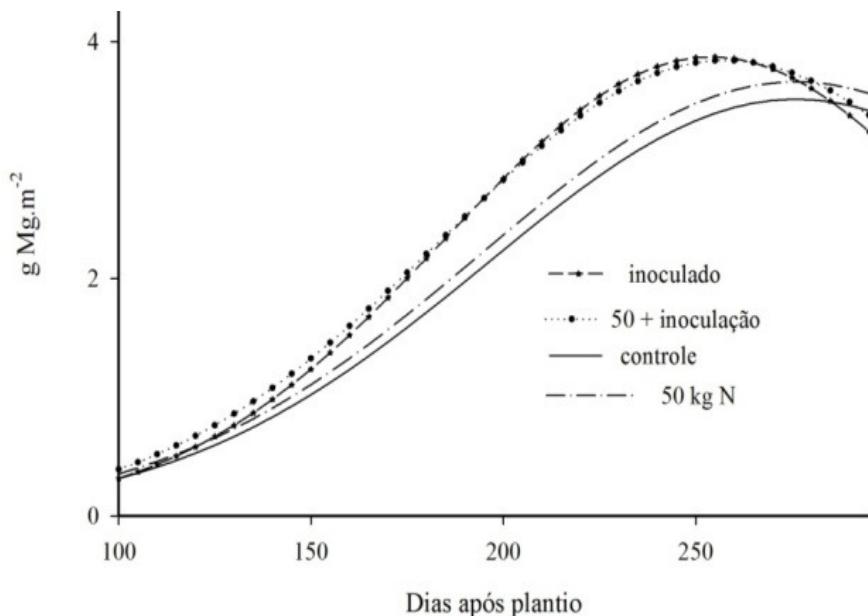


Figura 22: Acúmulo de Mg em cana-de-açúcar, variedade RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Dados originais ajustados ao modelo polinomial de 2º grau. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

A taxa de absorção do Mg foi beneficiada pela inoculação e pela associação da inoculação + 50 kg ha⁻¹ de N até os 225 DAP (Figura 23). O controle e o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N apresentaram curvas semelhantes, indicando que a adubação de 50 kg ha⁻¹ de N não proporcionou efeitos aditivo na taxa de absorção de Mg em relação ao controle. Estes tratamentos apresentaram absorção máxima aos 205 DAP, com valores da ordem de 0,026 g Mg m² dia⁻¹. Os tratamentos, inoculado e adubação com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação apresentaram absorção máxima aos 190 DAP, com valores da ordem de 0,033 e 0,031 g m² dia⁻¹, respectivamente. A absorção de Mg resultante da associação do inoculante com a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N mostra que houve efeito aditivo do inoculante na taxa de absorção de Mg em relação ao tratamento que recebeu somente adubação com 50 kg ha⁻¹ de N, embora o tratamento que recebeu somente a aplicação do inoculante tenha sido maior do que a associação dos dois tratamentos.

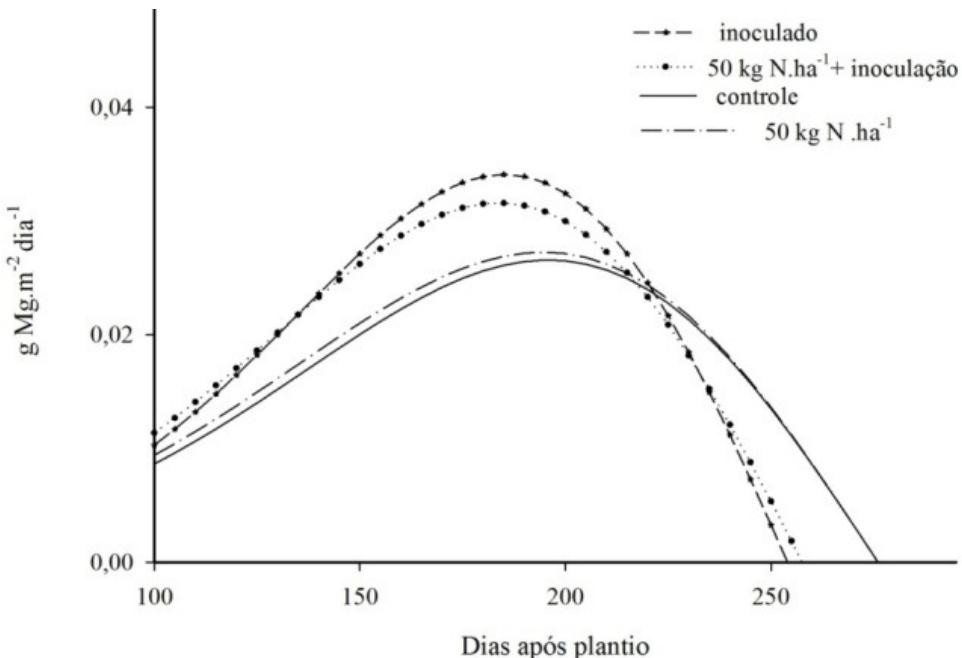


Figura 23: Taxa de absorção de Mg em cana-de-açúcar, variedade de RB92579 entre o período de agosto 2011 a fevereiro 2012. Ensaio conduzido na Estação Experimental Embrapa Agrobiologia, Seropédica RJ.

4.5 Colheita Final

A produtividade de colmo da cana-de-açúcar foi de 185, 179, 181 e 189 Mg ha^{-1} para os tratamentos inoculado, adubação com 50 kg ha^{-1} de N, adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação e o controle respectivamente (Tabela 4). As produtividades obtidas indicam que as condições de solo e clima favoreceram o desenvolvimento e o potencial produtivo da cultura, independentemente dos tratamentos aplicados, uma vez que o controle produziu na mesma ordem de grandeza que os tratamentos em estudo.

Apesar de não ter sido verificado diferença na produtividade de colmos, o acúmulo de palha e a produção de folhas-bandeira, material fotossinteticamente ativo no momento da colheita, foram influenciados pelos tratamentos. Os tratamentos com adubação nitrogenada e inoculação, associados ou não afetaram de forma significativa alguns parâmetros de avaliação, com destaque para o acúmulo de folhas-bandeira e os nutrientes acúmulos nas mesmas (Tabela 4).

Embora inicialmente (até 295 DAP) tenha sido observada maior produção de massa seca pelo tratamento inoculado e pelo tratamento adubação com 50 kg ha^{-1} de N + inoculação em relação ao controle (Figura 5), ao final do ciclo da cana-planta todos os tratamentos apresentam acúmulos similares de matéria seca total (Tabela 4). No entanto o tratamento adubação de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação apresentou produtividade de folhas-bandeira (fotossinteticamente ativa) superior ao controle e ao tratamento inoculado. Estes resultados indicam que a associação da dose de 50 kg ha^{-1} de N + inoculação proporcionou maior IAF e melhor vigor vegetativo das plantas, em relação ao controle e ao tratamento somente inoculado, até o momento da colheita, prolongando o período vegetativo e consequentemente atrasando a maturação dos colmos.

O experimento em questão foi colhido com treze meses, possivelmente se a colheita tivesse ocorrido aos dezoito meses após o plantio, o que proporcionaria às plantas mais cinco meses de permanência no campo, a produtividade de colmos do tratamento que recebeu a

adubação de 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação poderia ter sido superior aos demais tratamentos e o controle, uma vez que no momento da colheita (realizada aos treze meses) o controle apresentou 67% de folhas-bandeira em relação ao tratamento que recebeu 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação.

Almeida et al. (2008) avaliaram o desenvolvimento de quatro variedades de cana-de-açúcar (RB92579; RB931530; RB93509 e SP79-1011) em ciclo de cana-planta cultivadas em Latossolo Amarelo do campo experimental da Universidade Federal de Alagoas, e verificaram que a variedade RB92579 apresentou acúmulo de matéria seca de colmos na colheita, superior às demais variedades. Segundo os autores esta maior produtividade está relacionada ao melhor aparato fotossintético decorrente do maior IAF observado ao longo do ensaio, o que garantiu elevação da capacidade de aproveitar a energia luminosa e assim acumular mais fotoassimilados.

Os acúmulos de N nos colmos e na matéria seca total indicam que não houve diferença entre os tratamentos avaliados, acompanhando os resultados de acúmulo de matéria seca total. Embora o controle tenha produzido menor quantidade de palha que os demais tratamentos avaliados seu acúmulo de N foi superior aos demais tratamentos, sugerindo elevação nos teores de N do controle (Tabela 4). Nas folhas-bandeira os tratamentos com inoculação; 50 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação apresentaram acúmulo de N superior ao controle, o que reforça a hipótese de que a quantidade de colmos produzidos poderia ter sido superior se a colheita tivesse sido realizada aos dezoito meses.

A extração de N nos colmos corrobora com os resultados encontrados por Tasso et al. (2007), que avaliaram a extração de nutrientes em cinco variedades de cana-de-açúcar (RB855453; RB855156; RB835486; SP89-1115 e IAC91-2195) em um Latossolo Vermelho-Amarelo Eutrófico típico localizado no município de Colina-SP, sendo verificados valores que variaram de 62 a 150 kg ha⁻¹N.

O acúmulo de P foi expressivamente afetado pelos tratamentos em relação ao controle, sendo verificado que a adubação com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação promoveu o maior valor acumulado nas folhas-bandeira, resultado que remete à importância da colheita ter sido realizada aos dezoito meses, como já discutido anteriormente. Quanto ao acúmulo de P nos colmos, a redução do valor no tratamento inoculado em relação à adubação com 50 kg ha⁻¹ de N pode ser resultante de erros de processamento de amostras ou no processo de análise, uma vez que a diferença verificada não é expressiva, apesar de ter sido significativa. Ao avaliar a extração total é notável que a inoculação não proporcionou diferença estatística quando em comparação com o tratamento controle. No entanto quando se associa a inoculação com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N foi possível observar um efeito aditivo, de maneira que este tratamento (50 kg ha⁻¹ de N+ inoculação) se mostra superior ao controle e ao tratamento inoculado, sugerindo elevação nos teores de P por não acompanhar os resultados de massa seca. No entanto o incremento no acúmulo de P pelo tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação não foi suficiente para diferi-lo estatisticamente do tratamento com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N. Deve-se ressaltar que o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação apresenta maior acúmulo de P nas folhas-bandeira em comparação aos demais tratamentos avaliados, indicando melhor vigor vegetativo desse tratamento. Vários são os estudos que demonstraram a capacidade das bactérias promotoras de crescimento em proporcionar maior eficiência no uso ou aquisição de P do solo. A capacidade de bactérias produzirem auxinas e elevar a área de exploração da superfície radicular pode proporcionar melhor aquisição de nutrientes presentes no solo, associado a este fato a capacidade das bactérias em solubilizar fosfatos mediante liberação de ácidos orgânicos já é bem aceita (VIDEIRA et al., 2012).

Quanto ao K, destaca-se a superioridade da inoculação em acumular este elemento nos colmos, sendo superior ao controle e aos demais tratamentos. Este resultado sugere que a

inoculação pode ter favorecido maior translocação de açúcares, uma vez que o K está diretamente envolvido neste processo. Nas folhas-bandeira os tratamentos com inoculação e adubação nitrogenada, associado ou não apresentaram valores de acúmulo de K superiores ao controle, sendo o maior valor observado na associação de 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação. No acúmulo total de K na matéria seca total o maior valor ocorreu com a inoculação, influenciado pelo elevado valor encontrado nos colmos.

Ressalta-se que o tratamento inoculado apresentou produtividade de matéria seca nos colmos similar aos demais tratamentos, no entanto o acúmulo de K no colmo se mostra superior aos demais tratamentos avaliados. A partir desses resultados é possível inferir que o tratamento inoculado apresentou melhor eficiência no uso do K disponível no solo, o que favoreceu a elevação dos teores de K na planta. Este resultado é sugestivo de que o tratamento inoculado possa apresentar maior teor de açúcares nos colmos, devido à maior translocação de sacarose.

Rodrigues (2007) afirma que o K está efetivamente relacionado com o transporte de sacarose em plantas de cana-de-açúcar, independentemente se este transporte ocorre célula a célula em direção ao floema ou via floema. Pereira (2011) desenvolveu estudos sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar em um Latossolo Vermelho localizado em Valparaíso-SP, mediante o uso do inoculante microbiano lançado pela Embrapa Agrobiologia para cana-de-açúcar. Foi possível observar que não houve diferença estatística quanto à produtividade de açúcar, no entanto o incremento no tratamento inoculado em relação ao controle não inoculado foi da ordem de 1,36, 1,29, 1,12 e 0,8 Mg ha⁻¹, nas variedades RB935744, SP81-3250, RB72454 e RB92579, respectivamente.

Embora o tratamento com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação tenha apresentado baixo acúmulo de K no colmo, seu acúmulo de K na bandeira foi superior ao controle e demais tratamentos avaliados. Este fato justifica o baixo acúmulo nos colmos, uma vez que este elemento é móvel nos tecidos das plantas, sendo mais exigido nas folhas fotossinteticamente ativas, reforçando a afirmação de que o tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação no momento da colheita não estava com o período de maturação finalizado.

O acúmulo de Ca apresentou variação expressiva nas folhas-bandeira, sendo os tratamentos 50 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação superiores à inoculação e ao controle. Esse resultado indica que nas folhas fotossinteticamente ativas o acúmulo de Ca é dependente da presença de N no sistema. Ao final do ciclo da cana-planta o controle, tratamento inoculado, tratamento com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N e o tratamento com adubação de 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação apresentaram acúmulo de Ca respectivamente da ordem de 129,83; 133,07; 135,58; e 147,14 kg ha⁻¹ de Ca. Estes resultados corroboram os verificados por Mendes (2006) que avaliou a extração de Ca em oito variedades de cana-de-açúcar (RB72454; RB835486; RB867515; RB855536; RB928064; SP80-1816; RB801842; SP80-3280) cultivadas em um Argissolo Vermelho-Amarelo na Zona da mata mineira em ciclo de cana-planta.

Nos colmos os tratamentos inoculado e 50 kg ha⁻¹ de N acumularam 59 e 62 kg ha⁻¹ de Ca, extração superior a do tratamento 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação, porém iguais entre si e ao tratamento controle. Na palha não houve diferença entre os tratamentos e o controle.

O maior valor de acúmulo de Mg nas folhas fotossinteticamente ativas ocorreu no tratamento com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação, sendo superior ao controle e à inoculação, porém sem diferir da adubação com apenas 50 kg ha⁻¹ de N. Novamente observa-se que a associação da adubação nitrogenada com inoculação elevou o acúmulo de nutrientes, neste caso o Mg, reforçando a discussão sobre os benefícios desta associação para o caso da colheita ter sido realizada aos dezoito meses. Nos colmos o Mg apresentou o menor acúmulo no tratamento com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação, redução do acúmulo de Mg nos colmos pode

ser decorrente da translocação deste elemento para as folhas fotossinteticamente ativas, que neste momento apresentavam maior demanda pelo nutriente em relação aos colmos. Na palha não houve diferença entre os tratamentos para o acúmulo de Mg. Estes resultados são coerentes com os obtidos por Oliveira (2001) que avaliou o desenvolvimento da variedade de cana-de-açúcar SP81-3250 cultivada em um Latossolo Vermelho eutrófico no estado de SP mediante aplicação de doses de N (0; 40; 80; 120 kg N ha⁻¹), observando que ao final do ciclo de cana-planta a extração média de Mg variou de 60 a 90 kg ha⁻¹ de Mg.

Tabela 4: Produtividade de colmos, palha seca fresca, folhas-bandeira, acúmulo de matéria seca total e N, P, K, Ca e Mg da parte aérea de cana-de-açúcar, variedade RB92579, no ciclo de cana-planta colhida aos treze meses após o plantio. Experimento conduzido no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Tratamentos	Colmo	Palha	Bandeira	Total
	Peso fresco (Mg ha ⁻¹)			
Controle	189,52 a	17,31 b	17,50 b	224,34 a
Inoculação	185,04 a	19,96 ab	23,20 ab	228,21 a
50 kg ha ⁻¹ de N	179,37 a	20,61 ab	24,68 ab	224,67 a
50 kg ha ⁻¹ de N + inoculação	181,64 a	20,87 a	27,35 a	229,87 a
CV (%)	6,82	10,82	22,10	5,70
Matérias seca (Mg ha ⁻¹)				
Controle	49,84 a	15,39 b	6,67 c	71,91 a
Inoculação	48,29 a	17,38 ab	9,38 b	75,07 a
50 kg ha ⁻¹ de N	53,63 a	18,29 a	10,08 ab	82,01 a
50 kg ha ⁻¹ de N + inoculação	50,92 a	18,08 a	11,65 a	80,66 a
CV (%)	8,34	10,92	13,34	7,62
N (kg ha ⁻¹)				
Controle	149,66 a	68,02 a	74,19 c	279,31 a
Inoculação	124,73 a	58,42 b	106,17 b	287,18 a
50 kg ha ⁻¹ de N	141,19 a	56,52 b	112,31 ab	315,34 a
50 kg ha ⁻¹ de N + inoculação	123,94 a	54,61 b	130,03 a	317,99 a
CV (%)	16,25	10,46	13,82	12,15
P (kg ha ⁻¹)				
Controle	12,63 ab	5,78 a	7,42 c	25,84 c
Inoculação	10,49 b	6,16 a	10,44 b	27,10 bc
50 kg ha ⁻¹ de N	13,15 a	5,98 a	10,32 b	29,46 ab
50 kg ha ⁻¹ de N + inoculação	12,22 ab	6,61 a	12,30 a	31,14 a
CV (%)	15,37	15,59	13,43	9,54
K (kg ha ⁻¹)				
Controle	60,72 b	43,55 a	60,70 c	164,98 c
Inoculação	89,59 a	50,17 a	102,56 b	242,33 a
50 kg ha ⁻¹ de N	74,06 b	32,23 a	93,26 b	199,56 b
50 kg ha ⁻¹ de N + inoculação	39,55 c	30,69 a	125,95 a	196,20 b
CV (%)	17,83	39,22	29,65	10,99

Tabela 4: Continuação

	Ca (kg ha^{-1})			
Controle	49,54 ab	64,94 a	15,33 b	129,83 a
Inoculação	59,55 a	58,41 a	15,10 b	133,07 a
50 kg ha^{-1} de N	62,53 a	61,58 a	23,02 a	135,58 a
50 kg ha^{-1} de N + inoculação	41,47 b	70,14 a	23,96 a	147,14 a
CV (%)	24,68	14,67	29,65	13,39
	Mg (kg ha^{-1})			
Controle	50,68 a	20,08 a	7,59 b	78,36 ab
Inoculação	52,58 a	21,89 a	9,69 b	84,17 a
50 kg ha^{-1} de N	48,65 ab	20,57 a	8,06 ab	77,29 ab
50 kg ha^{-1} de N + inoculação	42,98 b	18,57 a	10,94 a	72,51 b
CV (%)	9,78	15,28	21,67	10,62

Média de 4 repetições. Valores seguidos das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste t LSD a 10% de probabilidade.

4.6 Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio

A Figura 24 mostra os teores de N disponível e do isótopo ^{15}N no perfil do solo na profundidade de 0 a 60 cm, obtidos a partir do experimento conduzido em casa de vegetação com plantas testemunhas. É possível observar que os valores de N disponível se elevam até a profundidade de 20 cm, seguida por redução a partir desta profundidade. O aumento de N disponível na camada de 0 a 20 cm pode ser resultado da aração e gradagem para o preparo do solo no plantio, favorecendo a decomposição de resíduos de milho anteriormente cultivado e a disponibilidade de N na camada de 0 a 20 cm.

O N disponível do solo apresenta enriquecimento com o isótopo ^{15}N até a camada de 15 a 30 cm de profundidade, seguindo com pequena variação nas camadas mais profundas, porém mantendo valores superiores ao observado na camada de 0 a 15 cm. Resultados similares aos obtidos neste estudo são relatados por Schultz et al. (2012) e Urquiaga et al. (2012). Este padrão de enriquecimento com o isótopo ^{15}N em profundidade foi observado em estudo desenvolvido por Schultz (2012) em diferentes solos do Brasil, e parece ser o padrão da maioria dos solos brasileiros.

Diversos estudos apontam para o enriquecimento de ^{15}N nos solos, estando este comportamento do isótopo relacionado com a discriminação isotópica. Hogberg. (1997) afirma que em solos de drenagem restrita a desnitrificação leva a emissão de N_2O e N_2 , estes gases são pobres em ^{15}N , desta forma o N mais leve é emitido favorecendo o enriquecimento de ^{15}N no solo.

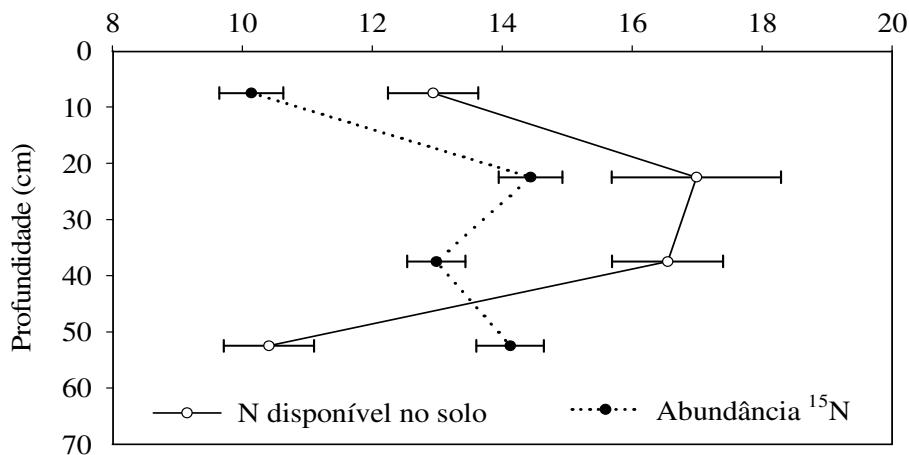


Figura 24: Variação da abundância natural de ^{15}N (%) e N disponível no perfil do solo (mg vaso $^{-1}$), absorvido pelas plantas testemunhas (Painço - *Panicum mileaceum*; Sorgo - *Sorghum bicolor* e Milheto - *Pennisetum glaucum*) cultivadas em casa de vegetação com o solo do campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Barras equivalem a erro padrão da média.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados de delta ^{15}N das folhas-bandeira, contribuição da FBN dos tratamentos controle e inoculado observados em sete épocas de amostragem e o valor de $\delta^{15}\text{N}$ do N disponível no solo, resultante da média ponderada do N extraído do solo pelas plantas testemunhas. Aos 100 DAP o valor de delta ^{15}N do tratamento inoculado foi superior ao observado no controle sem inoculação. De acordo com a (Figura 24) os valores de delta ^{15}N da ordem de 9,79 e 11,09 são encontrados nas profundidades de 0 a 10 e 10 a 20, respectivamente. Estes resultados sugerem que nesta época o tratamento inoculado absorveu N da camada mais profunda do solo quando em comparação com o tratamento controle. A maior exploração do solo pelo tratamento inoculado pode ter favorecido a eficiência no uso da água e nutrientes, contribuído para o efeito aditivo no acúmulo de matéria seca observado até os 295 DAP (Figura 6) e também aumento do acúmulo de palha e bandeira na colheita final (Tabela 4). Afirmações dessa natureza sobre as possíveis formas de influência da inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento, bem como no potencial produtivo da cana-de-açúcar ainda precisam de estudos mais detalhados, no entanto em estudo realizado por Schultz et al. (2012), sobre a inoculação em cana-de-açúcar utilizando o mesmo inoculante resultados similares foram observados. Outros autores apresentam relatos de aumento de crescimento de plantas com a inoculação de bactérias. Suman et al. (2005) avaliaram a influência de sete isolados de *Gluconacetobacter* em três níveis de aplicação de ureia (0; 75 e 150 kg ha $^{-1}$ de N), e verificaram efeitos positivos na promoção do crescimento e aquisição de nutrientes devido a inoculação das estirpes.

Nas coletas realizadas a partir dos 130 DAP observa-se diluição nos valores de delta ^{15}N nas folhas-bandeira, indicando a ocorrência da fixação biológica de N, tanto no controle quanto no tratamento inoculado, ou seja, fixação naturalmente associada à cana-de-açúcar, não sendo verificada diferença significativa entre os valores de delta ^{15}N do controle e o tratamento inoculado. Apesar de não haver diferença significativa entre os valores de delta ^{15}N nas folhas-bandeira do controle e do tratamento inoculado, observa-se que a partir da coleta realizada aos 186 DAP (outubro), assim como na primeira coleta, os valores de delta

$\delta^{15}\text{N}$ do tratamento inoculado são numericamente superiores aos observados no controle. A constante superioridade dos valores de delta $\delta^{15}\text{N}$ no tratamento inoculado em relação ao controle, mesmo que não seja estatisticamente significativa pode ser um indicativo de que as plantas inoculadas absorveram mais N em camadas mais profundas do solo, o que seria decorrente do maior desenvolvimento do sistema radicular das plantas inoculadas. Estes resultados corroboram os trabalhos de Schultz et al. (2012) e Schultz (2012), sendo este último o resultado de uma série de experimentos realizados em diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar do Brasil. Fazer afirmações baseadas em valores numéricos, ou seja, onde não se observa diferenças estatísticas pode resultar em equívocos em alguns casos, mas neste caso específico a constante repetição do fato deve ser considerada, uma vez que este pode ser exatamente um detalhe muito importante na pesquisa com o inoculante para a cana-de-açúcar.

A FBN ocorreu tanto no controle quanto no tratamento inoculado, dando evidências de que a inoculação não influenciou nesse o processo, que é naturalmente associado à cana-de-açúcar. Na primeira coleta a FBN do tratamento inoculado foi inferior ao controle, o que se atribui à hipótese de a cana-de-açúcar inoculada ter explorado a camada mais profunda do solo, onde o enriquecimento com o isótopo $\delta^{15}\text{N}$ é superior à camada superficial, a qual deve ter sido mais explorada pelas plantas do controle. Estes resultados sugerem que as bactérias inoculadas atuaram mais como promotoras de crescimento das plantas do que no processo de FBN.

De acordo com Baldani et al. (2009) a fixação de N² atmosférico é a ultima alternativa para obtenção de N pelos microorganismos diazotróficos. Sendo a atividade da nitrogenase fortemente regulada pela presença de uma fonte de N. Boddey et al. (2001) avaliou a FBN na UFRRJ/ Campos-RJ, utilizando a *Croton lobatus* como planta referência, onde foi possível observar valores de contribuição de FBN da ordem de 45%, corroborando os resultados obtidos neste ensaio.

Tabela 5: Delta (δ)¹⁵N de folhas-bandeira e N derivado da FBN da cana-de-açúcar (RB92579) inoculada com bactérias Promotoras de crescimento e do controle. Entre o período de Agosto 2011 a julho 2012.

DAP	Delta N ¹⁵ folhas-bandeira		% FBN		$\delta^{15}\text{N}$ do solo (%)
	Controle	Inoculado	Controle	Inoculado	
	%		%		
100 - Agosto	9,79 ± 0,73 b	11,09 ± 0,19 a	24,07 a	13,98 b	
130-Setembro	7,84 ± 0,29 a	7,82 ± 1,09 a	39,21 a	39,36 a	
168-outubro	7,57 ± 0,10 a	8,46 ± 1,03 a	41,32 a	34,42a	
212-Dezembro	7,60 ± 0,93 a	8,36 ± 0,90 a	41,04 a	35,18a	12,92
261-Janeiro	8,66 ± 0,79 a	9,17 ± 1,85 a	32,87 a	28,85a	± 0,84
295-Fevereiro	7,73 ± 0,29 a	8,28 ± 0,68 a	40,06 a	35,84a	
Colheita final	8,72 ± 1,11 a	8,90 ± 0,49 a	32,37 a	30,96a	
CV ₁ (%)	8,77		17,16		
CV ₂ (%)	8,48		18,30		

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste LSD a 10%; * Comparação na linha dos valores de delta $\delta^{15}\text{N}$ do solo em relação ao controle e tratamento inoculado, significativo pelo teste LSD a 10%; CV₁= coeficiente de variação das parcelas subdivididas; CV₂= colheita final.

4.7 Recuperação de N-fertilizante

Não houve diferença significativa na recuperação de N-fertilizante entre os tratamentos com 50 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação (Tabela 6). Na primeira avaliação realizada aos 100 DAP os valores de recuperação foram inferiores à demais

avaliações, o que se explica pelo menor desenvolvimento do sistema radicular das plantas nesta fase do cultivo. Estes resultados sugerem que a associação da inoculação a adubação nitrogenada (50 kg ha^{-1} de N) não proporcionaram efeito aditivos na recuperação do N nas condições de condução do ensaio, no entanto, deve-se destacar que com exceção da colheita final o tratamento que recebeu 50 kg ha^{-1} de N associado à inoculação apresentou moderada elevação na recuperação do N-fertilizante, o que reforça a hipótese de que o inoculante pode estar promovendo aumento do sistema radicular e melhor aproveitamento do N aplicado no solo, conforme já afirmado anteriormente.

Os valores de recuperação de N-fertilizante observados neste estudo corroboram os relatados por Oliveira et al. (2000), onde os autores relatam valores de recuperação de N-fertilizante de 60% em cana-planta. A elevada eficiência de recuperação do N-fertilizante neste estudo explica-se pela aplicação da ureia no fundo do sulco de plantio no momento do plantio, o que reduziu as perdas de N por volatilização e proporcionou maior recuperação pelas plantas. De acordo com Trivellin et al. (2002) a incorporação da ureia a uma profundidade que de 15 a 20 cm é o suficiente para minimizar as perdas por volatilização de amônia. Franco et al. (2008) ainda afirmaram que na cultura de cana-de-açúcar as perdas por lixiviação podem ser desconsideradas, pois com o uso da técnica de N marcado (^{15}N) se constatou que as perdas de N fertilizante decorrente da lixiviação são pequenas.

Por ocasião da colheita final os valores de recuperação de N fertilizante dos tratamentos 50 kg ha^{-1} de N e 50 kg ha^{-1} de N + inoculação foram da ordem de 51 e 50 %, respectivamente. É notável a redução nos valores de recuperação do N-fertilizante dos tratamentos 50 kg ha^{-1} de N e 50 kg ha^{-1} de N + inoculação no período de fevereiro até a colheita final. Possivelmente esta redução esteja relacionada à translocação do N da parte aérea das plantas para o sistema radicular, como reserva para a rebrota das soqueiras.

Diversos estudos demonstram a capacidade da cana-de-açúcar em translocar nutrientes móveis da parte aérea em direção às raízes. Durante a maturação fisiológica o N decorrente da degradação das proteínas pode ser translocado via floema. Associado a este fato, estima-se que cerca de 7% do N aplicado pode ser recuperado pela planta e translocado da parte aérea para as raízes (TRIVELLIN et al., 1984).

Tabela 6: Recuperação N-fertilizante enriquecido com 0,8% de átomos ^{15}N em excesso nos tratamentos com 50 kg ha^{-1} de N e 50 kg ha^{-1} de N + inoculação.

DAP	50 kg N ha^{-1}	50 kg N ha^{-1} + inoc
	(%)	
100 - Agosto	33,24	34,10
130-Setembro	47,92	52,81
168-outubro	58,07	61,62
212-Dezembro	58,99	65,93
261-Janeiro	64,66	67,38
295-Fevereiro	57,57	65,64
Colheita final	50,92	49,53
CV ₁ (%)	16,69	
CV ₂ (%)	13,14	

A ausência de letras significa que não houve diferença pelo teste t LSD a 10%. CV₁= coeficiente de variação das parcelas subdividida; CV₂= colheita final.

5 CONCLUSÕES

A adubação com 50 kg ha⁻¹ de N associada à inoculação reduziu o número de perfilhos e melhorou o desenvolvimento dos perfilhos remanescentes.

A inoculação elevou a taxa de crescimento e o índice de área foliar da cana-de-açúcar.

A adubação com 50 kg ha⁻¹ de N associado à inoculação aumentou o acúmulo de N, P, K, Ca e Mg nas folhas-bandeira no momento da colheita.

A produtividade de colmos não foi afetada pela adubação nitrogenada, nem pela inoculação, no entanto a associação da adubação com 50 kg ha⁻¹ de N + inoculação promoveu aumento na produção de palha seca fresca e folhas-bandeira na colheita final.

A eficiência da adubação nitrogenada que variou ao redor de 50% na colheita final não foi afetada pela inoculação.

A inoculação não alterou a FBN naturalmente associada à cana-de-açúcar

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO A. P. Analysis of variance of primary data on plant growth analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 38, n°. 1, p. 1-10, 2003.
- ARNOLD, S. L.; SCHEPERS, J .S. A simple roller-mill grinding procedure for plant and soil samples. **Communication Soil Science Plant Analysis** v.35, p. 537-545, 2004.
- ALMEIDA, A. C. S.; SOUZA, J. L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G. V. S.; FILHO, G. G. Desenvolvimento vegetativo e produção de variedades de cana-de-açúcar em relação a disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência e Agrotecnologia** v. 32, n°. 5, p. 1441-1448, 2008.
- ANDA – Associação Nacional para Difusão de Adubos. Estatísticas. Principais Indicadores do Setor de Fertilizantes. Disponível em <<http://www.anda.org.br>>. Acesso em junho de 2009/2011.
- ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; LOPES, R. S.; JUNIOR, D. N.; CECON, P. R.; QUEIROZÓ, D. S.; PEREIRA, D. H., REIS, S. T. Análise de crescimento do capim-elefante ‘Napier’ adubado e irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 2, p. 415-423, 2004.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V .L. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience; **Anais da Academia Brasileira de Ciencia**, n°77,p.549-579,2005.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal : FUNEP, 42 p. 1988.
- BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals. In: **Current Developments in Biological Nitrogen Fixation**, v.42, p. 277-313, 1984.
- BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, J. A.; BRUNO, J. R. A.; Use of the 15N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N2 fixation to sugar cane and other grasses. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.57, p. 235–270, 2000.
- CARNAUBA,B.A.A. O Nitrogênio e a Cana-de-açúcar. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos** v. 8, n° 34, p 24-39, 1990.
- COLETI J. T.; CASAGRANDE, J. C.; ESTUPIELLO, J. J.; RIBEIRO, G. R.; OLIVEIRA, G. R. Remoção de nutrientes pela cana planta e cana soca em argissolo, variedades RB835486 e SP 13250. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**. Piracicaba, v. 24, n. 5, 2006.
- CONAB.Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Disponível em www.conab.gov.br/conabweb/download/safra Acesso em: 01 de junho de 2010.
- DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**,v.22,p.107-149, 2003.

DOBBELAERE.S.; CROONENBORGHS, A.; THYS, A.; VANDE, B. A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasiliense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, v. 212, p. 155–164, 1999.

DOBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugar cane. **Plant and Soil** v.15, n.3 p. 211-216, 1961.

FIESP - Federação das Indústrias do Estado de São Paulo.disponível em www.fiesp.com.br ; acesso em 12/09/2011.

FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O.; FARONI, C. E. F.; VITTI, A. C.; OTTO, R. Aproveitamento pela cana-de-açúcar da adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2763-2770, 2008.

FRANCO, H. C. J.; BOLOGNA, I. R.; FARONI.; VITTI, A. C.; TRIVELLIN, P. C. O. Acúmulo de macronutrientes em cana-de-açúcar em função da adubação nitrogenada e dos resíduos culturais incorporados ao solo no plantio.falta o endereço do acesso. **Bragantia**,v.66,N°4,p.669-674,2007.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; PENATTI, C. P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 36, n. 2,p.1347-1354, 2000.

HÖGBERG, P. Transley review No 95 – N-15 natural abundance in soil-plant system. **New Phytologist** v. 137, n. 2, p. 179-203, 1997.

HUNT, R. **Plant growth curves**. The functional approach to plant growth analysis. London: Edward Arnold, 247 p. 1982.

HERMANN, E.R.; CÂMARA, G.M.S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **STAB- Açúcar Álcool e Subprodutos** v.17, n.5, p.32-34, 1999.

IDO, O. T. Desenvolvimento radicial e caulinar, de três variedades de cana-de-açúcar, em Rizotron, em dois substratos. 141p. Tese (Doutorado em Agronomia, Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. 2003.

IBGE - **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, Sistema IBGE e recuperação automática – SIDRA**. Disponível em www.ibge.gov.br, acessado em: 3 agosto. 2011.

IPCC, 1997. Greenhouse Gas Inventories. Revised 1996 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Disponível em <www.ipcc.ch> Acesso em 03/03/2010.

KASS, D.C.; DROSDOFF. M.; ALEXANDREM. Nitrogen fixation by *Azotobacter paspali* in association with Bahia grass (*Paspalum notatum*). **American Journal of Soil Science Proceedings** v.35, p.286–289, 1971.

KHALID, A.; ARSHAD, M.; ZAHIR, Z. A. Growth and yield response of wheat to inoculation with auxin producing PGPR. **Pakistan Journal of Botany** v.35, p.483-498, 2003.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução : PRADO, C. H. B. A. São Paulo : Editora RiMa, 531p. 2000.

LEDGARD, S.F.; FRENEY, J.R.; SIMPSON, J.R. Variations in natural enrichment of 15N in the profiles of some Australian Pasture Soils. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.22, p.155-64, 1984.

MACHADO, E. C. **Fisiologia de produção de cana-de-açúcar**. In: PARANHOS, S.B. (Coord) Cana-de-açúcar: cultivo e utilização. Campinas, Fundação Cargil, 1982. v.1, cap.1, p.56-87.

MAGALHÃES, A.C.N. **Análise Quantitativa de Crescimento**. In: FERRI, M. G. (Ed). Fisiologia vegetal. São Paulo: EDUSP, p. 331-350, 1986.

MANTELIN, S.; TOURAIN, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.27-34, 2004.

MARTIN, P.; GLATZLE, A.; KOLB, W.; OMAY, H.; SCHMIDT, W. N₂ fixing bacteria in the rhizosphere: quantification and hormonal effects on root development. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.152, p.237-245, 1989.

MANTELIN, S.; TOURAIN, B. Plant Growth-promoting bacteria and nitrate availability: impact of development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.27-34, 2004.

MAATHUIS, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. **Plant Biology**, v.12, p.150-158, 2009.

MEDINA, E.; SAN JOSÉ, J. J.; SEQUEIRA, P. E. Análisis de la produtividad en caña de azúcar: III. Respiración en la oscuridad de hojas y tallos de cinco variedades de caña de azúcar y pérdidas nocturnas de materia seca. **Turrialba** v.20, n.2, p.302-306, 1970.

NOGUEIRA, A. R. A. **Manual de laboratório: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**/Ana Rita de Araújo Nogueira, Gilberto Batista de Souza. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 313p. 2005.

NOGUEIRA, E.M.; OLIVARES, F. L.; JAPIASSU, J. C.; VILAR, C.; VINAGRE, F.; BALDANI, J. I.; HEMERLY, A. Characterization of glutamine synthetase genes in sugarcane genotypes with different rates of biological nitrogen fixation. **Plant Science** v. 169, p. 819-832, 2005.

NOVAIS, F. R.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, 399 p. 1999.

OLIVEIRA, E. C. A. **Dinâmica de nutrientes na cana-de-açúcar em sistema irrigado de produção**. 73 p. Dissertação (Universidade Federal Rural de Pernambuco) - Pernambuco, 2008.

OLIVEIRA, E. C. A. **Balanço nutricional da cana-de-açúcar relacionado a adubação nitrogenada**. 211 p. Tese (USP; Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz)- São Paulo, 2011.

OLIVEIRA, R. A. **Análise de crescimento da cana-de-açúcar na região Noroeste do Paraná**, 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção vegetal-UFPR) Paraná, 2004.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; ZAMBOM, J. L. C.; HEBER, H.; IDO, O. T.; RIBAS, K. C. Z.; KOEHLER, H. S.; SILVA, D. K. T. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, em cana planta, no Estado do Pará. **Scientia Agrária** v. 6 n. 1-2, p 85-89, 2005.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; CAMARGO, Z.; JOSÉ, L.; WEBER, H.; IDO, T.; BESPALHOK.; JOÃO, C.; ZUFFELLATOM, R.; KATIA, C.; TRAMUJAS, S.; DARANA, K. Área foliar em três cultivares de Cana-de-açúcar e sua correlação com a produção; **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, nº. 2, p. 71-76, 2007.

OLIVEIRA, E. C. A. Dinâmica de nutrientes na cana-de-açúcar em sistema irrigado de produção. 73 p. Dissertação - UFRPE, Pernambuco, 2008.

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

LOPES, J. P.; MACHADO, E. C.; DEUBER, R.; MACHADO, R. S. Análise de crescimento e trocas gasosas na cultura de milho em plantio direto e convencional. **Bragantia** v.68 nº.4, p.839-848, 2009.

TRIVELLIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; VITTI, A. C.; GAVA, G. J. C.; BANDASSOLLI, J. A. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 37, nº. 2, p. 193-201, 2002.

TRIVELIN, P. C. O.; COLETI, J. T.; LARA CABEZAS, W. A. R. Efeito residual na soqueira de cana-de-açúcar do nitrogênio da uréia aplicada por via foliar na cana planta. **Anais Piracicaba** v.14, p. 19-124, 1984.

PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Journal of Microbiology** v.42, p. 207–220, 1996.

PEREIRA, W. Produtividade e Qualidade Tecnológica da Cana-de-açúcar Inoculada com Bactérias Diazotróficas. Dissertação (Mestrado Agronomia - Ciência do solo- UFRRJ) 61p. 2010.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, E. C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidade de vegetais**. Boletim técnico. Instituto Agronômico de Campinas v.114, p. 33, 1987.

REIS, G. G.; MULLER, M. W. Análise de crescimento de plantas e mensuração do crescimento. Belém: CPATU, 1979. 35p.

RIDES- Catalogo nacional de variedades ' RB' de cana-de-açúcar. 136 p, 2010.

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R.M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ¹⁵N-isotope techniques. **Journal Biotechnology**. v.91, p.105-115, 2001.

ROSETTO, R.; DIAS, F.L.F. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar. Informações Agronômicas. nº. 110 p.78-90,2008.

RODRIGUES,J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar.** Disponível em:
www.residenciaagronomica.br.

RODRIGUES NETO, J.; MALAVOLTA, J. R. V. A; VICTOR, O. Meio simples para o isolamento e cultivo de *Xanthomonas campestris* pv. *Citri* TIPO B. Suma Phytopathologica,v.12, 16p. 1986.

SANTOS, V. R.; FILHO, G. M.; ABEL, W. A.; COSTA, J.; SANTOS, C. G.; ALDA, C. I. S. Crescimento e produtividade agrícola de cana-de-açúcar em diferentes fontes de fósforo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v.13, n.4, p.389–396, 2009.

SCARPARI, M. S.; BEUCLAIR, E. G. F. **Cana-de-Açúcar**, Instituto Agronômico v.1, p.47-56, 2008.

SILVA, T. G. F. Análise de crescimento, interação biosfera-atmosfera e eficiência do uso de água da cana-de-açúcar Irrigada no Submédio do Vale do São Francisco. Viçosa, 176 p. Tese (Doutorado em Meteorologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2009.

SPAEPEN, S.; VAN DURME, J.; DAS, F.; MAURER-STROH, S.; ROUSSEAU, F.; SCHYMKOWITZ, J.; VANDERLEYDEN, J. Brominated phenols as auxin-like molecules. **European Journal of Soil Biology**, v.45, no. 1, p.81-87, 2009.

SAUBIDET, M.I.; FATTA, N.; BARNEIX. The effect of inoculation with *Azospirillum brasiliense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil** v.245, p.215-222, 2002.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de duas variedades de cana de açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47,p. 261-268, 2012.

SUMAN, A.; GAUR, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; YADAV, R. L. Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Plant Growth Regulation**, v.47, p.155-162, 2005.

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

TRIVELLIN, P. C. O.; LARA, C. W. A. R.; VICTORIA, R. L.; REICHARD, K. Evolution of a ^{15}N plot design estimating plant recovery of fertilizer nitrogen applied to sugar cane. **Scientia Agricola**, v 51, n.2 p. 226-234, 1994.

TRIVELLIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUES, J. C. S. Aproveitamento de soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamonia ^{15}N e uréia ^{15}N aplicado ao solo em complemento a vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 30, n.12, p. 1375-1385, 1984.

TRIVELLIN P. C. O.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, M. W.; GAVA, G. J.; SARRIES, G. A. Utilização do nitrogênio e produtividade da cana de açúcar cana planta em solo arenoso com incorporação de resíduos da cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n.3, p.123-131, 2002.

UNKOVICH, M.; HERRIDGE, D.; PEOPLES, M.; CADISCH, G.; BODDEY, R.; GILLER, K.; ALVES, B.; CHALK, P. **Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems** n°. 136, 258p, 2008.

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

URQUIAGA, S.; BOTTEON, P. B. L.; BODDEY, R. M. Selection of sugar cane cultivars for associated biological nitrogen fixation using ¹⁵N-labelled soil. In Nitrogen Fixation with Non-legumes. **Plant and Soil** v.35, p. 311-319, 1989.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizosphere as biofertilisers. **Plant and Soil** v. 255, p.571-586, 2003.

VIDEIRA, S. S.; OLIVEIRA, D. M.; 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 and Soil** v.356, p.51–66, 2012.

VITORINO, R.; GARCIA, J. C.; AZANIA, C.; SILVA, D. M.; BELUCI, L. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial da cana de açúcar. **Congresso Internacional de Iniciação Científica**, n°12115,2012.

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

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

WITTY, J.F.; GILLER, K.E. Evaluation of errors in the measurement of biological nitrogen fixation using ¹⁵N fertilizer. In IAEA/FAO, Stable Isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies. **International Atomic Energy Agency**, Vienna, p. 59-72, 1991.

XAVIER, R. P. **Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio na Produção Sustentável da Cultura de Cana-de-Açúcar**. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, 71 p. 2006.