

---

## INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB 867515

GARCIA, J. C.<sup>1</sup>  
VITORINO, R.<sup>2</sup>  
AZANIA, C. A. M.<sup>1</sup>  
SILVA, D. M.<sup>2</sup>  
BELUCI, L.R.<sup>3</sup>

---

Recebido em: 2012-10-24

Aprovado em: 2013-04-19

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.828

---

**RESUMO:** Avaliou-se a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, variedade RB 867515, em casa de vegetação, em Ribeirão Preto, SP. O ensaio foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado em 6 repetições. As parcelas foram constituídas de vasos plásticos de 12 litros, com Neossolo Quartzarênico. Foi realizada uma adubação básica, comum a todos os tratamentos, referente a 120 kg. ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 1,15 t.ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico variando somente as doses de nitrogênio (120 e 60 kg.ha<sup>-1</sup>) e formas de inoculação das bactérias diazotróficas, conforme os tratamentos: 1. Adubação básica sem nitrogênio; 2 Adubação básica com 60 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 3. Adubação básica com 120 kg.ha<sup>-1</sup> de N; 4. Adubação básica, sem N com inoculação por imersão; 5. Adubação básica, sem N, acrescida de pulverização com inoculante. Foi avaliado o peso fresco e seco da parte aérea, altura de plantas, número de perfilhos e o teor de clorofila aos 60, 90 e 120 dias após plantio. Concluiu-se que a inoculação na forma de imersão proporcionou o mesmo peso fresco da parte aérea em relação às doses de nitrogênio aplicadas, entretanto, o peso seco foi maior nos tratamentos com adubação mineral. A inoculação por imersão proporcionou a mesma altura de plantas no desenvolvimento inicial cana-de-açúcar comparado com a adubação mineral. Para o número de perfilhos, a adubação mineral propiciou maiores médias comparado com as formas de inoculação. O teor de clorofila foi maior nos tratamentos envolvendo inoculação (imersão e pulverização) quando comparado com a adubação mineral aos 120 DAP.

**Palavras chaves:** Fixação biológica de nitrogênio. Cana-de-açúcar. nitrogênio

### INOCULATION OF DIAZOTROPHIC BACTERIAS IN THE INITIAL SUGARCANE DEVELOPMENT, RB867515 VARIETY.

**SUMMARY:** It was evaluated the efficiency of biological nitrogen fixation in the initial development of sugarcane, variety RB 867515, in a greenhouse located in the Ribeirão Preto, SP. The trial was conducted in a completely randomized design with six replications. The plots consisted of plastic pots with 12 liter each, using a sand soil. It was performed a basic fertilization, common to all treatments, relative to 120 kg. ha<sup>-1</sup> of K<sub>2</sub>O and P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; and 1,15 t. ha<sup>-1</sup> of lime varying only nitrogen rates (120 and 60 kg.ha<sup>-1</sup>) and inoculations forms of diazotrophs bacterias, according to the treatment: 1- Basic fertilization without nitrogen; 2. Basic fertilization with half dose of nitrogen; 3. Fertilization with normal dose of nitrogen; 4. Basic fertilization, without nitrogen with inoculation by immersion of cuttings for 1 hour; 5. Basic fertilization, without nitrogen with addition of spraying the inoculants. It was evaluated the fresh and dry weight of shoots, plant height, tillers number and chlorophyll content at 60, 90 and 120 days after planting. It was concluded that inoculation in the form of immersion provided the same fresh weight of shoots in relation to levels of nitrogen applied, however, the dry weight was higher in treatments with mineral fertilizer. The inoculation by immersion provided the same plant height in the initial development of sugarcane compared with mineral fertilization. For number of tillers, chemical fertilizers resulted in higher average compared with the forms of inoculation. At 120 DAP, the chlorophyll content was higher in treatments involving inoculation (immersion and spray) when compared with chemical fertilizers.

**Keywords:** Biological nitrogen fixation. Sugarcane. Nitrogen.

---

## INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se no cenário mundial como maior produtor de cana-de-açúcar. A safra 2011-2012 de cana-de-açúcar moída pela indústria sucroalcooleira foi de 571,47 milhões de toneladas, distribuídos numa

---

<sup>1</sup> Pesquisador Científico - Centro de Cana – IAC, Ribeirão Preto – SP

<sup>2</sup> Graduando: Fundação Educacional de Ituverava – Fafraam.

<sup>3</sup> Graduando em Engenharia Agrônômica

área de aproximadamente 8.368,4 mil hectares, em todos os estados produtores. Desse total, A previsão de esmagamento de cana para a produção de açúcar é de 283,9 milhões de toneladas, correspondendo a 47,3% do total. Para a produção de etanol serão esmagadas 287,6 milhões de toneladas de cana com estimativa de 22.857,6 bilhões de litros de etanol, dados divulgados (CONAB, 2011).

A cana-de-açúcar é cultivada em quase todas as regiões agrícolas brasileiras, Baldani *et al.* (2002), conseqüentemente, abrangendo diferentes ambientes de produção, que por sua vez pertencem a solos de distintas fertilidades (SOUZA *et al.*, 2004).

A manutenção ou adequação da fertilidade dos solos é realizada pela adição de fertilizantes, via mineral, orgânico ou organomineral, comercializados nas mais diversas formulações. Dentre os fertilizantes utilizados na nutrição da cana-de-açúcar destaca-se o nitrogênio, macronutriente essencial para o desenvolvimento da planta, possuindo uma demanda de aproximadamente 1 kg de N para cada tonelada de cana produzida. O nitrogênio desempenha papel fundamental para no desenvolvimento da planta, uma vez que é constituinte obrigatório de proteínas e ácidos nucléicos, participando direta ou indiretamente de processos bioquímicos e reações enzimáticas, bem como constituinte da molécula de clorofila (MALAVOLTA, 1980).

O fornecimento de N para a planta depende da disponibilidade do elemento no solo, fornecimento via adubação (solo ou foliar) e da fixação biológica de nitrogênio (FBN).

Os solos brasileiros apresentam baixos níveis de nitrogênio, relacionado aos baixos teores de matéria orgânica, principalmente para as novas regiões de expansão, dependendo basicamente dos adubos nitrogenados para a fertilização do solo visando a nutrição da planta, com alto custo de produção, além de depender de fontes não renováveis para seu processamento.

Uma alternativa visando uma maior sustentabilidade no que diz respeito ao uso da adubação nitrogenada em cana-de-açúcar é o uso da fixação biológica de nitrogênio, por bactérias diazotróficas, que incorporam o nitrogênio presente na atmosfera, através da redução do mesmo, disponibilizando o elemento para a planta, estabelecendo uma relação de simbiose entre planta-microorganismo.

Uma agricultura impactante terá que ser substituída por técnicas alternativas que ocasionem menores impactos ao ambiente. Com isso a fixação biológica de nitrogênio pode contribuir para o desenvolvimento de uma agricultura de baixo uso de insumos, atendendo aos critérios de sustentabilidade, que será muito cobrado num futuro próximo.

Vários trabalhos têm mostrado dados indicando a ocorrência de fixação biológica de N em cana, com estimativas de contribuição de até 210 kg ha<sup>-1</sup> ano de N. Um número considerável de bactérias com capacidade de fixar N<sub>2</sub> atmosférico, associado a cana-de-açúcar, tem sido identificado (URQUIAGA *et al.*, 1992). Bactérias diazotróficas podem associar-se naturalmente ou através de inoculação em cana-de-açúcar.

São conhecidas mais de 140 espécies de bactérias diazotróficas, incluindo cianobactérias e actinomicetos (YOUNG, 1992). A associação entre bactérias diazotróficas e a cana-de-açúcar envolve diversos gêneros bacterianos e mecanismos singulares ainda pouco conhecidos (JAMES, 2000). A Embrapa Agrobiologia tem demonstrado que bactérias diazotróficas associadas naturalmente a cana-de-açúcar conseguem contribuir com até 60% das necessidades de N da cultura (BODDEY *et al.*, 2003).

A influência de fatores climáticos, principalmente stress hídrico e estações do ano no processo de fixação biológica de nitrogênio foi demonstrado por Bellone *et al.*(1996), inferindo que as atividades das bactérias são irregulares na primavera, relativamente uniforme no verão e fraca no outono. A população de *Herbaspirillum* é menos afetada por fatores climáticos, sugerindo que são mais bem adaptadas a diferentes condições ambientais.

A bactéria não sobrevive bem no solo natural como outros endofíticos, sendo sua sobrevivência menos afetada em solo estéril, indicando que fatores biológicos interferem na sobrevivência. Todavia, a taxa de

sobrevivência de *Herbaspirillum seropedicae* em ambos os solos foi mais alta do que a observada para *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BALDANI, 1995).

Características ligadas ao genótipo tais como a eficiência fotossintética, exigências nutricionais e resistência às condições adversas podem apresentar influencia na eficiência da fixação de nitrogênio pelas bactérias (REIS JUNIOR *et al.*, 2009).

Dados mostram que a inoculação com uma mistura de bactérias é a melhor estratégia para melhorar a associação planta-bactéria (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Resultados semelhantes foram demonstrados na Índia em 4 variedades de cana inoculadas com uma mistura de bactérias diazotróficas e fungos micorrizicos, produzindo uma resposta equivalente a metade da dose de nitrogênio recomendado naquele país (MUTHUKUMARASAMY *et al.*, 1999).

A fixação biológica contribuiu com 170 kg. ha<sup>-1</sup> de nitrogênio para a variedade CB45-3, 150 kg. ha<sup>-1</sup> para a CB47-89 e 210 kg. ha<sup>-1</sup> para a SP 70-1143, variando entre 60 – 70% do fornecimento de nitrogênio para o desenvolvimento da planta (URQUIAGA *et al.*, 1992).

Com isso, estudar as formas de inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio em condições naturais permite um passo para melhor entendimento das diversas interações que ocorram entre planta – microorganismo e conseqüentemente uma contribuição no desenvolvimento da tecnologia de aplicação de inoculantes, fato ainda pouco abordado pela literatura.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes formas de inoculação de bactérias diazotróficas em gemas de cana-de-açúcar, comparandocom níveis de adubação mineral nitrogenada e seus efeitos no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em área localizada no Centro de Cana do IAC/APTA, município de Ribeirão Preto, SP. O ensaio foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado em 6 repetições. As parcelas foram constituídas de vasos plásticos de 12 litros, preenchidos com solo previamente peneirado, caracterizado como Neossolo Quartzarênico, cuja análise encontra-se na tabela 1. Uma adubação básica, comum a todos os tratamentos, foi realizada conforme recomendação do Boletim 100 do IAC (RAIJ *et al.* 1997). Essa adubação refere-se a 120 kg. ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 1,15 t.ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico variando somente as doses de nitrogênio (120 e 60 kg.ha<sup>-1</sup>), bem como as formas de inoculação das bactérias diazotróficas, conforme descrição dos tratamentos a seguir:

**Tratamento 1.** Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada; **Tratamento 2.** Adubação conforme Boletim 100 IAC, com metade da dose nitrogenada; **Tratamento 3.** Adubação conforme Boletim 100 IAC; **Tratamento 4.** Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada com inoculação padrão Embrapa (imersão dos toletes em solução durante 1 hora); **Tratamento 5.** Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada, acrescida de pulverização com solução padrão Embrapa;

**Tabela 1.** Atributos químicos e físicos do solo utilizado no ensaio.

| pH           | M.O               | P                   | K                                 | H + Al | Al | C  | Mg | SB   | CT   | V  | Argil       | Silte | Arei |
|--------------|-------------------|---------------------|-----------------------------------|--------|----|----|----|------|------|----|-------------|-------|------|
|              |                   |                     |                                   |        |    | a  |    |      | C    |    | a           |       | a    |
| CaCl         | g.dm <sup>3</sup> | mg.dm <sup>-3</sup> | .....mmolc.dm <sup>-3</sup> ..... |        |    |    |    |      |      |    | .....%..... |       |      |
| <sup>2</sup> |                   |                     |                                   |        |    |    |    |      |      |    |             |       |      |
| 5,2          | 6                 | 12                  | 0,8                               | 22     | 2  | 10 | 2  | 12,8 | 34,8 | 37 | 12,9        | 1,6   | 85,5 |

**Fonte:** DMLab, Laboratório de análise de solo, 2009.

O preparo da solução para imersão e pulverização foi baseado em recomendação da Embrapa, de acordo com Reis *et al.* (2009), que consiste em diluir 125 g de inoculante turfoso em 30 litros de água, resultando numa solução contendo  $10^7$  células por litro de calda, que foi utilizada para a imersão e pulverização dos toletes plantados nos vasos. Essas soluções contem as seguintes estirpes: BR11335 (*Herbaspirillum seropedicae*), BR11504 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), BR11281T (*Gluconacetobacter diazotrophicus*), BR11366T (*Burkholderia tropica*) e BR11145 (*Azospirillum amazonense*).

A variedade de cana utilizada foi a RB 86-7515, que apresenta como principais características: alta produtividade agrícola e rusticidade, alto teor de sacarose, perfilhamento médio, colheita de meio a final de safra e tolerante as principais doenças (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, 2006).

Foram plantados quatro mini-toletes de uma gema em cada vaso. Posteriormente, após desbaste, foi conduzida apenas uma planta por vaso para a determinação dos parâmetros a serem avaliados.

### **Parâmetros avaliados**

#### **Peso fresco e seco da parte aérea.**

Por ocasião da avaliação final do ensaio, foi realizada a pesagem das plantas em seu estado natural para obtenção do peso fresco da parte aérea. Após secagem em estufa de circulação de ar forçada à 70° C até atingir peso constante, foi realizada a pesagem do material para obtenção do peso seco.

#### **Teor de clorofila**

O teor de clorofila total das folhas, avaliado aos 30, 60 e 90 dias após plantio, expresso em unidade relativa (UR), foi medido no terço médio da folha +3 do perfilho principal, utilizando-se clorofilômetro portátil

#### **Altura de plantas**

Foram realizadas medições de altura de plantas aos 60, 90 e 120 dias após o plantio.

#### **Interpretação dos dados**

As variáveis avaliadas foram submetidas ao teste F para análise de variância com posterior avaliação das médias pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **Peso fresco e seco da parte aérea.**

Em relação ao peso fresco da parte aérea, pode-se observar pelos valores médios descritos na tabela 2 que a aplicação nitrogênio na dose recomendada ( $120 \text{ kg.ha}^{-1}$ ), metade da dose recomendada ( $60 \text{ kg.ha}^{-1}$ ) promoveram os mesmos valores médios para essa variável, quando comparado com a inoculação na forma de imersão pelo período de uma hora. A inoculação na forma de pulverização promoveu um menor rendimento de massa fresca, quando comparada com a dose completa e metade da dose de nitrogênio recomendada pelo boletim 100 IAC, sinalizando não ser uma boa técnica de inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio em cana-de-açúcar.

**Tabela 2.** Valores médios para peso fresco e peso seco da parte aérea.

| <b>Tratamentos</b>   | <b>Peso fresco parte aérea (g)</b> | <b>Peso seco parte aérea (g)</b> |
|--|------------------------------------|----------------------------------|
| <b>T1.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada;        | 70,37 a                            | 18,14 c                          |
| <b>T2.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com 60 kg.ha <sup>-1</sup> de N;  | 87,58 a                            | 25,46 a                          |
| <b>T3.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com 120 kg.ha <sup>-1</sup> de N; | 75,94 a                            | 27,51 a                          |
| <b>T4.</b> Imersão por 1 hora em solução Padrão Embrapa;                       | 69,74 a                            | 20,86 b                          |
| <b>T5.</b> Pulverização com solução Padrão Embrapa;                            | 49,62 b                            | 14,94 d                          |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Oliveira et al. (2006) avaliaram o efeito da inoculação de misturas bacterianas em material micropropagado das variedades SP701143e SP813250 e verificaram resposta positiva sobre a fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN), com contribuição média de aproximadamente 30% do nitrogênio acumulado. Embora o estudo tenha sido conduzido em condições de campo, demonstra que houve uma interação entre as bactérias e a planta, refletindo num aumento de produtividade, o mesmo alcançado no presente estudo, onde a inoculação na forma de imersão promoveu o mesmo peso de massa fresca comparado com a adubação nitrogenada.

No que diz respeito ao peso seco da parte aérea, os valores médios alcançados pelos diferentes tratamentos também podem ser observados na tabela 2. A avaliação da matéria seca permite uma melhor mensuração na capacidade de um vegetal em acumular massa, pois após a desidratação do material, permanece somente o peso da biomassa, ou seja, o acúmulo de compostos e metabólitos realizados pela planta (MALAVOLTA, 1980).

Sendo assim, ao observarmos os valores médios descritos na tabela 2, podemos observar que o tratamento com a dose de 120 kg.ha<sup>-1</sup> e 60 kg.ha<sup>-1</sup> de N obtiveram os mesmos valores médios. Isso pode ser explicado em parte devido ao fato da planta ter sido avaliada durante o seu desenvolvimento inicial, onde metade da dose de N supriu a planta quanto à necessidade de N.

Em relação às formas de inoculação, pode-se observar que a imersão dos toletes em solução durante uma hora, proporcionou um rendimento de massa seca intermediário, demonstrando que houve uma participação da FBN no crescimento e desenvolvimento da planta.

Da mesma forma, embora as avaliações de Shankariah e Hunsigi, (2001) tenha sido realizado no ciclo completo da cana, foi observado a eficiência de inoculação de *Azospirillum* e *Azobacter* em cana-de-açúcar no aumento de produtividade em cana-de-açúcar, ficando os resultados apenas como indicativo da diferença entre a testemunha não inoculada e do tratamento inoculado (cerca de 20%), de que pode ter ocorrido pela FBN.

#### **Altura de plantas aos 60, 90 e 120 dias após plantio**

Os valores médios para os diferentes tratamentos em relação ao parâmetro altura de plantas aos 60, 90 e 120 dias após plantio podem ser observados na Tabela 3. De acordo com os valores médios para altura de plantas aos 60 dias após plantio, observa-se que as maiores médias foram proporcionadas pelos tratamentos

onde foram aplicadas as doses de 120 kg.ha<sup>-1</sup> e 60 kg.ha<sup>-1</sup> de N, demonstrando assim que as fontes minerais, solúveis no solo, estão prontamente disponíveis para a planta, melhorando de forma significativa seu desenvolvimento inicial.

Aos 90 DAP, não foi observado diferença entre os valores médios para altura de plantas em relação aos tratamentos aplicados, onde o aspecto varietal pode influenciar diretamente no parâmetro em questão.

Aos 120 DAP as maiores alturas de plantas foram verificadas nos tratamentos de 120 kg.ha<sup>-1</sup> e 60 kg.ha<sup>-1</sup> de N e imersão em solução. Isso pode ser explicado, em parte pelo fato do plantio do ensaio ter sido realizado através de gemas de cana-de-açúcar, permanecendo poucas reservas do colmo para o desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, comum nos plantios comerciais. Dessa forma, aos 120 DAP, a dependência da planta por nutrientes restringiu-se somente ao solo em que estava sendo cultivada. Como todos os elementos foram aplicados numa adubação básica, comum a todos os tratamentos, com exceção do N, que não fora fornecido nos tratamentos de inoculação, associado ao fato que na falta de nitrogênio a planta reduz seu desenvolvimento e conseqüentemente o crescimento, nota-se que no tratamento de imersão, o desenvolvimento da planta foi normal, refletido pelo seu crescimento em altura, que foi igual aos tratamentos com dose de N plena ou metade da recomendada. O mesmo não foi observado nos tratamentos sem aplicação de N e na inoculação por pulverização, que não foram capazes de suprir a planta, seja por fixação biológica ou mineral, ocasionando um menor crescimento.

**Tabela 3.** Valores médios para altura de plantas 60, 90 e 120 dias após plantio (DAP).

| TRATAMENTOS  | Altura de Plantas (cm) |         |         |
|--|------------------------|---------|---------|
|  | 60 DAP                 | 90 DAP  | 120 DAP |
| <b>T1.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada;        | 13,00 b                | 20,83 a | 22,33 b |
| <b>T2.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com 60 kg.ha <sup>-1</sup> de N;  | 15,91 a                | 23,00 a | 25,33 a |
| <b>T3.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com 120 kg.ha <sup>-1</sup> de N; | 15,91 a                | 21,83 a | 25,16 a |
| <b>T4.</b> Imersão por 1 hora em solução Padrão Embrapa;                       | 12,83 b                | 21,66 a | 26,66 a |
| <b>T5.</b> Pulverização com solução Padrão Embrapa;                            | 12,91 b                | 19,83 a | 21,33 b |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

### Número de perfilhos aos 60, 90 e 120 dias após plantio

Os valores médios para número de perfilhos aos 60, 90 e 120 dias após plantio podem ser observados na Tabela 4.

Observa-se pelos valores médios do número de perfilhos aos 60, 90 e 120 dias após o plantio, que as maiores médias obtidas foram proporcionadas pelos tratamentos que constaram da aplicação do N- mineral nas doses de 120 kg. ha<sup>-1</sup> e 60 kg. ha<sup>-1</sup>, forma esta prontamente disponível para a absorção pelas plantas.

Dentre os elementos minerais, a maioria dos pesquisadores cita que os mais importantes para o perfilhamento são o nitrogênio e o fósforo. Pelo fato da adubação básica contemplar a adição de fósforo em todos os tratamentos, pode-se inferir que o nutriente limitante para o perfilhamento da cana foi o nitrogênio,

nos tratamentos onde o mesmo não foi aplicado, bem como nas duas formas de inoculação (pulverização e imersão).

**Tabela 4.** Valores médios para numero de perfilhos 60, 90 e 120 dias após plantio (DAP).

| TRATAMENTOS   | Numero de Perfilhos |        |         |
|---|---------------------|--------|---------|
|   | 60 DAP              | 90 DAP | 120 DAP |
| T1. Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada;        | 2,16 b              | 3,33 b | 3,00 b  |
| T2. Adubação conforme Boletim 100 IAC com 60 kg.ha <sup>-1</sup> de N;  | 4,33 a              | 5,00 a | 5,00 a  |
| T3. Adubação conforme Boletim 100 IAC com 120 kg.ha <sup>-1</sup> de N; | 4,16 a              | 4,33 a | 4,50 a  |
| T4. Imersão por 1 hora em solução Padrão Embrapa;                       | 2,83 b              | 3,33 b | 3,16 b  |
| T5. Pulverização com solução Padrão Embrapa;                            | 2,00 b              | 2,50 b | 2,50 b  |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

#### Teor de clorofila

Os valores médios para teor de clorofila aos 60, 90 e 120 dias após plantio podem ser observados na Tabelas 5. De acordo com Malavolta et al. (1997), embora o nitrogênio constitua em torno de 1% da matéria seca da cana-de-açúcar, tem um papel fundamental no desenvolvimento da planta, uma vez que é constituinte obrigatório de proteínas e ácidos nucléicos, participando direta ou indiretamente de diversos processos bioquímicos e enzimáticos, entre outros, e fazendo parte da molécula de clorofila. Com isso, podemos afirmar que uma planta que esteja com deficiência de nitrogênio poderá refletir em menores teores de clorofila, diminuindo assim sua atividade fotossintética e conseqüentemente sua produtividade.

Observa-se pelos dados expostos na tabela 5, que aos 60 e 90 dias após o plantio não houve diferença entre os teores de clorofila em função dos tratamentos aplicados, apenas aos 90 DAP na dosagem de 120 kg.ha<sup>-1</sup> de N que houve um menor valor para clorofila. Aos 120 dias após o plantio, os maiores teores de clorofila foram proporcionados pelos tratamentos onde houve a inoculação das bactérias diazotróficas, seja por imersão ou por pulverização dos toletes, enquanto que os menores teores de clorofila foram observados nos tratamentos com a adubação mineral ou em sua ausência.

Com isso pode-se afirmar que a inoculação de bactérias diazotróficas proporcionou maiores teores de clorofila nas folhas de cana avaliada aos 120 dias após o plantio de gemas quando comparado com a adubação mineral, de acordo com as condições em que o estudo foi conduzido.

**Tabela 5.** Valores médios para teor de clorofila 60, 90 e 120 DAP.

| TRATAMENTOS  | Teor de Clorofila |         |         |
|--|-------------------|---------|---------|
|  | 60 DAP            | 90 DAP  | 120 DAP |
| T1. Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada;       | 36,71 a           | 35,30 a | 21,36 b |
| T2. Adubação conforme Boletim 100 IAC com 60 kg.ha <sup>-1</sup> de N; | 33,91 a           | 31,70 a | 19,40 b |

(Continua)

**Tabela 5.** Valores médios para teor de clorofila 60, 90 e 120 DAP.

| TRATAMENTOS  | Teor de Clorofila |         |         |
|--|-------------------|---------|---------|
|  | 60 DAP            | 90 DAP  | 120 DAP |
| <b>T3.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com 120 kg.ha <sup>-1</sup> de N; | 34,16 a           | 27,35 b | 21,56 b |
| <b>T4.</b> Imersão por 1 hora em solução Padrão Embrapa;                       | 33,10 a           | 32,23 a | 24,58 a |
| <b>T5.</b> Pulverização com solução Padrão Embrapa;                            | 34,06 a           | 32,13 a | 25,31 a |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÃO

A inoculação de bactérias diazotróficas na forma de imersão promoveu o mesmo peso fresco da parte aérea comparado ao adubo mineral, entretanto o peso seco da parte aérea foi maior nos tratamentos com adubação mineral em relação as formas de inoculação.

A inoculação por imersão proporcionou a mesma altura de plantas no desenvolvimento inicial cana-de-açúcar comparado com a adubação mineral. Entretanto, para o número de perfilhos, a adubação mineral propiciou maiores médias comparado com as formas de inoculação de bactérias diazotróficas.

O teor de clorofila foi maior nos tratamentos envolvendo inoculação (imersão e pulverização) quando comparado com a adubação mineral aos 120 DAP.

## REFERÊNCIAS

BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legumes plants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis. **Abstracts...** Angra dos Reis: The National Center of Agrobiological Research (Embrapa – CNPAB), 1995. P.53-54.

BALDANI, J. I. et al. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane – reasons for success in Brazil. **Functional Plant Biology**, v.29, p.417-423, 2002.

BELLONE, C. H.; BELLONE, S. C.; PEDRAZA, R. O. Hydric deficiency and acetylene reduction in sugarcane roots. In: MALIK, K. A.; MIRZA, M. S.; KHALID, A. M. (Ed.). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM NITROGEN FIXATION WITH NON-LEGUMES, 7. Faisalabad, Pakistan, 1996. p.125-126.

BODDEY, R.M. et al. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, the Hague, v. 252, p.139—149, 2003.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira, cana-de-açúcar** – safra 2011/2012, terceiro levantamento, dez. 2011. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: 27 mar. 2012.

JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v.65, p. 93-106, 2000.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980, 251 p.

---

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; LAKSHMINASIMHAN, C. Influence of nitrogen fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum spp.* From Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility Soils**, Berlin, v. 29, p. 157-164, 1999.

OLIVEIRA, A. L. M. et al. Biological nitrogen fixation (BNF) in micropropagated sugarcane plants inoculated with different endophytic diazotrophic bacteria. In: PEDROSA, F. O. et al. **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. 425 p.

OLIVEIRA, A.L.M. de et al. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v.284, p.23-32, 2006.

RAIJ, B van et al. **Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. B285 p.

REIS, V.M. et al. **Eficiência agronomica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2009, 22 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 45).

SHANKARIAH, C.; HUNSIGI, G. Field response of sugarcane to associative N<sub>2</sub> fixers and P solubilizers. In: HOARTH, D. M. (Ed.) In: International Society of Sugar Cane Technologists Congress, 24. **Proceeding...** 17-21 Sep. 2001. The Australian Society of Sugarcane Technologists, Brisbane, p. 40-45.

SOUZA, Z.M. et al. Variabilidade espacial do pH, Ca, Mg e V% do solo em diferentes formas do relevo sob cultivo de cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1763-1771. nov-dez, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. **Características da variedade RB 867515**. Araras: CCA/UFSCar, 2006

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

YOUNG, J. P. W. Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms. In: STANCEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, J., (Ed.) **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman, p. 43-86, 1992.

