

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
GUILHERME GRODZKI OLIVEIRA FIGUEIREDO**

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL  
E A INTERAÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLÍBDICA EM  
GENÓTIPOS DE CANA-DE-ACÚCAR**

**CURITIBA  
2016**

**GUILHERME GRODZKI OLIVEIRA FIGUEIREDO**

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL  
E A INTERAÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLÍBDICA EM  
GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Edelclaiton Daros

Co-Orientador: Prof. Dr. João Carlos Bespalkok Filho

**CURITIBA**

**2016**

Figueiredo, Guilherme Grodzki Oliveira  
F475 Inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal e a interação com a adubação nitrogenada e molíbdica em genótipos de cana-de-açúcar / Guilherme Grodzki Oliveira Figueiredo.  
Curitiba: 2016.  
103 f.: il.;grafs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Edelclaiton Daros  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal.

1. Cana-de-açúcar - Crescimento. 2. Cana-de-açúcar - Adubação.  
3. Cana-de-açúcar - Inoculação. I. Daros, Edelclaiton.  
II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias.  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal.  
III. Título.

CDU 633.61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



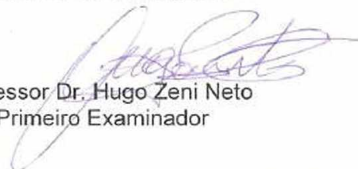
## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pelo candidato **GUILHERME GRODZKI OLIVEIRA FIGUEIREDO**, sob o título "**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL E A INTEREÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA E MOLÍBDICA EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**", para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.


Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

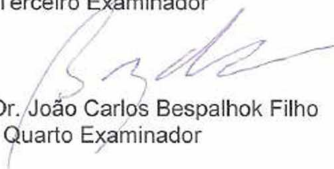
Curitiba, 22 de Fevereiro de 2016.


  
Professor Dr. Cícero Deschamps  
Coordenador do Programa

  
Professor Dr. Hugo Zeni Neto  
Primeiro Examinador

  
Professor Dr. Bruno Portela Brasileiro  
Segundo Examinador

  
Professor Dr. Ricardo Augusto de Oliveira  
Terceiro Examinador

  
Professor Dr. João Carlos Bessalhoc Filho  
Quarto Examinador

  
Professor Dr. Edelclaiton Daros  
Presidente da Banca e Orientador

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por sua misericórdia infinita, não poupando esforços em dar Seu amor, entregando seu próprio filho em prol de nós, imerecidos seres humanos.

Qualquer trabalho científico exige inspiração, e essa inspiração vem daqueles que estão próximos a nós, sejam os familiares, amigos ou colegas de profissão, por isso agradeço a cada um de vocês pela realização desse sonho, que agora realizado me faz alguém pronto para contribuir com a nossa sociedade.

Agradeço ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Edelclaiton Daros, que me concedeu a oportunidade de me aprofundar nos estudos com cana-de-açúcar, além de me ensinar com seu próprio exemplo como ter um comportamento exemplar no mercado de trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. João Carlos Besspalhok Filho pela orientação nesse trabalho, paciência e amizade desde quando fui seu estagiário no ano de 2006. Ainda seremos companheiros de futebol nos próximos anos.

Aos professores Antônio Carlos Iaia, José Luis Camargo Zambon e Ricardo Augusto de Oliveira que me deram conselhos valiosos para minha vida e para o término da tese.

À minha querida esposa e amiga que ajudou nos momentos mais críticos da tese, segurando “as pontas” lá em casa.

Aos meus pais onde sempre encontrei refúgio e apoio. Pai, sempre recordarei dos momentos bons que estive contigo. Mãe, obrigado por sempre caminhar comigo.

Ao meu padrinho Leo que sempre me instruiu e me apoiou no meu caminho profissional. Obrigado por “preencher” espaços onde meu pai não pode estar presente, foram de grande valia.

Aos meus avós Henrique e Rose que sempre fizeram o melhor para que eu chegasse até esse momento da minha vida.

Aos colegas de trabalho que “suaram a camisa” comigo: Tales Romano, Valéria Rosa Lopes, Clarissa Souza Mudry, João Carlos Civiero, Reginaldo Fragoço, Daniel Lammel e Samantha Cenci.

Aos estagiários do grupo cana UFPR: Fabiano Kotovicz, Osni Roberto Mello Pinto, Camila da Silva Rocha, Helder Bertholo, Daniel de Souza Ribeiro e Gustavo Waldir Hartmann Neto.

Aos demais colegas e professores do Programa de Pós-Graduação, que com a experiência em seus trabalhos contribuíram na realização da tese.

Aos técnicos, residentes e profissionais da Estação Experimental de Cana-de-açúcar em Paranavaí, em especial ao Prof. Dr. Heroldo Weber e ao amigo e colega Guilherme Souza Berton, sempre dispostos a dar o melhor de si.

Ao colega Pedro Buso que juntamente com a empresa Novozymes<sup>®</sup>, deu todo suporte técnico-científico.

À EMBRAPA-Agrobiologia que contribuiu com o conhecimento em microbiologia, e à CAPES, por disponibilizar o suporte financeiro a pesquisa.

*“mas os que confiam no Senhor recebem sempre novas forças. Voam nas alturas como águias, correm e não perdem as forças, andam e não se cansam”.*  
*Isaías 40:31 NTLH*

## RESUMO

O cultivo comercial da cana-de-açúcar aumentou significativamente nas últimas décadas no Brasil, sendo o país com a principal representatividade da cultura no mundo, principalmente pela produção de etanol e açúcar. Para alavancar ainda mais a produção e aumentando a participação da cultura no mercado mundial, são necessárias a adoção de medidas que proporcionem o manejo adequado da cultura desde o plantio até a colheita. Uma dessas medidas são as adubações pré e pós plantio, visando a manutenção da fertilidade ao longo dos cortes, incluindo principalmente a adubação nitrogenada, uma vez que o nitrogênio é um dos macronutrientes mais exigidos nos canaviais. Todavia, o nitrogênio em excesso pode causar efeitos nocivos a natureza podendo afetar o ambiente onde a cultura está instalada. Alternativas que possam aumentar a eficiência da fertilização nitrogenada ou mesmo substituí-la vem ganhando mais espaço, assim como o uso da adubação molíbdica e a inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV). Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da adubação nitrogenada, molíbdica e a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em genótipos de cana-de-açúcar. Foram instalados três experimentos, onde dois foram a campo (EX1 e EX2) e um em casa de vegetação (EXC). Os experimentos instalados a campo, foram realizados na Estação Experimental de Cana-de-açúcar em Paranaíba-PR e o experimento em ambiente controlado em Curitiba-PR, ambos locais fazem parte do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná. No EX1 foram plantados 10 genótipos de cana-de-açúcar, onde 9 foram clones oriundos de trabalhos anteriores com BPCV e a cultivar RB867515, instalado em Outubro de 2012, com os tratamentos controle (C), adubação nitrogenada (NITR) (80 kg ha<sup>-1</sup>) e a inoculação com uma mistura de 5 espécies de BPCV (BAC) (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*), em delineamento experimental em parcelas subdivididas, onde a parcela principal foram os estádios de cultivo (1° e 3° cortes; cana planta e ressoça, respectivamente), as subparcelas os tratamentos e as subsubparcelas os genótipos, avaliando-se caracteres biométricos e tecnológicos, e o teor foliar de nitrogênio. No EC foram utilizados 6 genótipos, em que 5 clones foram os mesmos utilizados no EX1 e a cultivar RB867515, com 2 tratamentos (C e BAC), em delineamento experimental inteiramente casualizado (fatorial 6×2), onde foram avaliados caracteres biométricos incluindo também os aspectos morfológicos das raízes. No EX2 foram utilizados a cultivar RB867515 e o clone RB036152, com os tratamentos C, NITR, BAC, adubação molíbdica (MOL), NITR+BAC+MOL, NITR+BAC, NITR+MOL e BAC+MOL, em delineamento experimental em blocos ao acaso (fatorial 8×2). Foram avaliados caracteres biométricos e tecnológicos, e o teor foliar de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Fe, Cu, Zn, Mn e B). Em todos os experimentos é possível identificar que cada genótipo pode responder diferentemente para os tratamentos aplicados. Em EX1 de maneira geral não houve resposta para a inoculação. O clone 2 respondeu positivamente com o tratamento BAC. Os clones 1, 7 e 9 obtiveram maiores produtividades com o tratamento NITR, sendo também os genótipos mais produtivos. Foram obtidos os melhores resultados quanto a biometria das plantas com os clones 1 e 9. No estudo EC os genótipos apresentaram diferença entre si no desenvolvimento da parte aérea e das raízes. Os clones 7 e 8 conferiram os melhores resultados quando inoculados com as BPCV. No EX2 o genótipo RB036152 apresentou interação positiva com a inoculação de BPCV. Esse clone também apresentou o maior acúmulo de macro e micronutrientes na folha +3. Os tratamentos MOL e BAC foram favoráveis para melhorar a nutrição da cana-de-açúcar e aumentar a produtividade, sendo alternativas viáveis na utilização com NITR. Alguns genótipos podem ser utilizados como promissores em estudos com BPCV, assim como o clone 2 e a RB036152, no entanto há necessidade de estudos mais

aprofundados quanto a época de aplicação de cada produto e as doses a serem aplicadas. Ainda, estudos complementares precisam ser realizados confirmando os efeitos positivos e negativos da adubação molíbdica e nitrogenada.

Palavras-chave: BPCV, nitrogênio, molibdênio, *Saccharum* spp., desenvolvimento radicular, diagnose nutricional, interação genótipo × bactéria.

## ABSTRACT

The commercial cultivation of sugarcane increased significantly last decades in Brazil, being the first sugarcane production country in the entire world, mainly due ethanol and sugar output. To leverage even more the production, augmenting the participation in world market, it is necessary the adoption of steps which provide the appropriate management since plantation until harvest. One of the steps are the fertilization before and after planting, aiming maintenance of fertility along the harvests, including nitrogen fertilization, once nitrogen is one of the most required nutrient for the sugarcane. Nevertheless, the nitrogen excess causes harmful effects to the environments, even when the culture is established. Notwithstanding, alternatives that could imply increasing of efficiency of nitrogen fertilization or its replace, getting more space in science, as well as molybdenum fertilization and plant growth promoting bacteria (PGPB) inoculation. Therewith, the aim of this work was to evaluate the effect of nitrogen and molybdenum fertilization, and plant growth promoting bacteria inoculation in sugarcane genotypes. There were prepared three experiments, where two of them allocated in field conditions (EX1 and EX2) and one on greenhouse (EG). The field experiments occurred at Experimental Sugarcane Station (Paranavaí-PR) and EG was established in Curitiba-PR. Both sites are part of Department of Plant Science and Crop Protection of the Federal University of Paraná. In EX1 were planted 10 sugarcane genotypes, 9 clones arising from previous work with PGPB and the RB867515 cultivar, conducted in October 2012. The treatments were Control (C), nitrogen fertilization (NITR) and inoculation of 5 bacteria mix (BAC) (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Burkholderia tropica* and *Azospirillum amazonense*), in split-split plot design, where the whole plot was cultivation cycle (first and third harvests), the subplot were the treatments and sub-subplot the genotypes. There were evaluated biometrics and technological characters, and foliar nitrogen content. In EG were utilized 6 genotypes, of which 5 clones provided from E1 and the RB867515 cultivar with 2 treatments (C and Bac) in complete randomized design (6×2), evaluating biometrics characters and root morphologic analysis. In the EX2 were utilized the cultivar RB867515 and the clone RB036152, with treatments C, NITR, BAC, molybdenum fertilization (MOL), NITR+BAC+MOL, NITR+BAC, NITR+MOL e BAC+MOL, in randomized complete block design (8×2), evaluating biometrics and technological characters, and foliar content of macro (N, P, K, Ca, Mg e S) and micronutrients (Fe, Cu, Zn, Mn e B). All experiments show different response of genotypes to the applied treatments. In EX1 the response to inoculation was not positive, although the clone 2 had the best response to BAC treatment. The clones 1, 7 and 9 were more productive with NITR treatment, and they also were the more productive genotypes. Clones 1 and 9 demonstrated the great biometric results. In EG genotypes presented difference between them in aerial part and root part development. The clones 7 and 8 demonstrated better responses when inoculated with PGPB. In EX2 the genotype RB036152 showed best interaction with PGPB. RB036152 obtained higher foliar macro and micronutrients content compared to RB867515. The treatments BAC and MOL were favorable to increase productivity and nutrition of sugarcane, being alternative to utilize with NITR. Some genotypes could be utilized like promisors in PGPB's study, as well as clones 2 and RB036152, however there is necessity of deeper studies as the application time and doses of each treatment. Complementary studies needs to be realized confirming positive or negative effects of molybdenum and nitrogen fertilization.

Key words: PGPB, nitrogen, molybdenum, *Saccharum* spp., radicular development, nutritional diagnosis, genotype × bacterium interaction.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1– Aplicação da mistura de bactérias por pulverização via costal.....23
- Figura 2 – Comportamento das raízes, segundo o comprimento (cm) (CR), área projetada (cm<sup>2</sup>) (APR), diâmetro médio (DR) e volume (cm<sup>3</sup>) (VR), para os genótipos 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 submetidos aos tratamentos controle e inoculado.....50
- Figura 3 – Análise da Estatura (cm) (EST), Diâmetro médio do colmo (mm) (DIA), Área Foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), Conteúdo relativo de água na reserva orgânica (CRRO), na Raíz (CRR) e na Parte aérea (CRPA), no experimento conduzido em casa de vegetação com os clones (cl.) 3,6,7,8 e 9 e a cultivar RB867515, com os tratamentos controle e inoculado.....53

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1- Clones utilizados no experimento e respectivo °Brix obtido em trabalho prévio com inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal.....   | 22 |
| Tabela 2 - Bactérias diazotróficas contidas na mistura de bactérias em caráter de pesquisa.....  | 23 |
| Tabela 3 – Análises biométricas ocorridas antes do corte em cana planta e na ressoça, e as análises tecnológicas realizadas com as amostras obtidas dos cortes em cana planta e ressoça.<br>.....  | 24 |
| Tabela 4 – Teor de nitrogênio nos tecidos foliares da folha +3, dos clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 e a cultivar RB867515, submetidos aos tratamentos controle (C), bactérias (BAC) e nitrogênio (NITR), avaliados aos 4 meses após o plantio e aos 4 meses na ressoça.....  | 26 |
| Tabela 5 – Média dos caracteres, estatura média de plantas (m) (EST), diâmetro médio de colmos (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), massa de 1 colmo (MIC), tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, dos genótipos (Clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 e a RB867515), em cana planta e ressoça.....   | 29 |
| Tabela 6 – Dados obtidos com a aplicação dos tratamentos: controle (C), nitrogênio (NITR) e bactérias (BAC), nos Genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515. Interação genótipos × tratamentos (G×T), de acordo com os caracteres: Diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e tonelada de pol por hectare (TPH).....   | 31 |
| Tabela 7 – Dados obtidos nos cortes (ciclos de crescimento) em cana planta (E1) e ressoça (E2), com a aplicação dos tratamentos: controle (C), nitrogênio (NITR) e bactérias (BAC), nos Genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515. Interação genótipos × estádios (G×E) e genótipos × estádios × tratamentos (G×E×T), de acordo com os caracteres: tonelada de colmos por hectare (TCH) e tonelada de pol por hectare (TPH).....   | 32 |
| Tabela 8 – Referência dos clones utilizados no experimento e seus respectivos genitores.....   | 44 |
| Tabela 9 – Quadrado médio dos caracteres: Estatura de planta (cm) (EST), Diâmetro médio do colmo (mm) (DIA), Número de perfilhos (NPE), Área foliar (cm <sup>2</sup> ) (AF), Massa fresca da raiz (g) (MFR), Massa seca da raiz (g) (MSR), Massa fresca da parte aérea (g) (MFP), Massa seca da parte aérea (g) (MSP), Comprimento da raiz (cm) (CR), Área Projetada da raiz (cm <sup>2</sup> ) (APR), Diâmetro médio da raiz (mm) (DR), Volume da raiz (cm <sup>3</sup> ) (VR), Conteúdo relativo de água na reserva orgânica do mini-tolete (CRRO), Conteúdo relativo de água na raiz (CRR) e Conteúdo relativo de água na parte aérea (CRPA), dos genótipos (G) 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 submetidos aos tratamentos (T) controle e inoculado..... | 48 |
| Tabela 10 – Massa fresca da raiz (MFR), massa seca da raiz (MSR), massa fresca da parte aérea (MFP) e massa seca da parte aérea (MSP) e a relação Raiz:Parte aérea (R:PA) dos genótipos (G) 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 com os tratamentos (T) controle (C) e inoculado (I).....  | 48 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 11 – Quadrado Médio dos caracteres: Número de colmos por metro (NCM), Massa de 1 colmo (kg) (M1C), Tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e Tonelada de pol por hectare (TPH), em cana planta e cana soca.....   | 68 |
| Tabela 12 – Teste de comparação de médias dos caracteres: Número de colmos por metro (NCM), Massa de 1 colmo (kg) (M1C), Tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e Tonelada de pol por hectare (TPH). Tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos: RB867515 e RB036152..... | 70 |
| Tabela 13 - Interação Genótipos × Tratamentos dos caracteres número de colmos por metro (NCM), Tonelada de colmo por hectare (TCH) em cana planta e Massa de 1 colmo (kg) (M1C) em cana soca. Tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos: RB867515 e RB036152.....                     | 70 |
| Tabela 14 – Teores foliares de macro e micronutrientes na folha +3, 4 meses após o corte de cana planta em primeira soqueira. Tratamentos (T): Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos (G): RB867515 e RB036152.....   | 75 |

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....  | 13  |
| <b>2. REFERÊNCIAS</b> .....   | 16  |
| <b>CAPÍTULO 1 – ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO EM CANA-DE-AÇÚCAR</b> .....                               | 18  |
| 1.1 INTRODUÇÃO.....   | 20  |
| 1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 22  |
| 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 26  |
| 1.4 CONCLUSÕES.....   | 34  |
| 1.5 REFERÊNCIAS.....  | 35  |
| <b>CAPÍTULO 2 – CLONES DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADOS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO</b> .....   | 40  |
| 2.1 INTRODUÇÃO.....   | 42  |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 44  |
| 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 46  |
| 2.4 CONCLUSÕES.....   | 56  |
| 2.5 REFERÊNCIAS.....  | 57  |
| <b>CAPÍTULO 3 – EFEITO DA ADUBAÇÃO MOLÍBDICA E NITROGENADA NA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL EM CANA-DE-AÇÚCAR</b> ..... | 61  |
| 3.1 INTRODUÇÃO.....   | 63  |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 66  |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 68  |
| 3.4 CONCLUSÕES.....   | 77  |
| 3.5 REFERÊNCIAS.....  | 78  |
| <b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....  | 84  |
| <b>5. APÊNDICES</b> .....   | 86  |
| <b>6. ANEXOS</b> .....  | 101 |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar possui grande importância para o Brasil, colocando o país em uma posição de destaque, principalmente com a produção de açúcar e etanol. O açúcar produzido da cana-de-açúcar é considerado uma das principais *commodities* exportadas pelos países produtores. Com isso, a cultura possui um importante espaço na balança comercial do Brasil. Em torno de 20% do açúcar produzido no mundo tem origem brasileira, sendo o Brasil responsável por 50% das exportações mundiais. Além do açúcar, o etanol também possui demanda crescente, principalmente pela utilização nos carros *Flex*. Impulsionar a produção canavieira se faz necessária para o crescimento da economia nacional e a manutenção do setor canavieiro (Abreu et al., 2014; Conab, 2015).

A área ocupada pelos canaviais na safra 2015/2016, está em torno de 9 milhões de hectares (ha), com uma produtividade média aproximada de 73 t ha<sup>-1</sup> e com uma produção equivalente a 658 milhões de toneladas (Conab, 2015). No Brasil, além da produção de açúcar e etanol, os restos culturais tem como destino a produção de energia e a manutenção da fertilidade do solo nos canaviais (James, 2004; Figueiredo, 2008; Miranda, 2008; Ripoli e Ripoli, 2008).

Entretanto, a produção de cana-de-açúcar depende dentre outros fatores de um manejo adequado da cultura, compreendendo a utilização de fertilizantes químicos, os quais proporcionam um aumento produtivo, suprindo as exigências nutricionais dos genótipos de cana-de-açúcar (Rossetto et al., 2008).

A adubação nitrogenada é um dos principais insumos utilizados, visto a alta extração e exportação do nitrogênio pela cultura, sendo o segundo elemento mais exigido pela planta (Vitti et al., 2008). O uso excessivo dos fertilizantes nitrogenados, mesmo que tragam um resultado positivo na produção em um primeiro momento, podem ser prejudiciais aos solos cultivados e aos cursos d'água, causando em longo prazo prejuízos ao ecossistema onde a lavoura está inserida (Paul e Clark, 1989; Trivelin et al., 2002).

Na cana-de-açúcar, alternativas utilizadas concomitantemente ou separadamente com a adubação nitrogenada, potencializando-a ou mesmo substituindo-a, tem sido objeto de estudo nos últimos anos. Essas alternativas englobam o uso de microrganismos e nutrientes que promovem o desenvolvimento vegetal (Weber et al., 2001; Xavier, 2006; Schultz et al., 2012).

Dentre os microrganismos se encontram as bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV). A promoção do crescimento ocorre via produção de reguladores vegetais, como auxinas, citocininas, giberelinas e etileno, além da fixação biológica do nitrogênio (FBN). Avaliações em genótipos de cana-de-açúcar provaram a viabilidade da inoculação de BPCV nos canaviais (Oliveira, 2012; Schultz et al., 2012; Beneduzi et al., 2013; Lopes, 2013; Mehnaz, 2013; Pereira et al., 2013).

Dentre os nutrientes, o molibdênio (Mo) se destaca por potencializar a fertilização nitrogenada, além de poder atuar em conjunto com a inoculação de BPCV. O Mo é um cofator das enzimas nitrato redutase (na planta) e nitrogenase (nas BPCV), a primeira envolvida na absorção de nitrogênio via raízes e a segunda na FBN do nitrogênio atmosférico (Fisher e Newton, 2005; Moreira e Siqueira, 2006; Wei et al., 2007; Guimarães et al., 2013).

A disponibilização do Mo às plantas via fertilização foliar ou pelo solo é realizada com a adubação molíbdica, mais comumente com o molibdato de sódio ou molibdato de potássio (Fernandes e Almeida, 1982; Oliveira, 2012).

Contudo, os genótipos de cana-de-açúcar possuem diferentes respostas à fertilização nitrogenada, molíbdica e à inoculação de BPCV. As diferentes respostas devem-se as interações que ocorrem entre o ambiente de cultivo, que engloba diferentes microrganismos e intempéries climáticas. Dessa maneira, algumas pesquisas têm buscado através do melhoramento genético da cana-de-açúcar a seleção de clones ou cultivares com aptidão para maiores produtividades frente às adubações molíbdica e nitrogenada, bem como a inoculação com BPCV (Oliveira, 2012; Lopes, 2013; Oliver, 2014).

Nos canaviais a adubação nitrogenada, molíbdica e a inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal, carecem de estudos quando utilizados em conjunto. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da adubação nitrogenada, molíbdica e a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em diferentes genótipos de cana-de-açúcar.

Os objetivos específicos foram:

- Selecionar genótipos responsivos a inoculação com BPCV;
- Constatar o efeito das BPCV no desenvolvimento inicial e final da cultura;
- Verificar o efeito das BPCV no desenvolvimento radicular;
- Avaliar a resposta de diferentes genótipos a adubação nitrogenada e molíbdica;

- Avaliar o efeito da adubação molíbdica em conjunto com a adubação nitrogenada e a inoculação com BPCV;
- Determinar o teor foliar de macro e micronutrientes em cana-de-açúcar com a adubação nitrogenada, molíbdica e com a inoculação de BPCV.

## 2. REFERÊNCIAS

- Abreu, Y. V.; Ávila, R. G.; Gonçalves, T. S. The borders of sugar cane production in Brazil. **International Journal of Social Sciences and Entrepreneurship**, v.1, n.10, p.210-217, 2014.
- Beneduzi, A.; Moreira, F.; Costa, P. B.; Vargas, L. K.; Lisboa, B. B.; Favreto, R.; ... Passaglia, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied soil ecology**, v. 63, p.94-104, 2013.
- Chaves, V. A. **Desenvolvimento Inicial e Acúmulo de Nutrientes em Três Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas com Bactérias Diazotróficas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.
- Fernandes, M. S.; Almeida, D. J. Resposta de cana-de-açúcar (cultivar CB 45-3) à aplicação de NO<sub>3</sub> e Mo, em dois solos de tabuleiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.1, p.39-42, 1982.
- Figueiredo, P. Breve história da cana-de-açúcar e do papel do Instituto Agrônomo no seu estabelecimento no Brasil. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), 2008. Cap. 1, p.31-44.
- Fisher, K.; Newton, W. E. Nitrogenase proteins from *Gluconacetobacter diazotrophicus*, a sugarcane-colonizing bacterium. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v.1750, n.2, p.154-165, 2005.
- Guimarães, S. L.; Baldani, V. L. D.; Jacob-Neto, J. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.1, p.10-15, 2013.
- James, G. An introduction to Sugarcane. In: \_\_\_\_\_. **Sugarcane**. 2<sup>nd</sup> Ed. Oxford, Blackwell Science Ltd, 2004. Cap. 1, p.1-19.
- Lopes, V. R. **Melhoramento genético de cana-de-açúcar em associação com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. 133 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- Mehnaz, S. Microbes–friends and foes of sugarcane. **Journal of basic microbiology**, v. 53, n.12, p.954-971, 2013.
- Miranda, J. R. **História da cana-de-açúcar/History of Sugarcane**. Editor Sérgio Vale. Editora Komedi. 168p. 2008.
- Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª Ed., Lavras, Editora UFLA, 729p. 2006.

Oliveira, A. C. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. 97 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012.

Oliver, R. **Interação entre bactérias diazotróficas e doses de n-fertilizante na cultura da cana-de-açúcar**. 73 f. Mestrado (Dissertação) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.

Paul, E. A.; Clark, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 1<sup>st</sup> Ed. California, Academic Press, 1989.

Pereira, W.; Leite, J. M.; Hipólito, G. D. S.; dos Santos, C. L. R.; Reis, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n.2, p.363-370, 2013.

Ripoli, M. L.; Ripoli, T. C. C. Sistemas de colheita. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1<sup>a</sup> Ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), 2008. Cap. 31. p.599-612.

Rossetto, R. Fertilidade do solo, nutrição e adubação. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1<sup>a</sup> Ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), 2008. Cap. 9, p.221-238.

Salemi, L. F. **Dinâmica da água e do nitrogênio em áreas variáveis de afluência**: um estudo de caso em uma microbacia coberta predominantemente por cana-de-açúcar. 163 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Schultz, N.; Moraes, R. D.; Silva, J. D.; Baptista, R. B.; Oliveira, R. P.; Leite, J. M.; Reis, V. M. Avaliação agronômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.2, p.261-268, 2012.

Trivelin, P. C. O.; Oliveira, M. D.; Vitti, A. C.; Gava, G. D. C.; Bendassolli, J. A. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.2, p.193-201, 2002.

Vitti, A. C.; Cantarella, H.; Trivelin, P. C. O.; Rossetto, R. Nitrogênio. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1<sup>a</sup> Ed. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), 2008. Cap. 10, p.239-269.

Wei, L. P.; Li, Y. R.; Yang, L. T. Effects of molybdenum on nitrogen metabolism of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 9, n.1, p.36-42, 2007.

Xavier, R. P. **Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produção sustentável da cultura de cana-de-açúcar**. 71 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

## CAPÍTULO 1– ADUBAÇÃO NITROGENADA E INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO EM CANA-DE-AÇÚCAR

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da adubação nitrogenada e da inoculação com uma mistura de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) em nove clones de cana-de-açúcar oriundos de trabalhos com inoculação e da cultivar RB867515 como padrão em dois ciclos de cultivo. O experimento foi instalado na estação experimental de cana-de-açúcar em Paranaíba-PR, e consistiu na utilização de 10 genótipos (G) (9 clones selecionados em trabalhos com inoculação de bactérias BPCV e a cultivar RB867515). Foram utilizados três tratamentos (T): controle (C), adubação nitrogenada (80 kg ha<sup>-1</sup>) (NITR) e inoculação de cinco BPCV (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans*) (BAC), avaliados em dois estádios de cultivo (E) (dois cortes – cana planta e ressoca). O delineamento experimental foi em parcelas subsubdivididas, onde a parcela principal foram os 1º e 3º cortes (E), as subparcelas os T e as subsubparcelas os G. As variáveis estudadas foram: estatura de planta (m), diâmetro médio de colmos (cm), número de colmos por metro, °BRIX, tonelada de colmo por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e pol%cana (para estimar TPH), analisadas nos dois cortes (aos 12 e aos 36 meses após o plantio). Também foram mensurados os teores de nitrogênio na folha +3 aos 4 meses após o plantio e aos 4 meses na ressoca. Para teor de nitrogênio foi realizado delineamento em parcela subdividida para cada estádio, com os T como parcela principal e os G como subparcelas. A concentração foliar de nitrogênio variou nos G, sendo que em cana planta, o tratamento BAC foi superior aos demais e em soqueira o tratamento C. As maiores produtividades foram obtidas nos tratamentos com NITR nos genótipos 1, 7 e 9 em ressoca. Houve diferença entre os G em todas as variáveis, e ocorreu interação entre G×E, G×T e G×E×T principalmente nos caracteres estimados de produtividade. Os clones 1, 7 e 9 se destacaram como os genótipos mais produtivos. De modo geral não houve resposta à inoculação com a mistura de bactérias, com exceção ao clone 2 que respondeu positivamente. Trabalhos com outras BPCV devem ser realizados com os clones estudados, levando em consideração as interações com bactérias, ambiente e diferentes microrganismos do solo.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., nitrogênio, bactérias diazotróficas, interação genótipos×microrganismos.

## NITROGEN FERTILIZATION AND PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA INOCULATION IN SUGARCANE

### ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effects of nitrogen fertilization and plant growth promoting bacteria (PGPB) inoculation in nine clones coming from previous work and RB867515 cultivar as standard in two crop cycles. The experiment was established in Experimental Sugarcane Station (Paranavaí-PR) and consisted the utilization of 10 genotypes (G) (9 clones from previous inoculation work and RB867515 cultivar), three treatments (T): control (C), nitrogen fertilization (80 kgN ha<sup>-1</sup>) (NITR) and inoculation of five species of PGPB (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica*, *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans*) (BAC). The evaluation occurred in two crop cycles (E) (two harvests – plant cane and 2<sup>nd</sup> ratoon). The split-split plot design was used, where the whole plot was E, the subplot was the T and sub-subplot the G. The variables were: height of plants (cm), average stalk diameter (cm), stalks m<sup>-1</sup>, °BRIX, cane yield (TCH), sugar yield (TPH) and pol%cane (to estimate TPH), analyzed in two harvests (12 and 36 months after planting). It was measured nitrogen foliar content in leaf +3 4 months after planting and 4 months 2<sup>nd</sup> ratoon. To nitrogen content, the split-plot design was used for each crop cycle, with T as whole plot and G as subplot. The nitrogen content fluctuated in the different genotypes, being in plant cane treatment BAC and in the ratoon, the treatment C was superior than others. The great yield were founded with treatment NITR under the genotypes 1, 7 and 9 in second harvest. There was difference in all variables among G, occurring G×E, G×T and G×E×T interactions, mainly in the estimated characters of the yield. The clones 1, 7 and 9 stood out as greater yield genotypes. Altogether, there were no response to PGPB inoculation, except to clone 2 that responded positively. Studies with others PGPB may be developed with tested clones, considering bacteria, environment and different soil microorganisms' interactions.

Key words: *Saccharum* spp., nitrogen, diazotrophic bacteria, genotypes×microorganisms interaction.

## 1.1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) importante cultura para o Brasil, tem sua produção estimada na safra 2015/16 de 658,70 milhões de toneladas, ou seja um aumento de 3,8% comparando-se a safra anterior, e cultivados em aproximadamente 9 milhões de hectares em todo o território nacional (Conab, 2015). Os principais produtos derivados da cultura são o açúcar e o etanol, este último com grande utilização como combustível para carros *Flex* (Alves, 2011).

Como o aumento na área plantada de cana-de-açúcar tem sido gradual, nos últimos anos, a tendência na utilização de insumos aumentaria na mesma proporção, e um dos insumos mais utilizados na cana-de-açúcar são os fertilizantes, com grande importância no fornecimento de nutrientes (Vitti et al., 2008). Dentre os fertilizantes mais utilizados para a cana-de-açúcar se encontram os adubos nitrogenados. A resposta positiva em produtividade desse insumo é evidenciada principalmente nas *Poaceae*, bem como no trigo (Favarato et al., 2012), milho (Leal et al., 2013) e cana-de-açúcar (Prado e Pancelli, 2008; Vitti et al., 2008; Fortes et al., 2013).

Os adubos nitrogenados fornecem o nitrogênio que é assimilado e absorvido pela planta na forma de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$  (Raven e Smith, 1976). Na cana-de-açúcar o nitrogênio é um dos principais elementos necessários à nutrição, podendo limitar a produtividade na sua falta (Vitti et al., 2008). As perdas de nitrogênio podem causar sérios prejuízos ao ambiente, e elas ocorrem geralmente pela lixiviação e volatilização afetando os cursos d'água, lençol freático, salinização de solos e a liberação para a atmosfera de gases participantes do efeito estufa. Esses prejuízos afetam diretamente as comunidades aquáticas e as terrestres, onde os danos podem ser irreversíveis (Paul e Clark, 1989).

Devido aos danos ambientais e a utilização indiscriminada dos fertilizantes nitrogenados, se justifica o estudo de alternativas que possam substituir total ou parcialmente os mesmos. As bactérias fixadoras de nitrogênio (diazotróficas), podem produzir o nitrogênio necessário para suprir as necessidades das plantas, bem como ocorre na interação simbiótica entre o rizóbio e a soja (Reis, 2013). Na cana-de-açúcar a interação com as bactérias ocorre por associação, e alguns autores evidenciaram os benefícios da fixação de nitrogênio na cultura (Urquiaga et al., 1992; Oliveira et al., 2002).

As bactérias associativas também produzem reguladores vegetais, e por isso são conhecidas como bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV). Dentre os principais

reguladores vegetais produzidos estão as auxinas, que auxiliam no aumento da área de absorção das raízes e com isso maximizam a absorção de nutrientes pela planta (Taiz e Zeiger, 2006; Hungria, 2011).

Uma das primeiras bactérias estudadas em cana-de-açúcar foi a *Gluconacetobacter diazotrophicus*, sendo comprovada a sua habilidade em fixar nitrogênio (Gillis et al., 1989). Após essa descoberta outras bactérias como a *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*, foram tidas como de grande importância para a cultura, das quais Oliveira et al. (2002) estudaram os efeitos da aplicação dessas cinco bactérias concomitantemente em cana-de-açúcar, e concluíram que elas poderiam ser mais eficazes em conjunto do que quando inoculadas isoladamente.

No entanto, essas bactérias podem interagir positivamente ou negativamente com genótipos de cana-de-açúcar (Munõz-Rojas e Caballero-Mellado, 2003; Schultz et al., 2012). Munõz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), comprovaram a existência dessas interações, pela maior resposta do clone MEX57-473 frente à estirpe Pal5 da espécie *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

As interações entre bactéria×genótipo (cana-de-açúcar) ocorrem pela especificidade do genótipo da planta às estirpes bacterianas, sendo que essas interações podem ser identificadas nas fases iniciais de seleção de novos clones de cana-de-açúcar (Lopes, 2013). Schultz et al. (2012) identificaram diferentes respostas das cultivares RB72454 e RB867515 frente a inoculação com cinco BPCV e adubação nitrogenada, justificando o estudo das interações genótipos de cana-de-açúcar e BPCV.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da adubação nitrogenada e da inoculação com uma mistura de bactérias diazotróficas em nove clones de cana-de-açúcar, selecionados a partir de estudos com a inoculação de BPCV, e na cultivar RB867515 em dois ciclos de cultivo.

## 1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O Experimento foi realizado a campo, na Estação Experimental de Cana-de-açúcar, do Setor de Ciências Agrárias (Universidade Federal do Paraná), no município de Paranavaí-PR. O plantio foi realizado no dia 08 de Outubro de 2012, sob o espaçamento de 1,4 m entre linhas e com linhas de plantio de 3 m. A unidade experimental consistiu em 5 linhas de 3 m, excluindo-se duas linhas de cada extremidade.

A condução do experimento foi no sistema de cana crua (sem queima), onde o primeiro corte em cana planta ocorreu após 12 meses do plantio em Outubro de 2013. O segundo corte ocorreu em Outubro de 2014 e o terceiro em Outubro de 2015. As avaliações ocorreram no primeiro corte (cana planta) e no terceiro corte (ressoca).

Foram utilizados nove clones oriundos de trabalhos prévios com a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), selecionados em T1 (Lopes, 2013). Os cruzamentos que deram origem a cada clone estão apresentados na Tabela 1. Após a seleção em T1, os clones foram levados para a fase T2. A partir dos resultados obtidos em Lopes (2013), os clones selecionados foram divididos em três classes, compreendendo três clones que possuíam baixo °Brix (7, 8 e 9), três com °Brix intermediário (4, 5 e 6) e três com alto °Brix (1, 2 e 3) (Tabela 1). A cultivar RB867515 foi utilizada como testemunha nos ensaios.

Tabela 1- Clones utilizados no experimento e respectivo °Brix obtido em trabalho prévio com inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal.

| Nº do clone (Lopes, 2013) | Genitores           | °Brix | Nº do clone no presente trabalho |
|---------------------------|---------------------|-------|----------------------------------|
| 52                        | RB99382 × RB98710   | 23,4  | 1                                |
| 47                        | RB99361 × RB98710   | 23,2  | 2                                |
| 4                         | RB001922 × RB92579  | 23,9  | 3                                |
| 32                        | RB955114 × RB845197 | 20,8  | 4                                |
| 13                        | RB813804 × RB72910  | 21    | 5                                |
| 21                        | RB867515 × RB977619 | 20,5  | 6                                |
| 24                        | RB867515 × RB977619 | 17,5  | 7                                |
| 19                        | RB867515 × RB977619 | 17,2  | 8                                |
| 9                         | RB01616 × H64-1881  | 18,7  | 9                                |

O campo experimental foi preparado com a adubação de 100 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (P) e 60 kg ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O (K). Foram abertos sulcos de plantio com o tamanho de 3 m lineares. Os sulcos foram umedecidos com água previamente a aplicação dos tratamentos e colocação dos toletes, e logo

após foram fechados. Após o segundo corte, na ressoca, com a abertura de covas na entre linha de plantio, foram reaplicados os tratamentos. Os tratamentos utilizados foram:

- (1) Tratamento ‘Controle’ (C) sem aplicação de BPCV e nitrogênio (N);
- (2) Tratamento ‘Nitrogênio’ (NITR) com adubação nitrogenada ( $80 \text{ kg ha}^{-1}$  N de ureia).
- (3) Tratamento ‘Bactérias’ (BAC) com a aplicação de uma mistura de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV)<sup>1</sup> em meio líquido, diluído na proporção de 1:100 (v:v) em água e pulverizado via costal  $250 \text{ L ha}^{-1}$ , sobre os toletes antes do fechamento dos sulcos (Tabela 2; Figura 1).

Tabela 2 - Bactérias diazotróficas contidas na mistura de bactérias em caráter de pesquisa.

| <b>Nome científico</b>                   | <b>Estirpe</b> |
|--|----------------|
| <i>Azospirillum amazonense</i>           | CBAmC          |
| <i>Burkholderia tropica</i>              | Ppe8           |
| <i>Herbaspirillum seropedicae</i>        | HRC54          |
| <i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>   | HCC103         |
| <i>Gluconoacetobacter diazotrophicus</i> | PAL5           |



Figura 1– Aplicação da mistura de bactérias por pulverização via costal

Fonte: O autor, 2012.

Previamente a realização dos dois cortes foram realizadas análises biométricas (Tabela 3). Após cada corte (cana planta e ressoca) foram coletadas amostras contendo 10 canas (colmos) contíguas da linha central de cada parcela (unidade experimental), e foram enviadas para as análises tecnológicas.

<sup>1</sup> Mistura de bactérias conforme o trabalho de Oliveira (2002, 2006). Inoculante cedido pela empresa Novozymes®, preparado exclusivamente para a realização deste trabalho.

Com os dados obtidos nas análises biométricas e tecnológicas, ocorridas no corte de cana planta e ressoça, foram estimados os valores de tonelada de cana por hectare (TCH) e tonelada de pol por hectare (TPH), da seguinte maneira:

$$TCH = MIC \times NCM \times \frac{1000}{E} \quad (1)$$

$$TPH = \frac{PC \times TCH}{100} \quad (2)$$

onde: MIC é a massa de 1 colmo; NCM é o número de colmos por metro; E é o espaçamento de 1,4 m; PC é o pol cana (Tabela 3).

Tabela 3 – Análises biométricas ocorridas antes do corte em cana planta e na ressoça, e as análises tecnológicas realizadas com as amostras obtidas dos cortes em cana planta e ressoça<sup>2</sup>.

| Variável                            | Metodologia   | Amostragem   | Época                             |
|-------------------------------------|---|--|-----------------------------------|
| <b>Análises Biométricas</b>         |   |  |                                   |
| Estatura de planta (m) (EST)        | Medindo-se do colo da planta até a folha +1   | Excluíram-se as duas touceiras das extremidades da linha na parcela e foram amostrados ao acaso 30 colmos por parcela. |                                   |
| Diâmetro médio de colmos (cm) (DIA) | Medido na parte média da planta   |  |                                   |
| Número de colmos por metro (NCM)    | $\frac{\text{N}^\circ \text{ total de colmos na linha}}{\text{comprimento da linha}}$ (3) | Contagem total de colmos na linha.   | Aos 12 e 36 meses após o plantio. |
| Massa da parcela (kg)               | Dinamômetro   | Peso total dos colmos na linha.  |                                   |
| Massa de 1 colmo (kg)               | $\frac{\text{Massa da parcela}}{\text{N}^\circ \text{ total de colmos na linha}}$ (4)     | Peso de um colmo estimado.   |                                   |
| <b>Análises Tecnológicas</b>        |   |  |                                   |
| % caldo cana                        | <sup>o</sup> Brix<br>Fernandes (2003)   | Excluíram-se as duas touceiras das extremidades e foram amostrados 10 colmos por linha.                                | Aos 12 e 36 meses após o plantio. |
|                                     | Pol cana (PC)   |  |                                   |

Aos quatro meses após o plantio e aos quatro meses na ressoça ocorreu uma avaliação quanto ao teor de nitrogênio foliar (%) (m:m) (TNF), utilizando o terço médio das folhas +3 sem a nervura central. A folha +3 foi coletada de acordo com o sistema de Kuijper (Cheavegatti-

<sup>2</sup> Análise tecnológica realizada pela usina Coopcana em São Carlos do Ivaí – PR.

Gianotto et al., 2011). As folhas foram amostradas ao acaso, e retiradas 20 folhas +3 da unidade experimental. Após, essas folhas foram lavadas com água destilada e enviadas para análise de acordo com a metodologia de Bataglia et al. (1983).

Para as características estatura de planta (m) (EST), diâmetro médio de colmos (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), °Brix, TCH e TPH, o delineamento estatístico utilizado foi em blocos ao acaso nos esquema de parcelas subdivididas com duas repetições, onde a parcela principal foram os diferentes estádios (cana planta e ressoça), as subparcelas os tratamentos (C, BAC e NITR) e as subsubparcelas os genótipos (clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e a cultivar RB867515).

Para o TNF foram realizadas análises para cada ano de avaliação, no delineamento em blocos casualizados e no esquema de parcelas subdivididas, com alocação dos tratamentos nas parcelas e dos genótipos nas subparcelas. Para análise estatística dos dados foi utilizado o programa Sisvar v.5.0 (Ferreira, 2011).

### 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ciclos de cana planta e ressoca o comportamento dos tratamentos nos genótipos foram diferentes quanto ao teor de nitrogênio foliar (TNF). Em cana planta houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre os tratamentos, genótipos e na interação dentre eles. Na ressoca somente houve diferença significativa entre os genótipos (Tabela 4).

Tabela 4 – Teor de nitrogênio nos tecidos foliares da folha +3, dos clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 e a cultivar RB867515, submetidos aos tratamentos controle (C), bactérias (BAC) e nitrogênio (NITR), avaliados aos 4 meses após o plantio e aos 4 meses na ressoca.

| Genótipos | Cana planta |          |           |           | Ressoca |      |      |           |
|-----------|-------------|----------|-----------|-----------|---------|------|------|-----------|
|           | C           | BAC      | NITR      | $\bar{X}$ | C       | BAC  | NITR | $\bar{X}$ |
| 1         | 1,99 ABb    | 2,42 ABa | 2,21 ABab | 2,21 AB   | 1,41    | 1,31 | 1,37 | 1,36 AB   |
| 2         | 2,24 Ab     | 2,69 Aa  | 2,23 Ab   | 2,39 A    | 1,89    | 1,50 | 1,49 | 1,62 A    |
| 3         | 1,51 Cb     | 1,69 Cab | 1,84 ABa  | 1,68 E    | 1,20    | 1,26 | 1,11 | 1,19 B    |
| 4         | 2,08 ABb    | 2,53 Aa  | 1,82 ABb  | 2,14 ABC  | 1,48    | 1,34 | 1,39 | 1,40 AB   |
| 5         | 2,01 ABa    | 2,04 BCa | 2,08 ABa  | 2,04 BCD  | 1,14    | 1,26 | 1,20 | 1,20 B    |
| 6         | 2,04 ABa    | 1,77 Ca  | 1,80 Ba   | 1,87 DE   | 1,39    | 1,16 | 1,41 | 1,32 B    |
| 7         | 1,68 BCa    | 1,97 Ca  | 1,83 ABa  | 1,83 DE   | 1,43    | 1,33 | 1,19 | 1,32 B    |
| 8         | 2,10 ABa    | 1,81 Ca  | 1,11 Cb   | 1,67 E    | 1,39    | 1,34 | 1,37 | 1,37 AB   |
| 9         | 2,15 Aa     | 1,82 Cb  | 2,23 Aa   | 2,07 BCD  | 1,65    | 1,47 | 1,31 | 1,47 AB   |
| RB867515  | 1,92 ABCa   | 1,88 Ca  | 2,05 ABa  | 1,95 CD   | 1,54    | 1,30 | 1,48 | 1,44 AB   |
| $\bar{X}$ | 1,97 ab     | 2,06 a   | 1,92 b    |           | 1,45    | 1,33 | 1,33 |           |

-----P valor-----

|                        | Cana planta | Ressoca |
|------------------------|-------------|---------|
| <b>Genótipos (G)</b>   | 0,00**      | 0,00**  |
| <b>Tratamentos (T)</b> | 0,03**      | 0,33    |
| <b>G × T</b>           | 0,00**      | 0,53    |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Em cana planta os clones 1 e 2 apresentaram os maiores acúmulos de nitrogênio (N) nos tecidos foliares, seguidos pelo clone 4. Os clones 3 e 8 foram inferiores estatisticamente aos demais. O tratamento BAC com bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) foi superior estatisticamente, não diferindo do controle (C), que obteve valores intermediários. O tratamento com a adubação nitrogenada (NITR) apresentou os menores resultados (Tabela 4).

Os clones 1, 2 e 4 foram superiores no tratamento com a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) (BAC). No clone 9 os tratamentos controle (C) e com a adubação nitrogenada (NITR) não diferiram entre si e foram superiores ao tratamento BAC. No clone 3 o tratamentos NITR foi superior, enquanto que o C foi inferior e o BAC obteve

os valores intermediários. Os genótipos 5, 6, 7 e RB867515 não diferiram estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 4).

Na ressoca o clone 2 foi superior estatisticamente, seguido dos genótipos 1, 8, 4, RB867515 e 9, que apresentaram resultados intermediários e foram estatisticamente iguais aos clones 3, 5, 6 e 7, os quais foram inferiores estatisticamente ao clone 2 (Tabela 4).

O aumento do TNF, na planta como um todo, observado em alguns clones quando tratados com as BPCV é uma tendência observada por alguns autores, principalmente porque essas bactérias são conhecidas como diazotróficas e em alguns genótipos, os quais possuem maior afinidade com as BPCV, podem ser beneficiados pelo fornecimento de nitrogênio via fixação biológica do nitrogênio (Boddey et al., 2003).

Medindo indiretamente os teores de nitrogênio, através dos teores de clorofila, Barassi et al. (2008) indicam que a inoculação pode aumentar esses teores em plantas superiores. Garcia et al. (2013) utilizando as mesmas bactérias do presente estudo verificaram em ambiente controlado um aumento nos teores de clorofila em folhas de cana-de-açúcar inoculadas com BPCV.

Ao contrário do desempenho em cana planta, no segundo período os tratamentos B e N não propiciaram um maior acúmulo de nitrogênio nas folhas (Tabela 4), provavelmente devido a diferenças nas condições ambientais daquele período (Anexo 2 e 3). Prado e Pancelli (2008) observaram maiores teores de N nas folhas de cana-de-açúcar em cana planta e também na ressoca quando realizada a adubação nitrogenada. Franco (2008) observou aumento nos teores foliares em cana-de-açúcar adubada com N em cana planta.

Os dados obtidos na Tabela 4 estão de acordo com os dados obtidos por Medeiros et al. (2012) e Chauhan et al. (2013). Medeiros et al. (2012) indicaram em testes que a inoculação com a mistura de bactérias, pode suprir em até 50% do nitrogênio necessário ao desenvolvimento da cana-de-açúcar. Por outro lado, esses autores identificaram que em tratamentos onde somente ocorreu a inoculação de BPCV, os TNF poderiam ser até 50% menores que nos tratamentos supridos com nutrição mineral, incluindo o nitrogênio. Chauhan et al. (2013) também não observaram teores maiores de nitrogênio nas folhas dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas aos 270 dias após o plantio.

A produtividade em cana-de-açúcar com os três tratamentos no presente trabalho não apresentaram diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F ( $p$ -valor>0,05). Em trabalhos com a inoculação de BPCV, Pereira et al. (2013) demonstraram maiores acúmulos de

biomassa em tais tratamentos, enquanto Shukla (2012) observou ganhos de produtividade nos tratamentos inoculados com *Gluconacetobacter diazotrophicus* na cultivar CoS 8436 de cana-de-açúcar.

Nas condições do experimento realizado o tratamento com as BAC pode não ter obtido resultado superior ao controle pelo fato de que não são todos os genótipos que respondem positivamente a inoculação. Os autores Morais et al. (2010), Lopes et al. (2012) e Schultz et al. (2012), demonstraram que na cana-de-açúcar há maior especificidade na interação genótipo×bactéria, como descrito na Tabela 5.

Cada genótipo apresentou características diferentes quanto a estatura (m) (EST), diâmetro médio de colmos (cm) (DIA), número de colmos m<sup>-1</sup> (NCM), TCH, TPH e BRIX, onde o clone 1 se destacou como o que apresentou as maiores produtividades, NCM e EST (Tabela 5).

Os resultados obtidos no clone 1 para TPH se aproximam dos resultados experimentais do seu genitor feminino RB98710 (Daros et al., 2015). Os valores obtidos com a produtividade da RB867515 (Tabela 5), se aproximam da descrição da cultivar por Barbosa et al. (2001) e Daros et al. (2015).

Os genótipos 6, 7 e 8 são oriundos do mesmo cruzamento, sendo que o genitor masculino é a cultivar RB867515. Esses genótipos não obtiveram o mesmo desempenho da cultivar nos caracteres avaliados, com exceção para a produtividade do clone 7 que foi semelhante a cultivar. Tal fato ocorreu, pelo maior acúmulo de massa nos colmos no clone 7, demonstrado pelo caracter massa de 1 colmo (MIC) (Tabela 5).

Portanto, os genótipos 1, 7, 9 e RB867515 apresentaram as maiores MIC, com destaque para o clone 7, enquanto que as menores MIC foram dos clones 2 e 6. Esse dois últimos clones apresentaram resultados de pol cana (PC) superiores estatisticamente, juntamente com a RB867515 e o clone 3. Os menores valores de PC foram obtidos nos clones 8 e 9 (Tabela 5).

O clone 8 apresentou os menores valores para todos os caracteres apresentados na Tabela 5, acompanhados em seguida pelos clones 2, 3, 5 e 6. O clone 9 foi superior estatisticamente no caracter DIA, NCM, além de TCH na ordem de 106,96, estatisticamente igual a cultivar e ao clone 1. Para TCH o clone 9 foi estatisticamente igual ao clone 1, para TPH, foi inferior estatisticamente (Tabela 5).

Quanto aos °BRIX os clones 2, 3 e 6 foram estatisticamente diferentes aos demais clones, não diferindo estatisticamente da RB867515. A cultivar diferiu estatisticamente apenas dos

clones 8 e 9, que apresentaram os piores resultados. O comportamento dos genótipos seguiu a mesma tendência do trabalho de Lopes (2013) para o caracter °BRIX, com exceção do clone 6.

Tabela 5 – Média dos caracteres, estatura média de plantas (m) (EST), diâmetro médio de colmos (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), massa de 1 colmo (MIC), tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, dos genótipos (Clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 e a RB867515), em cana planta e ressoça.

| Genótipos         | EST    | DIA      | NCM      | MIC     | TCH       | PC        | TPH       | °BRIX    |
|-------------------|--------|----------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|
| <b>Clone 1</b>    | 2,53 A | 2,13 CDE | 14,39 A  | 1,35 AB | 135,24 A  | 14,06 BC  | 18,96 A   | 19,14 B  |
| <b>Clone 2</b>    | 1,99 B | 2,11 CDE | 11,19 AB | 0,88 C  | 67,33 CD  | 15,23 A   | 10,18 CD  | 20,25 A  |
| <b>Clone 3</b>    | 2,40 A | 1,95 EF  | 10,89 AB | 1,08 BC | 81,18 BC  | 14,93 AB  | 12,06 BCD | 20,27 A  |
| <b>Clone 4</b>    | 2,14 B | 2,05 DE  | 8,39 BC  | 1,07 BC | 59,77 CD  | 13,31 CD  | 7,92 DE   | 18,46 B  |
| <b>Clone 5</b>    | 2,16 B | 2,15 CDE | 9,89 BC  | 1,06 BC | 71,69 CD  | 12,72 DE  | 9,02 CDE  | 18,64 B  |
| <b>Clone 6</b>    | 2,16 B | 1,83 F   | 11,44 AB | 0,81 C  | 66,30 CD  | 14,53 AB  | 9,72 CDE  | 20,20 A  |
| <b>Clone 7</b>    | 2,12 B | 2,38 B   | 9,80 BC  | 1,58 A  | 109,09 AB | 13,41 CD  | 14,84 AB  | 18,41 B  |
| <b>Clone 8</b>    | 2,18 B | 2,23 BCD | 6,58 C   | 1,05 BC | 49,15 D   | 11,87 E   | 5,42 E    | 17,12 C  |
| <b>Clone 9</b>    | 2,18 B | 2,64 A   | 11,53 AB | 1,32 AB | 106,96 AB | 12,11 E   | 12,88 BC  | 17,17 C  |
| <b>RB867515</b>   | 2,55 A | 2,30 BC  | 11,36 AB | 1,39 AB | 110,89 AB | 14,11 ABC | 15,50 AB  | 19,34 AB |
| -----P valor----- |        |          |          |         |           |           |           |          |
|                   | 0,00** | 0,00**   | 0,00**   | 0,00**  | 0,00**    | 0,00**    | 0,00**    | 0,00**   |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação de médias de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% e probabilidade pelo teste F.

A interação genótipos × tratamentos (G×T) foi significativa para DIA e NCM, em que o tratamento BAC foi superior estatisticamente aos demais na maioria dos clones avaliados. No DIA os clones 1, 4, 7 e a RB867515 não diferiram estatisticamente entre os tratamentos, sendo que nos clones 3 e 5 o tratamento BAC foi superior (Tabela 6).

Nos clones 2, 3 e 5 o tratamento C foi inferior aos outros dois, e para o clone 6 o C foi o melhor tratamento. O tratamento NITR se manteve com os valores intermediários na maioria dos genótipos. Para NCM somente os clones 1, 2 e 4 apresentaram diferenças entre os tratamentos, sendo que para o clone 2 o melhor tratamento foi o BAC, e para os clones 1 e 4 o tratamento NITR (Tabela 6).

A interação G×T foi observada nos trabalhos de Schultz et al. (2012) e Oliver (2014), os quais envolviam também a inoculação com BPCV e a fertilização nitrogenada. O aumento no NCM conforme as maiores dosagens de N foi demonstrado por Paes et al. (1997). Em trabalhos com BPCV, Lopes (2013) demonstrou que os genótipos de cana-de-açúcar respondem diferentemente conforme os tratamentos aplicados para número de colmos, estatura e diâmetro de

colmos. No trabalho de Vitorino et al. (2012) no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar a inoculação promoveu o crescimento de plantas similarmente a adubação mineral.

Não houve interação significativa entre G×T para TCH e TPH (Tabela 6). Diferentemente do presente estudo, Schultz et al. (2012) observaram aumentos de produtividade nos tratamentos com BPCV associadas a RB867515. Incrementos de produtividade foram observados por Fortes et al. (2013) em cana planta e soca com a fertilização nitrogenada.

°BRIX não apresentou diferença estatística ( $p$ -valor>0,05) na interação e para os tratamentos. Lopes (2013) também identificou valores similares dessa variável em comparação dos tratamentos inoculados com a testemunha.

Na média, a produtividade ficou próxima ao longo dos cortes em cana planta e na ressoça, não havendo diferença significativa ( $p$ -valor>0,05). De acordo com a literatura na cana-de-açúcar as produtividades variam conforme os sucessivos cortes, visto que ao longo dos cortes a produtividade tende a decrescer com o manejo inadequado (Daros et al., 2015). A longevidade do canavial pode ser mantida através de tratos culturais adequados, tais como a manutenção da fertilidade do solo pela adubação das soqueiras (Weber et al., 2001; Otto, 2012).

Nos diferentes cortes, cana planta (E1) e ressoça (E2), houve variação de produtividade nos diferentes genótipos e tratamentos. Os clones 1 e 7 apresentaram as maiores produtividades (TCH) em E2 no tratamento NITR, e em TPH os clones 1, 7 e 9. O clone 2 apresentou as maiores produtividades em E2 no tratamento BAC. Os clones 3 e 8 apresentaram as maiores produtividades no corte E1 e o clone 7 em E2 (Tabela 7).

Esse efeito observado nos clones 1 e 7, concorda com os dados de Weber et al. (2001), que atribuem a adubação das soqueiras como um fator na recuperação da produtividade. Prado e Pancelli (2008) atribuem êxito com a maior produtividade de colmos onde houve a aplicação de nitrogênio no sistema sem queima. A adubação nitrogenada em cana-de-açúcar estimula o crescimento vegetativo inicial da cultura e propicia um melhor desenvolvimento até a maturação dos colmos, o que pode ter reflexo nos ciclos seguintes da cultura (Vitti et al., 2008).

Tabela 6 – Dados obtidos com a aplicação dos tratamentos: controle (C), nitrogênio (NITR) e bactérias (BAC), nos Genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515. Interação genótipos × tratamentos (G×T), de acordo com os caracteres: Diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e tonelada de pol por hectare (TPH).

| Genótipos          | DIA                        |      |      | NCM                  |       |       | TCH                  |        |        | PC                   |       |       | TPH                  |       |       |
|--------------------|----------------------------|------|------|----------------------|-------|-------|----------------------|--------|--------|----------------------|-------|-------|----------------------|-------|-------|
|                    | C                          | NITR | BAC  | C                    | NITR  | BAC   | C                    | NITR   | BAC    | C                    | NITR  | BAC   | C                    | NITR  | BAC   |
| Clone 1            | 2,10                       | 2,06 | 2,23 | 12,58                | 18,17 | 12,41 | 120,02               | 170,11 | 115,59 | 13,96                | 14,37 | 13,87 | 16,41                | 24,80 | 15,68 |
|                    | Ca                         | Ca   | Aa   | Ab                   | Aa    | Ab    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 2            | 1,94                       | 2,20 | 2,20 | 9,41                 | 9,50  | 14,67 | 55,76                | 67,76  | 78,46  | 15,71                | 15,42 | 14,53 | 8,44                 | 10,59 | 11,51 |
|                    | Db                         | Ba   | Aa   | Bb                   | Bb    | Aa    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 3            | 1,88                       | 1,80 | 2,18 | 11,99                | 11,75 | 8,91  | 94,19                | 79,93  | 69,41  | 14,48                | 15,23 | 15,09 | 13,68                | 12,12 | 10,38 |
|                    | Db                         | Db   | Aa   | Aa                   | Ba    | Ba    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 4            | 2,16                       | 1,93 | 2,07 | 8,08                 | 10,75 | 6,33  | 64,76                | 79,44  | 44,11  | 13,04                | 13,10 | 13,79 | 8,41                 | 9,18  | 6,16  |
|                    | Ca                         | Ca   | Ba   | Bb                   | Ba    | Cb    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 5            | 2,09                       | 1,96 | 2,39 | 11,50                | 10,41 | 7,75  | 87,14                | 69,58  | 58,35  | 12,58                | 12,81 | 12,77 | 10,93                | 8,72  | 7,41  |
|                    | Cb                         | Cb   | Aa   | Aa                   | Ba    | Ba    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 6            | 2,00                       | 1,78 | 1,70 | 12,58                | 10,33 | 11,41 | 73,29                | 62,88  | 62,73  | 14,06                | 15,28 | 14,26 | 10,30                | 9,71  | 9,15  |
|                    | Da                         | Db   | Cb   | Aa                   | Ba    | Aa    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 7            | 2,45                       | 2,39 | 2,31 | 9,16                 | 11,75 | 8,50  | 103,43               | 133,88 | 89,96  | 13,23                | 13,69 | 13,31 | 13,65                | 18,89 | 11,97 |
|                    | Ba                         | Ba   | Aa   | Ba                   | Ba    | Ba    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 8            | 2,43                       | 2,31 | 1,96 | 4,50                 | 7,58  | 7,67  | 40,83                | 52,39  | 54,24  | 12,02                | 11,68 | 11,92 | 4,59                 | 5,65  | 6,00  |
|                    | Ba                         | Ba   | Bb   | Ca                   | Ba    | Ba    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| Clone 9            | 2,69                       | 2,76 | 2,47 | 10,50                | 12,58 | 11,50 | 91,15                | 134,22 | 95,50  | 11,64                | 12,53 | 12,17 | 10,39                | 16,98 | 11,26 |
|                    | Aa                         | Aa   | Ab   | Aa                   | Ba    | Aa    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| RB867515           | 2,23                       | 2,40 | 2,28 | 12,58                | 10,25 | 11,25 | 116,02               | 115,82 | 100,82 | 13,93                | 14,36 | 14,05 | 16,00                | 16,38 | 14,10 |
|                    | Ca                         | Ba   | Aa   | Aa                   | Ba    | Aa    |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| <b>FV</b>          | ----- <i>p</i> valor ----- |      |      |                      |       |       |                      |        |        |                      |       |       |                      |       |       |
| <b>Tratamentos</b> | 0,23 <sup>n.s.</sup>       |      |      | 0,13 <sup>n.s.</sup> |       |       | 0,09 <sup>n.s.</sup> |        |        | 0,06 <sup>n.s.</sup> |       |       | 0,08 <sup>n.s.</sup> |       |       |
| <b>G×T</b>         | 0,00 <sup>**</sup>         |      |      | 0,01 <sup>**</sup>   |       |       | 0,06 <sup>n.s.</sup> |        |        | 0,73 <sup>n.s.</sup> |       |       | 0,07 <sup>n.s.</sup> |       |       |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de comparação de médias de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1% e <sup>n.s.</sup> não significativo; **FV** Fontes de variação

Tabela 7 – Dados obtidos nos cortes (ciclos de crescimento) em cana planta (E1) e ressoca (E2), com a aplicação dos tratamentos: controle (C), nitrogênio (NITR) e bactérias (BAC), nos Genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515. Interação genótipos × estádios (G×E) e genótipos × estádios × tratamentos (G×E×T), de acordo com os caracteres: tonelada de colmos por hectare (TCH) e tonelada de pol por hectare (TPH).

| Genótipos         | Cortes (ciclos) | TCH        |           |           |           | TPH        |           |          |           |
|-------------------|-----------------|------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|----------|-----------|
|                   |                 | C          | NITR      | BAC       | $\bar{X}$ | C          | NITR      | BAC      | $\bar{X}$ |
| 1                 | E1              | 146,55 Aa  | 141,19 Ba | 138,09 Aa | 141,94 A  | 18,35 Aa   | 18,88 Ba  | 16,92 Aa | 18,05 A   |
|                   | E2              | 93,48 Bb   | 199,03 Aa | 93,09 Ab  | 128,53 A  | 14,47 Ab   | 30,71 Aa  | 14,44 Ab | 19,88 A   |
| 2                 | E1              | 67,97 Aa   | 72,26 Aa  | 48,10 Ba  | 62,78 A   | 9,86 Aa    | 11,04 Aa  | 6,82 Ba  | 9,24 A    |
|                   | E2              | 43,54 Ab   | 63,25 Aab | 108,83 Aa | 71,88 A   | 7,01 Ab    | 10,13 Aab | 16,20 Aa | 11,12 A   |
| 3                 | E1              | 95,24 Aa   | 113,69 Aa | 87,97 Aa  | 98,97 A   | 14,07 Aa   | 17,12 Aa  | 12,78 Aa | 14,66 A   |
|                   | E2              | 93,14 Aa   | 46,17 Ba  | 50,85 Aa  | 63,39 B   | 13,30 Aa   | 7,12 Ba   | 7,98 Aa  | 9,47 B    |
| 4                 | E1              | 70,83 Aa   | 73,21 Aa  | 38,57 Aa  | 60,87 A   | 8,52 Aa    | 9,41 Aa   | 4,72 Aa  | 7,55 A    |
|                   | E2              | 58,68 Aa   | 67,66 Aa  | 49,65 Aa  | 58,67 A   | 8,29 Aa    | 8,96 Aa   | 7,60 Aa  | 8,28 A    |
| 5                 | E1              | 89,64 Aa   | 77,74 Aa  | 60,47 Aa  | 75,95 A   | 9,94 Aa    | 8,05 Aa   | 6,36 Aa  | 8,12 A    |
|                   | E2              | 84,63 Aa   | 61,43 Aa  | 56,22 Aa  | 67,43 A   | 11,93 Aa   | 9,39 Aa   | 8,46 Aa  | 9,93 A    |
| 6                 | E1              | 81,90 Aa   | 51,19 Aa  | 53,81 Aa  | 62,30 A   | 11,48 Aa   | 7,29 Aa   | 7,27 Aa  | 8,68 A    |
|                   | E2              | 64,68 Aa   | 74,57 Aa  | 71,66 Aa  | 70,30 A   | 9,12 Aa    | 12,13 Aa  | 11,03 Aa | 10,76 A   |
| 7                 | E1              | 106,19 Aa  | 76,66 Ba  | 89,28 Aa  | 90,71 B   | 12,78 Aa   | 9,70 Ba   | 11,36 Aa | 11,28 B   |
|                   | E2              | 100,66 Ab  | 191,09 Aa | 90,63 Ab  | 127,46 A  | 14,52 Ab   | 28,07 Aa  | 12,58 Ab | 18,39 A   |
| 8                 | E1              | 55,95 Aa   | 76,55 Aa  | 74,88 Aa  | 69,13 A   | 5,54 Aa    | 7,52 Aa   | 7,23 Aa  | 6,76 A    |
|                   | E2              | 25,71 Aa   | 28,22 Ba  | 33,60 Aa  | 29,18 B   | 3,64 Aa    | 3,78 Aa   | 4,78 Aa  | 4,07 A    |
| 9                 | E1              | 100,95 Aa  | 127,02 Aa | 109,28 Aa | 112,42 A  | 9,55 Ba    | 13,03 Ba  | 9,88 Aa  | 10,82 B   |
|                   | E2              | 81,34 Ab   | 141,42 Aa | 81,71 Ab  | 101,49 A  | 11,23 Ab   | 20,93 Aa  | 12,65 Ab | 14,94 A   |
| RB867515          | E1              | 134,04 Aa  | 126,90 Aa | 103,81 Aa | 121,59 A  | 16,86 Aa   | 15,00 Aa  | 13,41 Aa | 15,09 A   |
|                   | E2              | 98,01 Aa   | 104,74 Aa | 97,82 Aa  | 100,19 A  | 15,15 Aa   | 17,77 Aa  | 14,79 Aa | 15,90 A   |
| -----p valor----- |                 |            |           |           |           |            |           |          |           |
| <b>FV</b>         |                 | <b>TCH</b> |           |           |           | <b>TPH</b> |           |          |           |
| <b>G×E</b>        |                 | 0,01**     |           |           |           | 0,01**     |           |          |           |
| <b>(G×E×T)</b>    |                 | 0,00**     |           |           |           | 0,01**     |           |          |           |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de comparação de médias de Tukey a 5%.

\*\* Significativo a 1%; **FV** Fontes de variação

Em cana planta os efeitos da adubação nitrogenada complementar podem ser menos evidentes que nas socarias, pois até o primeiro corte, a cana-de-açúcar pode ainda aproveitar o efeito residual da cultura anterior, da matéria orgânica, ou ainda ser favorecida quanto à disponibilização de nutrientes no solo pelo preparo de solo no pré-plantio (Dourado-Neto et al., 2010; Vitti et al., 2008).

No corte em cana planta nenhum dos genótipos apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Os genótipos 3, 4, 5, 6, 8 e RB867515 não apresentaram diferença significativa em E2. Os genótipos 1, 2, 4, 5, 6, 9 e a RB867515 não diferiram entre si nos cortes dos dois estádios (Tabela 7).

As interações observadas, genótipos×estádios e genótipos×estádios×tratamentos, podem ser explicadas devido a cada ciclo da cana-de-açúcar estar sujeito a diferentes situações climáticas. No ciclo E1, que compreende os meses de outubro de 2012 a outubro de 2013, na região noroeste do estado do Paraná, sofreu com a escassez de chuvas e o frio acentuado nos meses de Julho e Agosto de 2013, inclusive com a ocorrência de geadas<sup>3</sup> (Conab, 2014).

Nos meses de Outubro de 2014 até Outubro de 2015, o qual corresponde ao E2, o desenvolvimento inicial da cultura foi favorecido pelas chuvas registradas no Estado do Paraná<sup>3</sup> (Conab, 2015). Segundo Moura et al. (2005) a adubação aliada ao fornecimento hídrico adequado, aumenta o rendimento dos colmos da cana-de-açúcar. Portanto, a condição climática na ressoca pode explicar os efeitos positivos da adubação nitrogenada nos clones 1, 7 e 9 (Tabela 7), que em condições adequadas na distribuição de chuvas disponibiliza no solo esse nutriente às plantas.

Para Schmatz et al. (2013) genótipos que não respondem a adubação nitrogenada ou a inoculação de inoculantes a base de BPCV, indicam possuir uma maior afinidade com os microrganismos ou bactérias nativas do solo.

---

<sup>3</sup> Observar Anexos 2 e 3

#### 1.4 CONCLUSÕES

Em cana planta houve resposta significativa para os genótipos (G), tratamentos (T) e a interação G×T, quanto aos teores foliares de nitrogênio, sendo o clone 1 superior nos tratamentos aplicados.

Os genótipos responderam diferentemente a inoculação com BPCV e a fertilização nitrogenada (NITR) ao longo dos dois estádios, sendo que os clones 1 e 7 devem receber atenção especial devido aos resultados regulares comparado nos dois cortes, e pelo desempenho superior aos demais clones. Em ressoça, a NITR proporcionou maiores TPH nos clones 1, 7 e 9, e a inoculação com BPCV propiciou maior TPH no clone 2.

São necessários novos trabalhos com a inoculação de outras BPCV, para verificar a interação em diferentes condições de campo. Recomenda-se novos testes com o clone 2 aplicando as BPCV, e testes com doses diferentes da NITR nos clones 1, 7 e 9.

## 1.5 REFERÊNCIAS

Alves, P. Vendas de carros flex registram aumento de 8,44% em 2010. **Infomoney**, 2011. Disponível em: <<http://www.infomoney.com.br/minhasfinancas/carros/noticia/2018868/vendas-carros-flex-registram-aumento-2010>>. Acesso em: 11 fev. 2012.

Barassi, C. A., Sueldo, R. J., Creus, C. M., Carrozzi, L. E., Casanovas, E. M., & Pereyra, M. A. Potencialidad de Azospirillum en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: Cassán, F. D.; García De Salamone, I. (Eds.). **Azospirillum sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires, Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 49-59.

Barbosa, M. H. P.; Silveira, L. C. I.; Oliveira, M. W.; Souza, V. D. F. M.; Ribeiro, S. N. N. RB867515 Sugarcane cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.1, n.4, p.437-438, 2001.

Boddey, R. M.; Urquiaga, S.; Alves, B. J.; Reis, V. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, v.252, n.1, p.139-149, 2003.

Chauhan, H.; Bagyaraj, D. J.; Sharma, A. Plant growth-promoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. **Experimental Agriculture**, v.49, n.1, p.43-52, 2013.

Chaves, V. A. **Desenvolvimento Inicial e Acúmulo de Nutrientes em Três Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas com Bactérias Diazotróficas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

Cheavegatti-Gianotto, A.; Abreu, H. M. C.; Arruda, P.; Bessalho Filho, J. C.; Burnquist, W. L.; Creste, S., ...; Fátima Grossi-de-Sá, M. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical plant biology**, v.4, n.1, p.62-89, 2011.

Companhia Nacional De Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2014/15**. 1ª Ed. Brasília: Conab, 2014. 25p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_04\\_15\\_15\\_44\\_37\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_1o\\_lev\\_-\\_14.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_15_15_44_37_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_14.pdf)>. Acesso em: 28 jun. 2015.

Companhia Nacional De Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2015/16**. N. 2 – Segundo levantamento. 1ª Ed. Brasília: Conab, 2015. 38p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_12\\_17\\_12\\_15\\_58\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_2o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_12_17_12_15_58_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_15-16.pdf)>. Acesso em: 04 dez. 2015.

Daros, E.; Oliveira, R. A.; Barbosa, G. V. S. **45 anos de variedades RB de cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Curitiba, Editora Graciosa, 2015.

Dourado-Neto, D.; Powlson, D.; Bakar, R. A.; Bacchi, O. O. S.; Basanta, M. D. V.; Keerthisinghe, G.; ...; Sangakkara, R. Multiseason recoveries of organic and inorganic nitrogen-15 in tropical cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, v.74, n.1, p.139-152, 2010.

Favarato, L. F.; Rocha, V. S.; Espindula, M. C.; Souza, M. A. D.; Paula, G. D. S. Adubação nitrogenada e qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Bragantia**, v.71, n.1, 2012.

Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

Fortes, C.; Trivelin, P. C. O.; Vitti, A. C.; Otto, R.; Franco, H. C. J.; Faroni, C. E. Stalk and sucrose yield in response to nitrogen fertilization of sugarcane under reduced tillage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.1, p.88-96, 2013.

Franco, H. C. J. **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 128 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2008.

Garcia, J. C.; Vitorino, R.; Azania, C. A. M.; Silva, D. M.; Beluci, L. R. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, variedade RB867515. **Nucleus**, v.10, n.1, 2013.

Gillis, M.; Kersters, K.; Hoste, B.; Janssens, D.; Kroppenstedt, R. M.; Stephan, M. P.; ...; De Ley, J. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov., a nitrogen-fixing acetic acid bacterium associated with sugarcane. **International journal of systematic bacteriology**, v.39, n.3, p.361-364, 1989.

Hungria, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja**, Londrina, 2011. 36p.

Leal, A. J. F.; Lazarini, E.; Rodrigues, L. R.; Marcandalli, L. H. Adubação nitrogenada para milho com o uso de plantas de cobertura e modos de aplicação de calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, p.491-501, 2013.

Leal, L. T. **Resposta de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul**. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Lincoln, N. K.; Vitousek, P. Nitrogen fixation during decomposition of sugarcane (*Saccharum officinarum*) is an important contribution to nutrient supply in traditional dryland agricultural systems of Hawai'i. **International Journal of Agricultural Sustainability**, p.1-17, 2015.

Lopes, V. R. **Melhoramento genético de cana-de-açúcar em associação com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. 133 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Lopes, V. R.; Bessalho-Filho, J. C.; Araujo, L. M.; Rodrigues, F. V.; Daros, E.; Oliveira, R. A. The selection of sugarcane families that display better associations with plant growth promoting rhizobacteria. **Journal of Agronomy**, v.11, n.2, 43, 2012.

Medeiros, C. D.; Oliveira, M. T.; Rivas, R.; Baldani, J. I.; Kido, E. A.; Santos, M. G. Gas exchange, growth, and antioxidant activity in sugarcane under biological nitrogen fixation. **Photosynthetica**, v.50, n.4, p.519-528, 2012.

Morais, L. K.; Silva, P. A.; Reis, V. M.; Aguiar, M. S.; Amaral, A. L.; Albuquerque, K. D. A.; ...; Aguiar, V. Avaliação de famílias de cana-de-açúcar quanto à eficiência na fixação biológica do nitrogênio. In: Congresso Internacional Bioenergia, 5., 2010, Curitiba. **Anais...** Curitiba: REMADE, 2010. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/873695>>. Acesso em: 10 fev. 2012.

Moura, M. V. P. S.; de Azevedo Farias, C. H.; de Azevedo, C. A. V.; Neto, J. D.; de Azevedo, H. M.; Pordeus, R. V. Doses de adubação nitrogenada e potássica em cobertura na cultura da cana-de-açúcar, primeira soca, com e sem irrigação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.4, 2005.

Munõz-Rojas, J.; Caballero-Mellado, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. **Microbial Ecology**, v.46, p.454-464, 2003.

Oliveira, A. L. M.; Urquiaga, S.; Döbereiner, J.; Baldani, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, n.2, 205-215, 2002.

Oliveira, A. L. M.; Canuto, E. L.; Urquiaga, S.; Reis, V. M.; Baldani, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v.284, n.1-2, p.23-32, 2006.

Oliver, R. **Interação entre bactérias diazotróficas e doses de n-fertilizante na cultura da cana-de-açúcar**. 73 f. Mestrado (Dissertação) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.

Otto, R. **Desenvolvimento radicular e produtividade da cana-de-açúcar relacionados à mineralização do N do solo e à adubação nitrogenada**. 118 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo; Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

Paes, J. M. V.; Brito, C. H.; Amante, M. I. V.; Pozza, E. A.; Cardoso, A. A. Efeito de doses de nitrogênio e de espaçamentos na produção e no perfilhamento da cana-planta. **Revista Ceres**, v.44, n.253, p.358-370, 1997.

Paul, E. A.; Clark, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 1<sup>st</sup> Ed. California, Academic Press, 1989.

Pereira, W. **Produtividade e qualidade tecnológica da cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas**. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

Pereira, W.; Leite, J. M.; Hipólito, G. D. S.; dos Santos, C. L. R.; Reis, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agrônoma**, v. 44, n.2, p.363-370, 2013.

Prado, R. D. M.; Pancelli, M. A. Resposta de soqueiras de cana-de-açúcar à aplicação de nitrogênio em sistema de colheita sem queima. **Bragantia**, v.67, n.4, p.951-959, 2008.

Raven, J. A.; Smith, F. A. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. **New Phytologist**, v.76, n.3, p.415-431, 1976.

Reis, V. M. Como fazer uma agricultura verde usando o mais antigo processo de obtenção de nitrogênio em plantas. **Acta Scientiae et Technicae**, v.1, n.1, 2013.

Schmatz, R.; Leal, L.; Giacomini, S.; Ludke, W.; Silva, S. D. A.; Reis, V. M. Inoculação de bactérias diazotróficas e a produtividade de colmos de genótipos de cana-de-açúcar de ciclo precoce. In: Simpósio Estadual de Agroenergia, 4.; Reunião Técnica de Agroenergia, 4., 2013, Porto Alegre. **Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, 2013. Organizado por Sérgio Delmar dos Anjos e Silva Ivan Rodrigues de Almeida. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/946406/1/093.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2015.

Schultz, N.; Moraes, R. D.; Silva, J. D.; Baptista, R. B.; Oliveira, R. P.; Leite, J. M.; Reis, V. M. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.2, p.261-268, 2012.

Shukla, S. K. Mode of Gluconacetobacter inoculation with different levels of nitrogen and its effect on growth and yield of sugarcane (*Saccharum* spp. hybrid complex). **Current Advances in Agricultural Sciences**, v.4, n.1, p.64-66, 2012.

Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.

Urquiaga, S.; Cruz, K. H.; Boddey, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, n.1, p.105-114, 1992.

Vitorino, R.; Garcia, J. C.; Azania, C. A.; Silva, D. M.; Beluci, L. R. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, variedade RB867515. In: 6º Congresso Interinstitucional de In. Científica, 6., 2012, Jaguariúna. **Anais... Jaguariúna: CIIC**, 2012.

Vitti, A. C.; Cantarella, H.; Trivelin, P. C. O.; Rossetto, R. Nitrogênio. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), 2008. Cap. 10, p.239-269.

Weber, H.; Daros, E.; Zambon, J. L. C.; Ido, O. T.; Barela, J. D. Recuperação da produtividade de soqueiras de cana de açúcar com adubação NPK. **Scientia Agraria**, v.2, n.1, p.73-77, 2001.

## CAPÍTULO 2 – CLONES DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADOS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO

### RESUMO

A utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) em plantas não-leguminosas como a cana-de-açúcar, tem se intensificado nos últimos anos visando principalmente aumentos de produtividade. A seleção de genótipos que possuam afinidade com estirpes de BPCV pode ser uma maneira de otimizar a produção da cana-de-açúcar e contribuir para uma agricultura mais sustentável no setor agroenergético. Nesse sentido, objetivou-se no presente trabalho testar a resposta de 5 clones de cana-de-açúcar e a cultivar RB867515 a inoculação com uma mistura de cinco BPCV. O experimento foi conduzido em casa de vegetação por um período de 45 dias em delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial  $6 \times 2$ , com seis genótipos de cana-de-açúcar, cinco obtidos de trabalhos anteriores com BPCV e a cultivar RB867515 como padrão. Foram utilizados os tratamentos controle e inoculado, sendo o primeiro sem aplicação de BPCV e o segundo com imersão de mini-toletes em solução com as cinco BPCV. Foram avaliados caracteres de parte aérea e de raízes. O caracter estatura de planta foi o único com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste F entre os tratamentos aplicados. Os genótipos diferiram estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste F em todos os caracteres estudados da parte aérea e das raízes. Somente não ocorreu interação genótipos  $\times$  tratamentos nos caracteres concernentes ao estudo morfológico das raízes. Os clones 7 e 8 apresentaram grande potencial nos estudos com BPCV, e a cultivar RB867515 não respondeu positivamente a inoculação segundo as avaliações realizadas. São necessários testes posteriores com os genótipos estudados avaliando-se a dinâmica populacional de bactérias e a resposta mais tardia das plantas frente a inoculação.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., PGPB, morfologia de raiz, genótipos.

## SUGARCANE CLONES INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA

### ABSTRACT

The utilization of Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) in non-leguminous plants as Sugarcane have been intensified along the last years targeting mainly the increase OF THE productivity. The genotypes selection that have closer affinity with PGPB strains may be the way to optimize sugarcane production and to boost sustainable agriculture in Brazilian agroenergetics sector. In this way, the aim of the work was to test the response of five sugarcane clones and RB867515 cultivar with mix PGPB inoculation. The experiment was conducted in greenhouse for 45 days long in completely randomized design (factorial 6×2), with six sugarcane genotypes, which five of them derived from previous PGPB works and the RB867515 cultivar. The treatments control and inoculated were used, being first one without PGPB application and the second one with 1-bud sett immersed in bacterial solution. The characters of shoot and roots of the plants were evaluated. The only variable with significant difference ( $p \leq 0,05$ ) was height of plants within applying treatments. Genotypes differed statistically ( $p \leq 0,05$ ) in all characters of shoot and roots. The interaction genotypes×treatments did not showed difference only to the root morphologic analysis. The clones 7 and 8 showed potential in PGPB studies, and the RB867515 was non-responsive to the inoculation by evaluations. Posterior tests are necessary with these genotypes evaluating bacteria population and late response of inoculated plants.

Key words: *Saccharum* spp., PGPB, root morphology, genotypes.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar possui grande importância no agronegócio brasileiro, abrangendo uma área plantada de aproximadamente 9 milhões de hectares no território nacional. O plantio da cana-de-açúcar no mundo é praticamente restrito aos limites da *Palm Tree Line*, representando as regiões mais quentes do planeta, onde em muitos casos há solos relativamente pobres em nutrientes (James, 2004; Glick, 2012; Conab, 2015).

Nesses solos a cana-de-açúcar muitas vezes não apresenta dificuldades no desenvolvimento. A adaptação aos ambientes menos favoráveis pode ocorrer por uma maior afinidade da cana-de-açúcar com a microbiota do solo, a qual traria proveito às plantas por meio das bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), com o fornecimento do nitrogênio via fixação biológica do nitrogênio (FBN) e pela produção de outros componentes que auxiliam o desenvolvimento das plantas, assim como reguladores vegetais e sideróforos (James, 2004; Glick, 2012; Mehnaz, 2013).

Devido a FBN, essas bactérias receberam inicialmente o nome de bactérias diazotróficas, as quais podem contribuir de 60 a 80% do total de nitrogênio constituinte das plantas. Esses valores representam aproximadamente 200 kg N ha<sup>-1</sup> ao ano, justificando o desenvolvimento das plantas nos solos mais pobres, e projetando uma grande economia de fertilizantes se empregados inoculantes comerciais a base das BPCV (Boddey et al., 1991).

Por outro lado, a produção dos reguladores vegetais por essas bactérias pode promover o crescimento das plantas, principalmente pelo aumento das raízes, do crescimento dos colmos e aumentando o teor de clorofila nas folhas, afetando positivamente a produtividade e desenvolvimento da cana-de-açúcar, como foi demonstrado nos trabalhos de Oliveira et al. (2002), Marques Júnior et al. (2008), Leal (2011) e Pereira et al. (2013).

No desenvolvimento de um inoculante para cana-de-açúcar Oliveira et al. (2002) evidenciaram uma grande contribuição na FBN na cultivar SP70-1143 via inoculação com uma mistura de cinco bactérias, tais como *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR11281), *Azospirillum amazonense* (BR11115), *Burkholderia tropica* (BR11366), *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BR11504) e *H. seropedicae* (BR11335).

Em outros trabalhos com cana-de-açúcar foi demonstrada a produção de reguladores vegetais por essas bactérias, sendo portanto um complemento à FBN na cana-de-açúcar (Bástian

et al., 1998; Fuentes-Ramirez et al., 1993; Mehnaz, 2013). Bástian et al. (1998) relataram a produção de auxinas e giberelinas pelas bactérias *H. seropedicae* e *G. diazotrophicus*, assim como Fuentes-Ramirez et al. (1993) que observaram o potencial da *G. diazotrophicus* na produção de auxinas, com maior evidência para a estirpe PA15 (BR11281).

No estudo de Joo et al. (2009) foi observado no gênero *Burkholderia* grande potencial na produção de giberelinas. Conforme revisão de Mehnaz (2013), o gênero *Azospirillum* é atribuído como uma versátil e poderosa ferramenta para a inoculação em plantas superiores, podendo produzir ou induzir em plantas a produção de auxinas, giberelinas, citocininas e etileno.

Apesar de haver uma contribuição dessas bactérias quanto ao crescimento da cana-de-açúcar, trabalhos recentes têm demonstrado que pode haver ainda uma interação mais específica entre genótipos e estirpes bacterianas, o que de certa forma potencializaria o efeito como promotores do crescimento. Um dos primeiros trabalhos a evidenciar esse fato foi proposto por Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), onde a estirpe PA15 de *G. diazotrophicus* apresentou grande afinidade com o genótipo de cana-de-açúcar MEX 57-473. Lopes (2013) observou esse efeito no estudo da interação de estirpes de *A. brasilense* em famílias de cana-de-açúcar, pela inoculação em plântulas, e dessa maneira auxiliando na seleção precoce dos clones mais responsivos.

Pelos benefícios trazidos às plantas, as BPCV estão sendo exploradas no cultivo da cana-de-açúcar buscando as melhores associações entre bactérias, genótipos e ambientes de cultivo. Com isso, ocorre grande divergência dos resultados obtidos com os diferentes genótipos, o que tem influenciado alguns pesquisadores a concentrar esforços tanto na seleção de clones nas fases iniciais dos programas de melhoramento quanto na busca de cultivares com maior responsividade a inoculação com as BPCV (Antônio, 2010; Garcia et al., 2013; Muthukumarasamy et al., 2006; Pereira et al., 2013; Schultz et al., 2014; Vale, 2013).

Para contribuir com informações que possam subsidiar futuros trabalhos de seleção de clones e cultivares, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta de 5 clones de cana-de-açúcar e da cultivar RB867515 com a inoculação com uma mistura de cinco bactérias promotoras do crescimento vegetal.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação por um período de 45 dias, compreendido entre os dias 31 de Outubro e 14 de Dezembro de 2012, no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados recipientes plástico com capacidade de 1 litro para acondicionar as plantas, onde em cada recipiente foi colocado um mini-tolete com 5 cm contendo uma gema, seccionados da porção apical (+4) do colmo de cana-de-açúcar, com idade cronológica de 10 meses.

Os mini-toletes foram tratados termicamente em banho maria a 52 °C por 30 minutos, e pouco antes do plantio foram aclimatados por 48 horas a 35 °C (Copersucar, 1989). Posteriormente foi realizado um pré-tratamento em estufa por 48 horas a 40 °C, para acelerar o processo de brotação das gemas. Os mini-toletes foram obtidos de genótipos de cana-de-açúcar, os quais cinco deles são clones (Tabela 8) que apresentaram resultados satisfatórios a inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) em trabalhos anteriores (ver Capítulo 1), e como cultivar padrão foi utilizada a RB867515.

Tabela 8 – Referência dos clones utilizados no experimento e seus respectivos genitores.

| Nº do clone<br>(Lopes, 2013) | Genitores           | Nº do clone no presente<br>trabalho |
|------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| 4                            | RB001922 × RB92579  | 3                                   |
| 21                           | RB867515 × RB977619 | 6                                   |
| 24                           | RB867515 × RB977619 | 7                                   |
| 19                           | RB867515 × RB977619 | 8                                   |
| 9                            | RB01616 × H64-1881  | 9                                   |

O substrato utilizado foi o Plantmax® autoclavado por 60 minutos a 1 atm e 120 °C, de composição: casca de pinus, vermiculita, superfosfato simples e nitrato de potássio, e que de acordo com Negreiros et al. (2005) sua composição química é: pH (H<sub>2</sub>O) 5,47, 662,1 ppm P, 600 ppm K, 22,62 ppm Zn, 210,3 ppm Fe, 21,4 ppm Mn, 0,79 ppm Cu, 9,64 (cmolc dm<sup>-3</sup>) Ca<sup>2+</sup>, 3,65 (cmolc dm<sup>-3</sup>) Mg<sup>2+</sup> e 0,24 (cmolc dm<sup>-3</sup>) Al<sup>3+</sup>.

Os tratamentos foram aplicados antes do plantio em casa de vegetação, e consistiram do controle com a imersão em água destilada dos mini-toletes por 30 minutos, e o tratamento inoculado, com a imersão dos mini-toletes em solução preparada com uma mistura de cinco BPCV por 30 minutos.

Foram utilizadas as cinco bactérias: *Gluconacetobacter diazotrophicus* (BR11281), *Azospirillum amazonense* (BR11115), *Burkholderia tropica* (BR11366), *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BR11504) e *H. seropedicae* (BR11335), as quais vieram separadamente em veículo líquido contendo  $10^9$  células mL<sup>-1</sup>. O preparo do inoculante (solução com as bactérias) se deu com a mistura das cinco estirpes em água destilada na proporção 1:100 (v:v)<sup>4</sup>.

O experimento foi instalado no delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em que a unidade experimental foi representada por duas plantas, em fatorial 2×6 (2 tratamentos e 6 genótipos), com 4 repetições.

As avaliações ocorreram 45 após a inoculação, e os caracteres avaliados foram número de perfilhos (NPE), estatura da planta (cm) (EST), diâmetro médio do colmo (mm) (DIA), massa (g) fresca (MF) e seca (MS) de raízes (R) e da parte aérea (PA), e área foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), estimada pela equação de Hermann e Câmara (1999):

$$AF=C \times L \times 0,75 \times (N+2) \quad (5)$$

onde  $L$  é a largura da folha +3,  $C$  o comprimento da folha +3, 0,75 é o fator de forma da cultura e  $N$  representa o número de folhas com pelo menos 20% de área verde.

Foram avaliadas na parcela os caracteres de raiz: comprimento (cm) (CR), área projetada (cm<sup>2</sup>) (APR), diâmetro (mm) (DR) e volume (cm<sup>3</sup>) (VR), com o scanner Epson Expression 836XL, na resolução de 150 dpi, próprio para a análise com o programa computacional WinRhizo (2004).

Também foi mensurado em porcentagem (%) o conteúdo relativo de água nas raízes (CRR), na parte aérea (CRPA), e na reserva orgânica (mini-tolete) (CRRO), a partir da equação:  $(MF-MS) \times 100 \times MF^{-1}$ , onde  $MF$  é a massa fresca e  $MS$  a massa seca. Os caracteres NPE, CRR, CRPA e CRRO foram transformados para  $\sqrt{x+1}$ . O caracter DIA foi transformado para Log (x).

Para a análise dos dados foi utilizado o programa Sisvar v.5.0 (Ferreira, 2011), realizando a análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste de comparação de médias Tukey a 5% de probabilidade.

Os caracteres EST, DIA, AF, CRR, CRPA e CRRO foram representados graficamente com o gráfico de radar, relacionando os genótipos e os tratamentos.

<sup>4</sup> Inoculante cedido pela empresa Novozymes®, preparado exclusivamente para a realização deste trabalho.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 9, o comportamento dos genótipos de cana-de-açúcar foram diferentes conforme os caracteres analisados. Houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os genótipos para todos caracteres, o que corrobora com os resultados obtidos por Lopes (2013) e Pereira et al. (2013). Somente para estatura de planta (cm) houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 9).

A interação genótipos×tratamentos (G×T), não foi significativa ( $p > 0,05$ ) para os caracteres número de perfilhos (NPE), conteúdo relativo de água nas raízes (CRR), conteúdo relativo de água na parte aérea (CRPA), conteúdo relativo de água na reserva orgânica do minitolete (CRRO) e para os caracteres relacionados com as raízes, bem como, comprimento (cm), área projetada (cm<sup>2</sup>), diâmetro médio (mm) e volume (cm<sup>3</sup>) (Tabela 9).

No entanto, houve interação G×T significativa a 5% de probabilidade pelo teste F, para estatura de planta (cm) (EST), diâmetro médio do colmo (mm) (DIA), área foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), massa fresca da raiz (g) (MFR), massa seca da raiz (g) (MSR), massa fresca da parte aérea (g) (MFP), massa seca da parte aérea (g) (MSP) (Tabela 9).

A interação significativa explica a especificidade existente de alguns genótipos com a inoculação de estirpes diferentes de bactérias. Estudando genótipos de cana-de-açúcar e estirpes de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003) observaram que os genótipos respondiam diferentemente a inoculação de determinadas estirpes, o que leva a crer na existência de uma maior especificidade entre genótipos e estirpes.

Lopes (2013) em um estudo com famílias de cana-de-açúcar, também atribuíram a ocorrência de uma maior especificidade entre genótipos e estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum* spp. Dessa maneira, tais resultados corroboram e justificam a interação ocorrida no presente trabalho.

Essa especificidade pode ser demonstrada pela estreita relação existente entre a cultivar B4362 e a bactéria *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, a qual provoca a doença da estria mosqueada nessa cultivar. Em outras cultivares essa bactéria não apresenta a doença e promove o crescimento das plantas (Olivares, 1997; Oliveira et al., 2002; Garcia et al., 2013; Pereira et al., 2013).

Quanto a massa seca e massa fresca, o genótipo 7 apresentou as maiores massas na raiz e o genótipo 9 na parte aérea. Os genótipos se destacaram frente aos demais para os caracteres massa seca de raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSP), massa fresca de raiz (MFR) e massa seca da parte aérea (MSP) (Tabela 10).

Na Tabela 10 estão representadas a razão (relação) entre Raiz e a Parte aérea (R:PA). No clone 7 e na cultivar RB867515, a R:PA foi maior nos tratamentos inoculados em relação ao controle para MFR, havendo portanto um maior acúmulo nas raízes desses genótipos. Para MSR houve maior relação no clone 7 no tratamento inoculado. Nos outros genótipos houve um maior acúmulo de MFR com a maior R:PA no tratamento controle (Tabela 10).

Oliveira et al. (2002) identificaram um maior desenvolvimento das raízes em relação a parte aérea de cana-de-açúcar, quando houve a inoculação das mesmas bactérias utilizadas no presente trabalho. Para esses autores houve o estabelecimento das bactérias entre 45 e 400 DAI, atribuindo uma tendência de maior transferência de carbono para as raízes nos tratamentos com a inoculação.

Conforme o trabalho de Garcia et al. (2013) a inoculação com essas bactérias não promoveu o aumento da massa seca e fresca da parte aérea das plantas da RB867515. Pereira et al. (2013) em condições de campo, obteve um maior acúmulo de biomassa para essa cultivar quando inoculada.

Antônio (2010) obteve em campo resultados satisfatórios com a inoculação das cinco estirpes estudadas no presente estudo com a cultivar RB867515, aumentando a massa seca de plantas e a produtividade. Muthukumarasamy et al. (2006) observaram que a inoculação com *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* sp. em conjunto trouxe incrementos em toda a biomassa da cultivar Co86032. Estudando a cultivar CTC 9, Vale (2013) não observou incrementos na massa de colmos e tampouco na produtividade com a inoculação das cinco estirpes em campo experimental.

O acúmulo de matéria seca nas raízes em relação ao desenvolvimento da parte aérea está ligada a vários efeitos fisiológicos que ocorrem nas plantas superiores. Marschner et al. (1996) demonstraram que a falta ou excesso de determinados nutrientes podem afetar a translocação de fotoassimilados entre as raízes e a parte aérea das plantas.



A relação R:PA é afetada com a idade da planta, que conforme o crescimento da planta essa relação decresce pelo maior desenvolvimento dos colmos e das folhas. A cana-de-açúcar mantém um equilíbrio entre essa relação, conforme as características dos genótipos, ou seja, caso haja uma excisão das raízes ou alguma parte da planta, há uma compensação ao longo do tempo até que atinja o equilíbrio novamente (Smith et al. 2005).

Segundo Otto et al. (2014) ao longo do ciclo da cana-de-açúcar, mesmo havendo uma maior adubação que estimule o crescimento das raízes no início do ciclo, aumentando a razão R:PA, com o passar do tempo, a tendência é que esse efeito primário estimulando as raízes desapareça, passando todos os tratamentos a terem grande semelhança de comportamento.

A escassez ou a presença de alguns nutrientes pode afetar o desenvolvimento tanto das raízes quanto da parte aérea, assim como o ferro, fósforo e nitrogênio. A escassez do nitrogênio na forma de nitrato possui estreita relação com o aumento das raízes, e portanto com o aumento da relação R:PA (Schmidt e Linke, 2007).

A Figura 2 apresenta o comportamento dos caracteres comprimento (CR), área projetada (APR), diâmetro médio (DR) e volume das raízes (VR). Em tais caracteres não houve diferença significativa entre os tratamentos. Quanto ao DR, este é afetado principalmente pela idade da planta, onde o envelhecimento das raízes contribui para o aumento do diâmetro, além da rusticidade de determinados genótipos (Vasconcelos, 2011).

Civiero et al. (2014) observaram em condição controlada com sistema *Rhizotron*, que o tratamento inoculado com a mistura de bactérias não diferiu estatisticamente do tratamento sem a inoculação, tanto em cana planta quanto em cana soca, para os caracteres relacionados ao desenvolvimento radicular.

Destacaram-se os clones 7, 8 e 9 que apresentaram maior desenvolvimento radicular, enquanto os clones 3 e 6 e a cultivar RB867515 apresentaram um menor desenvolvimento das raízes (Figura 2).

Esse desenvolvimento sugere que esses genótipos suportariam condições mais restritas, como estresses bióticos e abióticos, bem como na ocorrência de restrições hídricas, fornecendo a possibilidade de um maior estabelecimento da cultura a campo (Buso et al., 2009).

De maneira geral, em condições ótimas para o cultivo, as raízes da cana-de-açúcar se desenvolvem até que haja mais raízes do que o necessário para a manutenção da planta, efeito conhecido como capacidade ociosa das raízes (Smith et al., 2005). James (2004) considera essa

produção contínua de novas raízes como essencial para o ajuste da cana-de-açúcar às mudanças do ambiente.

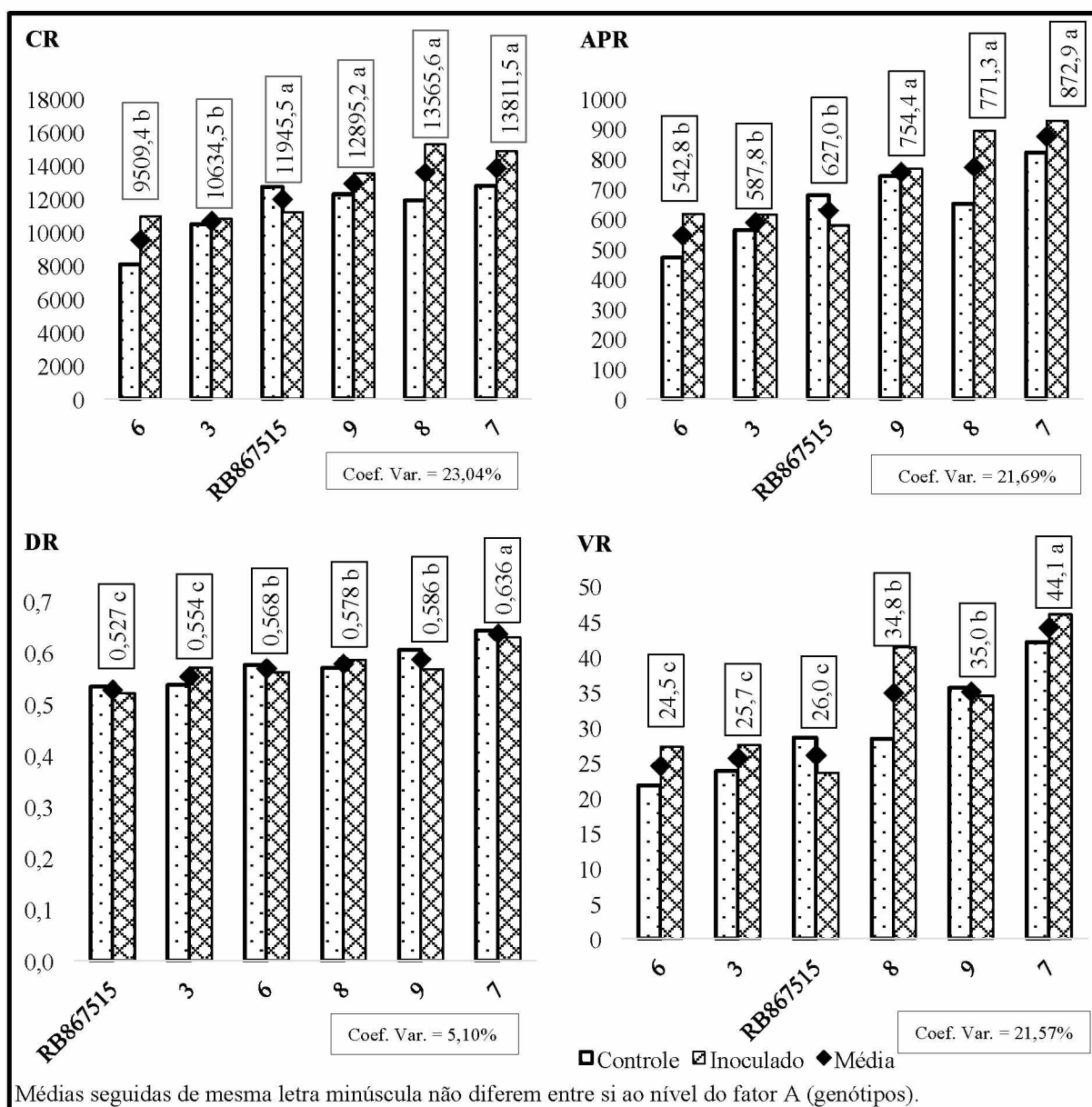


Figura 2 – Comportamento das raízes, segundo o comprimento (cm) (CR), área projetada (cm<sup>2</sup>) (APR), diâmetro médio (DR) e volume (cm<sup>3</sup>) (VR), para os genótipos 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 submetidos aos tratamentos controle e inoculado.

Os clones 7, 8 e 9, apresentaram maiores comprimento e área projetada das raízes. No clone 8 houve aumento no volume das raízes inoculadas (Figura 2), provavelmente devido a ação

de reguladores vegetais produzidos pelas bactérias. Os reguladores vegetais produzidos por essas bactérias podem ser a auxina e a giberelina (Fuentes-Ramirez et al., 1993; Bastián et al., 1998; Schmidt e Linke, 2007; Antônio, 2010).

A cultivar RB867515 não respondeu positivamente a inoculação para os caracteres de raiz (Figura 2), corroborando com os dados obtidos por Civiero et al. (2014). Em condições de campo, mais precisamente com a avaliação em cana planta, Schultz et al. (2014) não observaram a influência da inoculação na RB867515 quanto a produtividade, porém, houve diferença significativa do tratamento inoculado com a testemunha na segunda soca, o que pode indicar a necessidade de um tempo maior para o estabelecimento das bactérias.

Estudando a cultivar RB72454, genitor feminino da RB867515, Marques Júnior et al. (2008) observaram resposta positiva da cultivar com relação ao desenvolvimento de raízes quando inoculada com a bactéria *H. seropedicae* (HRC 54), provocando o aumento do comprimento e da área radicular.

Antônio (2010) observou em um estudo com cana-de-açúcar que 69% dos isolados bacterianos das raízes de diferentes cultivares de cana-de-açúcar produziam auxina (AIA), dentre os quais se encontravam a bactéria *G. diazotrophicus* estirpe PAL5.

Fuentes-Ramirez et al. (1993) atribuíram a essa bactéria grande potencial de promoção das raízes da cana-de-açúcar pela produção de auxinas e pela fixação biológica do nitrogênio. Bastián et al. (1998) também encontraram traços de auxina e giberelina produzidas pelas bactérias das espécies *H. seropedicae* e *G. diazotrophicus*.

A auxina é conhecida como hormônio do crescimento, e desenvolve um papel chave no desenvolvimento das raízes, principalmente nas raízes laterais, aumentando a área radicular. Ela estimula a síntese da  $H^+$ -ATPase, a qual atua na membrana celular desencadeando o afrouxamento da parede celular e por sua vez permitindo o alongamento das células e consequentemente o crescimento das raízes. Para que ocorra esse desenvolvimento radicular, a auxina possui um certo equilíbrio com outros hormônios, tais como a citocinina e o etileno, os quais regulam o crescimento e gravitropismo das raízes, e a diferenciação vascular (Aloni et al., 2006; Taiz e Zeiger, 2006; Schmidt e Linke, 2007).

Onde não houve crescimento maior nos tratamentos inoculados, pode ter havido um desequilíbrio hormonal nas plantas, principalmente na região das raízes, devido a produção de reguladores vegetais pelas bactérias envolvidas no processo. Por exemplo, a auxina em excesso

pode inibir o desenvolvimento radicular, induzindo a produção do etileno, um inibidor do crescimento das raízes (Taiz e Zeiger, 2006; Schmidt e Linke, 2007).

Quanto a EST, dentre os tratamentos, o tratamento inoculado foi superior estatisticamente ao controle ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F, enquanto ao nível de genótipo o tratamento inoculado foi superior estatisticamente ao controle no clone 8. O tratamento inoculado ainda foi superior estatisticamente ao controle no clone 8 nos caracteres CRR e CRPA (Tabela 9; Figura 3).

No clone 9 o tratamento controle foi superior estatisticamente ( $p < 0,05$ ) ao tratamento inoculado para o caracter DIA. Para AF, CRR e CRPA o tratamento controle foi superior ao inoculado no genótipo RB867515 (Figura 3).

A EST tem sido sugerida nos trabalhos com BPCV como um dos caracteres responsivos à inoculação. Garcia et al. (2013) observaram um aumento gradual na estatura da cultivar RB867515 inoculadas com a mistura de bactérias diazotróficas, superando a testemunha após 90 dias de plantio em condições controladas, assim como Gírio et al. (2015) que observaram o mesmo efeito nessa cultivar inoculada com as cinco bactérias diazotróficas aos 180 dias após o transplante em vasos, contrariando os resultados encontrados no presente trabalho (Figura 3).

Nos trabalhos de Suman et al. (2005) realizado a campo na Índia com a cultivar CoSe92423 e no trabalho de Chauhan et al. (2013), foi constatado aumento na estatura de plantas de cana-de-açúcar inoculadas com estirpes de *G. diazotrophicus*. Conforme Alexander (1973a) o aumento na estatura das plantas pode ser um efeito secundário da giberelina, a qual traria uma maior alongação aos colmos. Contudo esse aumento na estatura, não afeta a massa dos colmos (importante para definir produtividade). As giberelinas são produzidas também pelas BPCV (Bastian et al., 1998).

A inoculação com as cinco bactérias utilizadas nesse estudo, a princípio, segundo alguns estudos viabiliza um aumento inicial na promoção vegetal, devido aos mecanismos benéficos na produção de reguladores vegetais e da fixação do nitrogênio pelas bactérias (Bastián et al., 1998; Oliveira et al., 2002; Pereira et al., 2013).

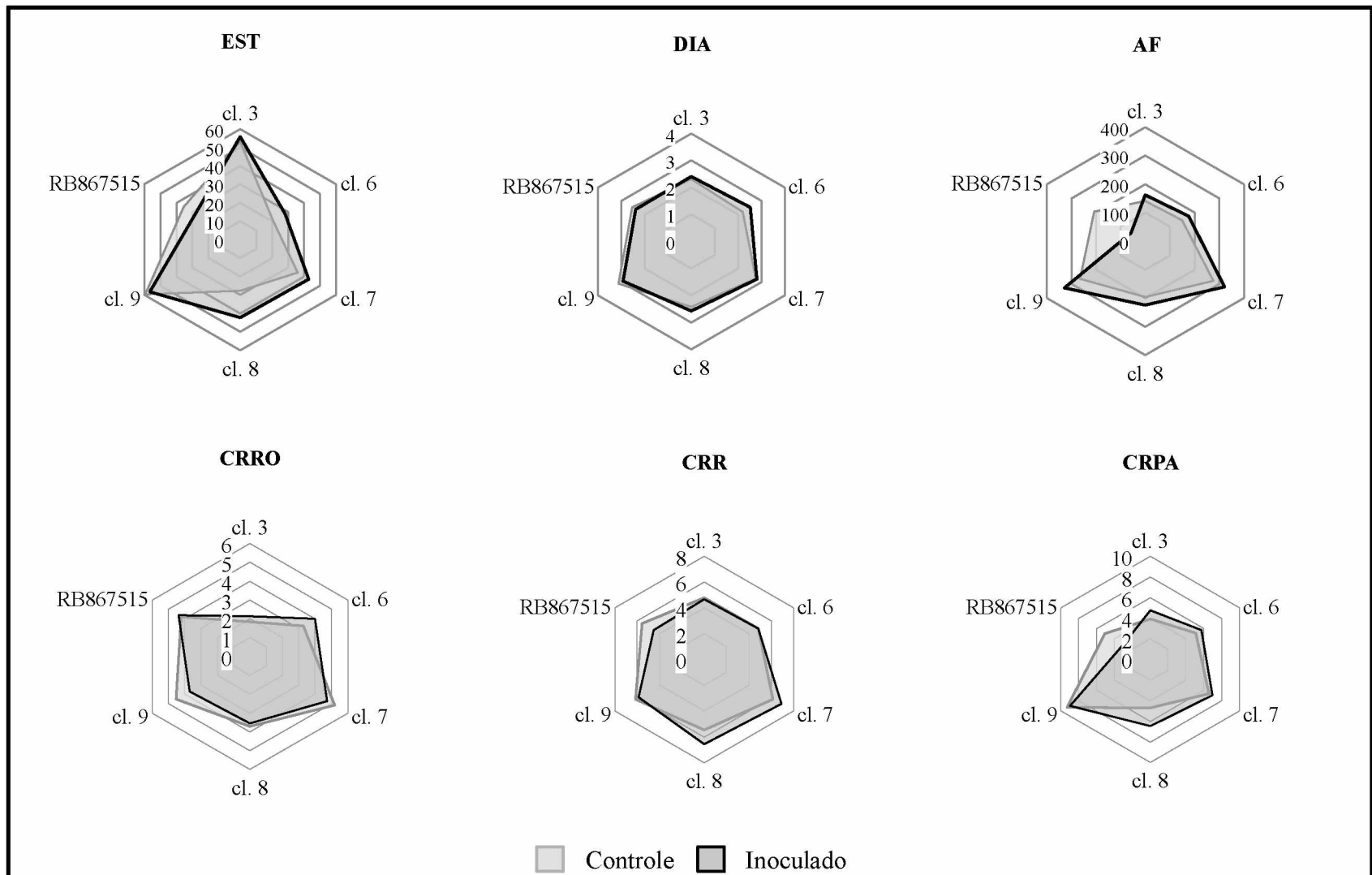


Figura 3 – Análise da Estatura (cm) (EST), Diâmetro médio do colmo (mm) (DIA), Área Foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), Conteúdo relativo de água na reserva orgânica (CRRO), na Raíz (CRR) e na Parte aérea (CRPA), no experimento conduzido em casa de vegetação com os clones (cl.) 3,6,7,8 e 9 e a cultivar RB867515, com os tratamentos controle e inoculado.

O DIA é um caracter de alta herdabilidade e muito utilizado na seleção de genótipos de cana-de-açúcar, além disso, por meio dele pode-se estimar a produtividade em ensaios experimentais. Essa característica é mais restritiva ao genótipo, explicando porque não houve efeito da inoculação de BPCV (Tabela 9; Figura 3). Tais resultados colaboram com os resultados obtidos por Leal (2011).

Entretanto, o maior diâmetro dos colmos em tratamentos com BPCV foi relatado por Ferreira et al., 2007 e Lopes (2013) em experimentos com famílias de cana-de-açúcar que apresentaram maiores médias frente a inoculação. Chauhan et al. (2013) observaram aumentos no diâmetro de colmos inoculados com diferentes bactérias promotoras do crescimento.

Quanto a AF, sua redução se dá principalmente no final do ciclo da cana-de-açúcar quando há menor estímulo vegetativo e maiores estímulos no acúmulo de sacarose em todo o colmo, devido a condições ambientais adequadas à maturação dos colmos. A maturação da cana-de-açúcar e a conseqüente senescência e perda da área foliar estão diretamente ligadas a possível queda de temperatura e restrição hídrica à cultura da cana-de-açúcar (Alexander, 1973b; Pincelli e Silva, 2012).

Portanto, os estresses sofridos pelas plantas podem levar a uma redução na área foliar, e tal fato explicaria a redução na área foliar da RB867515 (Figura 3), visto que as BPCV poderiam a princípio sinalizar como patógenos às plantas. Oliveira et al. (2002) demonstra que após um período maior de estabilização da população bacteriana e maior convivência com a planta, essa interação bactéria×genótipo, pode vir a ser benéfica.

O CRR foi maior no tratamento inoculado do clone 8 em comparação ao controle, enquanto para CRRO no clone 9, o tratamento controle foi superior ao inoculado. No clone 8, as BPCV podem ter potencializado o crescimento da parte aérea, pela utilização da reserva orgânica do mini-tolete (Figura 3).

A reserva do mini-tolete influencia positivamente no desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar, suprimindo as necessidades nutricionais das brotações, até que ocorra a formação de raízes e folhas. Portanto, um melhor aproveitamento dessa reserva nutricional, faz com que as plantas cresçam mais rapidamente, antecipando em alguns casos as intempéries e o estabelecimento de pragas e doenças. A reserva orgânica do tolete, principalmente no que condiz ao nitrogênio, é essencial até 50-60 após o plantio, podendo afetar a produtividade final da cana-de-açúcar (Carneiro et al., 1995).

Com esses resultados fica evidenciado que os tratamentos, conforme análise estatística, influenciaram no desenvolvimento vegetal da cana-de-açúcar para as condições estudadas. Gírio et al. (2015) encontraram diferenças entre os tratamentos inoculados e controle com vasos instalados a campo de cana-de-açúcar, para EST, DIA e CR, bem como MSR, MFR, MSP e MFP. O mesmo autor não encontrou diferença estatística para número de perfilhos, corroborando com dados apresentados na Tabela 9.

Quanto ao substrato utilizado, o Plantmax®, este tem por característica a presença de nutrientes que podem afetar o desenvolvimento e estabelecimento dos microrganismos, como discutido por Silva et al. (2001), onde o fósforo atuou negativamente na atuação do fungo *Glomus etunicatum*.

Associando a inoculação das bactérias diazotróficas com adubação nitrogenada, Gírio et al. (2015) observaram uma tendência de aumento nos caracteres agronômicos. Portanto, o nutriente nitrogênio, presente no Plantmax®, pode ter auxiliado no efeito da inoculação.

Segundo o trabalho de Marques Júnior et al. (2008) a maior expressão da bactéria *H. seropedicae*, quanto ao aumento da população das mesmas e dos efeitos positivos que elas promovem em cana-de-açúcar, são dependentes da aplicação do tratamento térmico nos toletes, bem como ocorrido no presente trabalho, evitando assim uma competição com possíveis microrganismos do substrato.

## 2.4 CONCLUSÕES

Houve interação genótipos×tratamentos, não sendo obtida resposta semelhante dos genótipos com a inoculação das cinco estirpes bacterianas. Os genótipos 7 e 8 apresentaram melhores respostas à inoculação. Quanto aos caracteres morfológicos de raízes (CR, DR, VR, APR) esses diferiram estatisticamente apenas entre os genótipos.

De acordo com os resultados, houve especificidade entre os genótipos e os microrganismos. Futuros trabalhos devem abranger prazos maiores de avaliação e identificar a atuação, bem como a flutuação populacional dessas bactérias ao longo do ciclo dos genótipos de cana-de-açúcar.

## 2.5 REFERÊNCIAS

- Alexander, A. G. Regulation of sugar storage. In: Alexander, A. G. **Sugarcane physiology**. 1<sup>st</sup> Ed. Amsterdam, Elsevier, 1973a. Cap. 10. p. 359-393.
- Alexander, A. G. Maturation and natural ripening. In: \_\_\_\_\_. **Sugarcane physiology**. 1<sup>st</sup> Ed. Amsterdam, Elsevier, 1973b. Cap. 11. p. 397-439.
- Aloni, R.; Aloni, E.; Langhans, M.; Ullrich, C. I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Annals of Botany**, v.97, n.5, p.883-893, 2006.
- Antônio, C. S. **Ocorrência de bactérias endofíticas associadas a variedades de cana-de-açúcar cultivadas nos estados: Alagoas e Pernambuco**. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.
- Baldani, J. I.; Reis, V. M.; Baldani, V. L. D.; Döbereiner, J. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane - reasons for success in Brazil. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 4, p. 417-423, 2002.
- Bastián, F.; Cohen, A.; Piccoli, P.; Luna, V.; Bottini, R.; Baraldi, R. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant growth regulation**, v.24, n.1, p.7-11, 1998.
- Boddey, R. M.; Urquiaga, S.; Reis, V. M.; Döbereiner, J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane. In: Polsinelli, M.; Materassi, R.; M. Vicenzini. **Nitrogen Fixation**. 1<sup>st</sup> Ed. Springer Netherlands, 1991. Cap. 22. p.105-111.
- Buso, P. H. M.; Koehler H. S.; Daros E.; Zambon J. L. C.; Ido O. T.; Bessalho-Filho J. C.; ...; Zeni Neto H. O sistema radicular da variedade RB855536 de cana-de-açúcar no plantio em minitolete e tolete. **Scientia Agraria**, v.10, n.5, p.343-349, 2009.
- Carneiro, A. E. V.; Trivelin, P. C. O.; Victoria, R. L. Utilização da reserva orgânica e de nitrogênio do tolete de plantio (colmo-semente) no desenvolvimento da cana-planta. **Scientia Agrícola**, v.52, n.2, 199-209, 1995.
- Chauhan, H.; Bagyaraj, D. J.; Sharma, A. Plant growth-promoting bacterial endophytes from sugarcane and their potential in promoting growth of the host under field conditions. **Experimental Agriculture**, v.49, n.1, p.43-52, 2013.
- Civiero, J. C.; Daros, E.; Oliveira, R. A.; Weber, H.; Bessalho Filho, J. C.; Figueiredo, G. G. O. Stalk and root development of sugarcane treated with nitrogen, filter cake and inoculation of diazotrophs. **Journal of Agronomy**, v.13, n.2, p.49-57, 2014.
- Companhia Nacional De Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2015/16. N. 2 – Segundo levantamento**. 1<sup>a</sup> Ed. Brasília: Conab, 2015. 38p.  
Disponível em:  
<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_12\\_17\\_12\\_15\\_58\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_2o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_12_17_12_15_58_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_15-16.pdf)>. Acesso em: 04 dez. 2015.

Copersucar. Binômio tempo x temperatura no controle do raquitismo da soqueira (RSD) da cana-de-açúcar, pelo processo de termoterapia em gemas isoladas. **Cadernos COPERSUCAR**, Série Melhoramento, v.25, 1989.

Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v.35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

Fuentes-Ramirez, L.; Jimenez-Salgado, T.; Abarca-Ocampo, I. R.; Caballero-Mellado, J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. **Plant and Soil**, v.154, n.2, p.145-150, 1993.

Garcia, J. C.; Vitorino, R.; Azania, C. A. M.; Silva, D. M.; Beluci, L. R. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, variedade RB867515. **Nucleus**, v.10, n.1, 2013.

Girio, L. A. S.; Dias, F. L. F.; Reis, V. M.; Urquiaga, S.; Schultz, N.; Bolonhezi, D.; Mutton, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.1, p.33-43, 2015.

Glick, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, p.1-15, 2012.

Hermann, E. R.; Câmara, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **Revista da STAB**, v.17, n.1, p.32-34, 1999.

James, G. An introduction to Sugarcane. In: \_\_\_\_\_. **Sugarcane**. 2<sup>nd</sup> Ed. Oxford, Blackwell Science Ltd, 2004. Cap. 1, p.1-19.

Joo, G. J.; Kang, S. M.; Hamayun, M.; Kim, S. K.; Na, C. I.; Shin, D. H.; Lee, I. J. *Burkholderia* sp. KCTC 11096BP as a newly isolated gibberellin producing bacterium. **The Journal of Microbiology**, v.47, n.2, p.167-171, 2009.

Leal, L. T. **Resposta de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul**. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Lopes, V. R. **Melhoramento genético de cana-de-açúcar em associação com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. 133 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Marques Júnior, R. B.; Canellas, L. P.; Silva, L. G.; Olivares, F. L. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.3, p.1121-1128, 2008.

Marschner, H.; Kirkby, E. A.; Cakmak, I. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. **Journal of Experimental Botany**, v.47(Special Issue), p.1255-1263, 1996.

Mehnaz, S. Microbes–friends and foes of sugarcane. **Journal of basic microbiology**, v. 53, n.12, p.954-971, 2013.

Munõz-Rojas, J.; Caballero-Mellado, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. **Microbial Ecology**, v.46, p.454-464, 2003.

Muthukumarasamy, R.; Govindarajan, M.; Vadivelu, M.; Revathi, G. N-fertilizer saving by the inoculation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* sp. in micropropagated sugarcane plants. **Microbiological Research**, v.161, n.3, p.238-245, 2006.

Negreiros, J. R. S.; Braga, L. R.; Álvares, V. S.; Bruckner, C.H. Diferentes substratos na formação de mudas de mamoeiro do grupo solo. **Revista Brasileira Agrociência**, v.11, n.1, p.101-103, 2005.

Olivares, F. L. **Taxonomia, ecologia e mecanismos envolvidos na infecção e colonização de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. híbrido) por bactérias diazotróficas endofíticas do gênero *Herbaspirillum***. 328 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 1997.

Oliveira, A. D., Urquiaga, S., Döbereiner, J., & Baldani, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, n.2, 205-215, 2002.

Otto, R.; Franco, H. C. J.; Faroni, C. E.; Vitti, A. C.; Oliveira, E. C. A.; Sermarini, R. A.; Trivelin, P. C. O. The Role of Nitrogen Fertilizers in Sugarcane Root Biomass under Field Conditions. **Agricultural Sciences**, v.5, n.14, p.1527-1538, 2014.

Pereira, W.; Leite, J. M.; Hipólito, G. D. S.; dos Santos, C. L. R.; Reis, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n.2, p.363-370, 2013.

Pincelli, R. P.; Silva, M. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience Journal**, v.28, n.4, p.546-556, 2012.

Pisa, G.; Magnani, G. S.; Weber, H.; Souza, E. M.; Faoro, H.; Monteiro, R. A.; ...; Cruz, L. M. Diversity of 16S rRNA genes from bacteria of sugarcane rhizosphere soil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.44, n.12, p.1215-1221, 2011.

Schmidt, W.; Linke, B. Nutrients as regulators of root morphology and architecture. In: Pinton, R.; Varanini, Z.; Nannipieri, P. **The Rhizosphere: Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface**, 2<sup>nd</sup> Ed. Boca Raton, CRC Press, 2007. Cap. 5. p.135-150.

Schultz, N.; Silva, J. A. D.; Sousa, J. S.; Monteiro, R. C.; Oliveira, R. P.; Chaves, V. A.; ...; Reis, V. M. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38, n.2, p.407-414, 2014.

Silva, R. D.; Peixoto, J. R.; Junqueira, N. T. V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* DEG). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.377-381, 2001.

Smith, D. M.; Inman-Bamber, N. G.; Thorburn, P. J. Growth and function of the sugarcane root system. **Field Crops Research**, v.92, n.2, p.169-183, 2005.

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, n.2-3, p.155-162, 2005.

Vale, D. W. **Manejo da palha, adubação nitrogenada, potássica e uso de inoculante em soca de cana-de-açúcar**. 158 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo; Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2013.

Vasconcelos, A. C. M. Dinâmica do desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar. In: Dinardo-Miranda, L. L.; Vasconcelos, A. C. M. **Dinâmica do desenvolvimento radicular da cana-de-açúcar e implicações no controle de nematoides**. 2ª Ed., Campinas, Adonis, 2011. Cap. 1. p.10-43.

WinRhizo, 2004. **WinRHIZO Pro 2004a Software: Root Analysis**. Regent Instruments Inc., Quebec, Canada.

### CAPÍTULO 3 – EFEITO DA ADUBAÇÃO MOLÍBDICA E NITROGENADA NA INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL EM CANA-DE-AÇÚCAR

#### RESUMO

A manutenção da fertilidade em solos cultivados com cana-de-açúcar tem se tornado um desafio, devido a utilização de fertilizantes nitrogenados que podem causar danos ao ambiente. Uma maneira de reduzir a adubação nitrogenada é maximizar a sua eficiência, a qual pode ser aumentada em conjunto com a inoculação das bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) e o uso da adubação molíbdica. Entretanto, pouco se sabe em relação a essa atuação em conjunto. Por isso, o presente trabalho teve por objetivo verificar o comportamento dos genótipos RB036152 e RB867515 diante da aplicação isolada e em conjunto da adubação nitrogenada (NITR), molíbdica (MOL) e das bactérias promotoras do crescimento vegetal (BAC). O experimento foi instalado na Estação Experimental de Cana-de-açúcar em Paranaíba-PR, com os cortes e avaliação em cana planta e cana soca, no delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições, no esquema fatorial 2×8 (2 genótipos × 8 tratamentos), onde os tratamentos foram: controle (sem aplicação de tratamentos), nitrogênio (adubação 100 kg ha<sup>-1</sup> N) (NITR), bactérias (inoculação de uma mistura de cinco BPCV) (BAC), molibdênio (adubação 1 kg ha<sup>-1</sup> molibdato de sódio) (MOL), NITR+BAC+MOL, NITR+BAC, NITR+MOL, BAC+MOL. Foram avaliados os caracteres: massa de 1 colmo (kg) (M1C), número de colmos por metro, tonelada de cana por hectare (TCH), pol cana (PC) e tonelada de pol por hectare (TPH). Em cana planta o clone RB036152 apresentou as maiores produtividades. Em cana soca a RB867515 apresentou resultados superiores. Os tratamentos BAC, NITR, MOL e BAC+NITR foram os melhores tratamentos no clone. Em cana soca a cultivar apresentou maior M1C nos tratamentos NITR, NITR+BAC e BAC+MOL. Os tratamentos BAC e NITR aumentaram os teores de nutrientes nas folhas. RB036152 apresentou maiores teores de nutrientes nas folhas. Os tratamentos BAC e MOL são uma alternativa na utilização em conjunto com a adubação nitrogenada. O clone RB036152 se mostrou um clone promissor em trabalhos com BPCV.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., interação genótipos×microrganismos, molibdênio, nitrogênio.

## EFFECT OF MOLIBDENUM AND NITROGEN FERTILIZATION IN THE PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA INOCULATION IN SUGARCANE

### ABSTRACT

Keeping soil fertility cultivated with sugarcane has become a challenge, due the nitrogen fertilization utilization, which could cause environmental damages. One way to reduce nitrogen fertilization is to maximize its efficiency, where the plant growth promoting bacteria (PGPB) and molybdenum fertilization acting together to nitrogen fertilization, may increase that efficiency. Nevertheless, a few has been known about those technics and new tests are necessary. Thereat, the objective of this work was to verify the behavior of RB036152 and RB867515 genotypes with isolate and joint application of the nitrogen and molybdenum fertilization and the PGPB inoculation. The experiment was conducted in Experimental Sugarcane Station in Paranaíba-PR, with harvests and evaluation occurred in plant cane and ratoon. Randomized complete block design with four replications (factorial 2×8). The treatments were: Control (C), Nitrogen fertilization (100 kgN ha<sup>-1</sup>) (NITR), mix of five species of PGPB (*Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Burkholderia tropica*) (BAC), molybdenum fertilization (1 kg ha<sup>-1</sup> sodium molybdate) (MOL), NITR+BAC+MOL, NITR+BAC, NITR+MOL e BAC+MOL. It was evaluated one stalk mass (ISM), stalks m<sup>-1</sup>, tons of cane per hectare (TCH), pol cane (PC) and tons of pol per hectare (TPH), applying Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ). The cane plant harvest showed best yields to the clone RB036152, whereas in ratoon RB867515 was better. The treatments BAC, NITR, MOL and BAC+NITR were superior in the clone. In the ratoon cultivar presented better ISM in the treatments NITR, NITR+BAC and BAC+MOL. The treatments BAC and NITR increased nutrient foliar contents. The BAC and MOL treatments are alternative in the joint utilization with nitrogen fertilization. The clone RB036152 showed a promisor clone to PGPB's works.

Key words: *Saccharum* spp., genotype×microorganisms' interaction, molybdenum, nitrogen.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A produtividade de cana-de-açúcar depende de um manejo adequado da cultura, incluindo uma adubação adequada de plantio e nas soqueiras, podendo aumentar a produtividade nos canaviais. Dentre os adubos utilizados na cultura, um dos principais é a adubação nitrogenada, principalmente com a ureia, contendo 45% de nitrogênio (N) e o sulfato de amônio, contendo aproximadamente 21% de N (Weber et al., 2001; Kingston, 2014; Joris 2015).

O nitrogênio é um elemento de extrema importância para o metabolismo da cana-de-açúcar, envolvido em processos bioquímicos que afetam a produtividade, sendo constituinte obrigatório dos ácidos nucleicos, da molécula de clorofila e das proteínas (Rossetto et al., 2008).

Dentre os processos metabólicos mais importantes, encontra-se a fotossíntese, onde o N aumenta a eficiência enzimática da RuBisco, enzima ligada a fixação do carbono na fase química da fotossíntese, que em condições ótimas pode elevar a produtividade da cultura. O N está envolvido em grande parte do metabolismo que envolve a bioquímica da planta (Taiz e Zeiger, 2006; Vitti et al., 2008; Sage et al., 2014).

A utilização do N via adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, tem sido uma estratégia com grande utilização principalmente nas soqueiras, pois a necessidade pelo nitrogênio aumenta ao longo dos sucessivos cortes. Em cana planta são poucos os trabalhos que apresentam resultados positivos quanto a adubação nitrogenada, uma vez que o nitrogênio contido no solo antes do plantio pode ser suficiente para a manutenção e desenvolvimento da cana-de-açúcar (Weber et al., 2001; Vitti et al., 2008).

Para complementar a adubação nitrogenada, estudos indicam uma melhoria na eficiência do uso do N pelas plantas em consequência da adequação das doses de N, aliada a associação com outros fertilizantes (Urquiaga et al., 1992; Schultz et al., 2010). Oliveira (2012) demonstrou ganhos de produtividade em cana-de-açúcar com a adubação nitrogenada juntamente com a adubação molibídica. O molibdênio (Mo) aumenta a eficiência no uso do N, aplicado geralmente pela pulverização do Molibdato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ), incrementando a produtividade em cana-de-açúcar, porém a falta do Mo pode limitar a produtividade, o qual se encontra em baixa concentração em solos mais ácidos e arenosos (Urquiaga et al., 1992; Vitti et al., 2005b; Oliveira, 2012).

O Mo é um cofator das enzimas nitrato redutase (NR), presente nas plantas, e nitrogenase (NIT), presente em bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), ambas

enzimas ligadas ao complexo de fixação do nitrogênio. Na NR o Mo auxilia na conversão de nitrato em nitrito, e na ausência de Mo, o suprimento de N para as plantas pode ficar comprometido. Na NIT o Mo é parte da proteína ferro-molibdênio, que reduz o N<sub>2</sub> atmosférico em NH<sub>3</sub> disponível para as plantas, o que tem justificado a utilização do Mo em conjunto com a aplicação de BPCV (Moreira e Siqueira, 2006).

Essas BPCV são conhecidas pela habilidade na fixação biológica do nitrogênio (FBN), embora, outros benefícios às plantas também são conhecidos, como a produção de reguladores de crescimento, incluindo auxinas, giberelinas e citocininas (Moreira e Siqueira, 2006; Hungria, 2011; Ahemad e Kibret, 2014; Ohyama et al., 2014). Esses reguladores atuam na promoção do crescimento de plantas, aumentando a área de absorção das raízes, influenciando no tamanho e na maturação dos colmos, alterando o teor de sacarose, afetando diretamente na produção e produtividade da cana-de-açúcar (Taiz e Zeiger, 2006; Lopes, 2013; Botha et al., 2014).

Na cana-de-açúcar a tecnologia de aplicação e desenvolvimento de inoculantes a base de BPCV vem crescendo a cada ano. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), desenvolveu com base no trabalho de Oliveira et al. (2002) uma mistura com cinco bactérias que possuem a habilidade de FBN, além de promover a produção de reguladores vegetais, que visam aumentar o crescimento em plantas de cana-de-açúcar.

Recentemente, Schultz et al. (2012) e Silva et al. (2012), obtiveram respostas positivas nos genótipos RB72454 e RB867515, com a utilização dessa mistura, que contém as bactérias *Azospirillum amazonense*, *Burkholderia tropica*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans*.

Entretanto, o que tem sido observado pela comunidade científica é que os diversos genótipos de cana-de-açúcar podem ter comportamentos diferentes para os tratamentos envolvendo a adubação nitrogenada, molibdica e com BPCV, uma vez que a necessidade nutricional de cada genótipo é diferente para produzir a mesma quantidade de colmos, além da interação com os microrganismos variar em diferentes ambientes e genótipos (Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado, 2003; Oliveira, 2012; Lopes, 2013; Schmidt et al., 2015).

A adubação convencional em cana-de-açúcar tem sido quase que prioritariamente a base de fertilizantes nitrogenados aplicados isoladamente ou misturados com outros fertilizantes sintéticos (Vitti et al., 2008). A utilização das BPCV e do Mo, em conjunto ou em detrimento da aplicação de adubos nitrogenados, pode ser um meio de facilitar a produção mais sustentável em cana-de-açúcar (Oliveira, 2012; Oliver, 2014; Joris, 2015), reduzindo o

excesso de nitrogênio aplicado, que quando alcançam cursos d'água e em excesso no solo podem causar a poluição do ambiente (Paul e Clark, 1989; Vitti et al., 2005a).

Visando contribuir com estudos que buscam alternativas ao uso de adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, o objetivo deste trabalho foi verificar o comportamento dos genótipos RB036152 e RB867515 diante da aplicação isolada e em conjunto da adubação nitrogenada, molibídica e das bactérias promotoras do crescimento vegetal.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, no município de Paranavaí-PR. As coordenadas da Estação são: 23°05' de latitude Sul e 52°26' de longitude Oeste, e altitude média de 470 m. O solo é do tipo Latossolo Vermelho Distrófico, com relevo suave ondulado.

A instalação do experimento e o plantio ocorreu em Setembro de 2013, e foram utilizados a cultivar RB867515 e o clone promissor RB036152 de cana-de-açúcar com 10 meses de idade, os quais foram seccionados em toletes (rebolos) de 3 gemas, que foram dispostos nos sulcos com uma densidade de 18 gemas por metro. O espaçamento utilizado no experimento entre sulcos foi de 1,4 m, onde os sulcos possuíam a extensão de 5 m. A colheita foi realizada manualmente aos 12 meses após o plantio em cana planta e 12 meses após o primeiro corte em cana soca.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso no esquema fatorial 8×2 (8 tratamentos e 2 genótipos de cana-de-açúcar), com quatro repetições, onde a unidade experimental foi representada por 3 sulcos. No plantio antes da disposição dos toletes e após o primeiro corte (soca), com abertura de sulco na entrelinha, o solo foi umedecido com água. Foi realizada a adubação de 100 kg ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 60 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O<sup>5</sup> e a aplicação de 14 Mg ha<sup>-1</sup> de torta de filtro, em seguida foram aplicados os tratamentos, apresentados a seguir:

1. Controle (C) – Sem aplicação de nitrogênio (NITR), molibdênio (MOL) ou bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV);
2. Nitrogênio (NITR) – Adubação no sulco de plantio anterior ao plantio dos toletes com 100 kg ha<sup>-1</sup> N, juntamente com a adubação de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, e após o primeiro corte no sulco da entrelinha;
3. Molibdênio (MOL) – Adubação realizada no sulco de plantio sobre os toletes e após o primeiro corte no sulco da entrelinha, com a pulverização via costal da solução de molibdato de sódio (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>). Aplicação de 1 kg ha<sup>-1</sup> (Urquiaga et al., 1998) para um volume de calda de 250 L ha<sup>-1</sup>;
4. Bactérias (BAC) – Inoculação no sulco de plantio sobre os toletes e após o primeiro corte no sulco da entrelinha, com pulverização via costal da mistura de bactérias *A. amazonense* (CBAmC), *G. diazotrophicus* (PAL5), *B. tropica* (Ppe8), *H. seropedicae*

---

<sup>5</sup> Fonte de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) – superfosfato simples; fonte de nitrogênio (N) – ureia; fonte de potássio (K<sub>2</sub>O) – cloreto de potássio.

(HRC54) e *H. rubrisubalbicans* (HCc103)<sup>6</sup>. Solução preparada com a mistura na proporção de 1:100 (v/v) em água para 250 L ha<sup>-1</sup>;

5. NITR+BAC+MOL – Aplicação conjunta dos tratamentos NITR, BAC e MOL;
6. NITR+BAC – Aplicação conjunta dos tratamentos NITR e BAC;
7. NITR+MOL – Aplicação conjunta dos tratamentos NITR e MOL;
8. BAC+MOL – Aplicação conjunta dos tratamentos BAC e MOL.

A avaliação ocorreu em cana planta após 12 meses do plantio, e em cana soca 12 meses após o primeiro corte. Foram avaliados o número de colmos por metro (NCM) (3), a massa de um colmo (M1C) em quilogramas (kg), definida pela pesagem de toda a parcela, e então calculada de acordo com a fórmula: 
$$\left( \frac{\text{massa total de colmos na parcela (kg)}}{\text{n}^\circ \text{ de colmos na parcela}} \right), \quad (6)$$
 o pol cana (PC) (Fernandes, 2003)<sup>7</sup>, tonelada de cana por hectare (TCH) (1) e tonelada de pol por hectare (TPH) (2).

Aos 4 meses após o início da brotação em cana soca, foram coletadas 30 folhas +3 aleatórias em cada parcela. Após, as amostras foram preparadas utilizando os 20 cm centrais (terço médio), lavando-as com água destilada e secando-as com papel toalha excluindo-se a nervura central. As amostras foram levadas para estufa de circulação forçada de ar até que atingisse massa constante. As análises foliares foram realizadas no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante, do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa, de acordo com metodologia de Bataglia et al. (1983). Os macronutrientes analisados foram: cálcio (Ca), enxofre (S), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg) e nitrogênio (N). Os micronutrientes analisados foram: boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn).

A análise dos dados foi realizada com o programa estatístico Sisvar v.5.0 (Ferreira, 2011), e consistiu em uma análise de variância (Teste F) para os caracteres NCM, M1C, PC, TCH e TPH, seguido de um teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>6</sup> Inoculante cedido pela empresa Novozymes®, preparado exclusivamente para a realização deste trabalho.

<sup>7</sup> Análise realizada pela usina Coopcana em São Carlos do Ivaí – PR.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 11 é possível identificar que houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos (G) para os caracteres número de colmos por metro (NCM) em cana planta, massa de um colmo (M1C) em cana soca, e tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e tonelada de pol por hectare (TPH) nos estádios de cana planta e cana soca. Para os tratamentos (T) houve diferença significativa a 5% de probabilidade nos dois estádios em NCM, e para M1C em cana planta. A interação entre genótipo×tratamento (G×T), foi significativa para NCM e TCH em cana planta e M1C em cana soca.

Tabela 11 – Quadrado Médio dos caracteres: Número de colmos por metro (NCM), Massa de 1 colmo (kg) (M1C), Tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e Tonelada de pol por hectare (TPH), em cana planta e cana soca.

| FV            | GL | Quadrado Médio |              |                |              |              |              |              |                |              |              |
|---------------|----|----------------|--------------|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------|--------------|--------------|
|               |    | Cana planta    |              |                |              |              | Cana Soca    |              |                |              |              |
|               |    | NCM            | M1C          | TCH            | PC           | TPH          | NCM          | M1C          | TCH            | PC           | TPH          |
| <b>Bloco</b>  | 3  | 3,70           | 0,01         | 362,95         | 0,89         | 12,8         | 1,36         | 0,11         | 727,81         | 0,08         | 14,29        |
| <b>G</b>      | 1  | 15,01<br>**    | 0,00<br>n.s. | 1473,6<br>**   | 2,73<br>**   | 15,2<br>*    | 1,28<br>n.s. | 0,28<br>**   | 1860,1<br>**   | 15,9<br>***  | 106,4<br>**  |
| <b>T</b>      | 7  | 3,85<br>**     | 0,07<br>**   | 253,34<br>n.s. | 0,16<br>n.s. | 5,87<br>n.s. | 1,70<br>*    | 0,05<br>n.s. | 355,79<br>n.s. | 0,24<br>n.s. | 6,62<br>n.s. |
| <b>G × T</b>  | 7  | 1,87<br>*      | 0,02<br>n.s. | 319,05<br>*    | 0,29<br>n.s. | 6,03<br>n.s. | 0,49<br>n.s. | 0,07<br>*    | 306,81<br>n.s. | 0,52<br>n.s. | 5,61<br>n.s. |
| <b>erro</b>   | 45 | 0,85           | 0,01         | 139,26         | 0,30         | 3,21         | 0,67         | 0,03         | 255,85         | 0,22         | 4,70         |
| <b>CV (%)</b> |    | <b>9,59</b>    | <b>8,03</b>  | <b>12,07</b>   | <b>3,90</b>  | <b>13,04</b> | <b>10,60</b> | <b>11,44</b> | <b>17,38</b>   | <b>3,08</b>  | <b>15,98</b> |

\* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%; n.s. não significativo pelo teste F

FV Fontes de variação; GL Graus de Liberdade; CV(%) Coeficiente de variação

Quanto aos caracteres avaliados pelo teste F, o genótipo RB036152 foi superior em NCM, TCH e TPH e a cultivar RB867515 foi superior em PC no estádio de cana planta. Na cana soca a cultivar RB867515 foi superior para os caracteres M1C, TCH, PC e TPH (Tabela 12). Esses genótipos possuem grande semelhança genética, com alta produtividade e boa concentração de sacarose nos colmos. O genótipo RB036152 é um clone oriundo do cruzamento das cultivares SP83-5073×RB867515, apresentando maior precocidade que os seus genitores (RIDESA, 2010; Oliveira e Daros, 2014; Maranhão et al., 2014).

No primeiro ciclo o caracter NCM apresentou média maior para o clone RB036152 (Tabela 12), o qual possui crescimento inicial rápido, o que pode ter colaborado para o seu maior desenvolvimento que a cultivar RB867515 em cana planta. O maior desenvolvimento

do clone RB036152 em ambientes mais restritivos comparado com a cultivar RB867515, condições encontradas no presente estudo, também fora observado anteriormente em dados médios de experimentação (Oliveira e Daros, 2014).

No ciclo de cana soca os genótipos não apresentaram diferença significativa para o NCM. A M1C influenciou para a maior produtividade da RB867515 em cana soca, provavelmente, devido ao maior estabelecimento da cultura no sistema. O residual deixado pelo corte anterior, somado a adubação realizada na soca, pode ter sido melhor aproveitado pela cultivar. Os tratamentos com nitrogênio (NITR), NITR e bactérias promotoras do crescimento (BAC) (NITR+BAC) e BAC com molibdênio (MOL) (BAC+MOL), apresentaram resultados superiores estatisticamente na cultivar em comparação com o clone para M1C (Tabela 12; Tabela 13).

Zhao et al. (2014) demonstraram que os genótipos de cana-de-açúcar diferem na eficiência no uso do nitrogênio (EUN), ou seja, para produzir determinada massa de colmos os genótipos diferem entre si no consumo necessário de nitrogênio. Hajari et al. (2015) estudando quatro cultivares *in vitro*, observaram que cada cultivar assimila quantidades diferentes de nitrogênio e da mesma maneira essas quantidades podem ou não refletir no aumento da biomassa de cana-de-açúcar.

O aumento na M1C da RB867515 pode ter relação com o que foi explanado por Muñoz-Rojas e Caballero-Mellado (2003), que identificaram que alguns genótipos possuem maior afinidade com certas estirpes de BPCV, e essas podem auxiliar no desenvolvimento vegetal. O genótipo é um dos principais fatores na resposta positiva ou negativa à inoculação (Leal, 2011). Outros estudos como de Lopes (2013) e Figueiredo et al. (2013) possibilitaram a identificação de famílias de cana-de-açúcar com desempenhos diferentes na presença de BPCV.

Com a cultivar RB867515, Schultz et al. (2012) obtiveram maior acúmulo de matéria seca no tratamento inoculado com a mistura de bactérias, assim como Gírio et al. (2015), que também encontraram um maior desenvolvimento do sistema radicular. Esse maior desenvolvimento do sistema radicular, associado à produção de reguladores vegetais pelas BPCV, bem como as auxinas, pode promover o acúmulo de reserva nos colmos pela maior capacidade de extração de nutrientes do solo (Fuentes-Ramirez et al., 1993; Moreira e Siqueira, 2006; Taiz e Zeiger, 2006).

Tabela 12 – Teste de comparação de médias dos caracteres: Número de colmos por metro (NCM), Massa de 1 colmo (kg) (M1C), Tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC) e Tonelada de pol por hectare (TPH). Tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos: RB867515 e RB036152.

| Genótipos           | Cana planta |        |          |         |         | Cana soca |        |         |         |         |
|---------------------|-------------|--------|----------|---------|---------|-----------|--------|---------|---------|---------|
|                     | NCM         | M1C    | TCH      | PC      | TPH     | NCM       | M1C    | TCH     | PC      | TPH     |
| <b>RB036152</b>     | 10,13A      | 1,43   | 102,57 A | 13,85 B | 14,23 A | 7,60      | 1,49 B | 81,06 B | 14,93 B | 12,27 B |
| <b>RB867515</b>     | 9,16 B      | 1,43   | 92,98 B  | 14,26 A | 13,26 B | 7,88      | 1,62 A | 91,85 A | 15,92 A | 14,86 A |
| <b>Tratamentos</b>  |             |        |          |         |         |           |        |         |         |         |
| <b>C</b>            | 10,75 A     | 1,09 B | 91,87    | 14,16   | 13,02   | 8,09 A    | 1,49   | 86,04   | 15,54   | 13,15   |
| <b>BAC</b>          | 9,92 ABC    | 1,21 A | 104,30   | 14,18   | 14,80   | 8,33 A    | 1,61   | 95,37   | 15,38   | 15,27   |
| <b>MOL</b>          | 10,15 AB    | 1,20 A | 103,37   | 14,29   | 14,78   | 7,75 A    | 1,46   | 81,29   | 15,52   | 13,19   |
| <b>NITR</b>         | 10,02 ABC   | 1,20 A | 103,87   | 13,92   | 14,48   | 8,28 A    | 1,61   | 95,54   | 15,04   | 14,19   |
| <b>NITR+BAC+MOL</b> | 9,07 BC     | 1,21 A | 95,61    | 14,07   | 13,42   | 7,24 B    | 1,63   | 84,42   | 15,48   | 13,17   |
| <b>NITR+MOL</b>     | 9,17 BC     | 1,22 A | 96,73    | 13,92   | 13,47   | 7,27 B    | 1,68   | 87,34   | 15,58   | 13,92   |
| <b>NITR+BAC</b>     | 8,60 C      | 1,21 A | 89,44    | 13,99   | 12,47   | 7,74 A    | 1,55   | 86,03   | 15,50   | 13,47   |
| <b>BAC+MOL</b>      | 9,47 ABC    | 1,20 A | 97,02    | 13,91   | 13,49   | 7,23 B    | 1,45   | 75,63   | 15,37   | 12,19   |
| <b>Média Geral</b>  | 9,64        | 1,19   | 97,77    | 14,05   | 13,74   | 7,74      | 1,56   | 86,46   | 15,42   | 13,57   |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si estatisticamente a 5% de probabilidade no teste de Tukey.

Tabela 13 - Interação Genótipos × Tratamentos dos caracteres número de colmos por metro (NCM), Tonelada de colmo por hectare (TCH) em cana planta e Massa de 1 colmo (kg) (M1C) em cana soca. Tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos: RB867515 e RB036152.

| Tratamentos         | NCM      |          | TCH       |            | M1C      |          |
|---------------------|----------|----------|-----------|------------|----------|----------|
|                     | RB036152 | RB867515 | RB036152  | RB867515   | RB036152 | RB867515 |
| <b>C</b>            | 11,25 Aa | 10,25 Aa | 95,51 Aa  | 88,23 ABCa | 1,44 a   | 1,53 a   |
| <b>BAC</b>          | 9,95 Aa  | 9,90 Aa  | 110,27 Aa | 98,33 ABCa | 1,70 a   | 1,52 a   |
| <b>MOL</b>          | 10,50 Aa | 9,80 Aa  | 103,46 Aa | 103,27 ABa | 1,39 a   | 1,52 a   |
| <b>NITR</b>         | 9,80 Aa  | 10,25 Aa | 99,13 Aa  | 108,62 Aa  | 1,43 b   | 1,79 a   |
| <b>NITR+BAC+MOL</b> | 9,95 Aa  | 8,20 ABb | 109,32 Aa | 81,91 BCb  | 1,66 a   | 1,60 a   |
| <b>NITR+MOL</b>     | 9,70 Aa  | 8,65 ABa | 102,47 Aa | 91,00 ABCa | 1,60 a   | 1,73 a   |
| <b>NITR+BAC</b>     | 9,95 Aa  | 7,25 Bb  | 102,50 Aa | 76,38 Cb   | 1,41 b   | 1,70 a   |
| <b>BAC+MOL</b>      | 9,95 Aa  | 9,00 ABa | 97,96 Aa  | 96,09 ABCa | 1,29 b   | 1,60 a   |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si estatisticamente a 5% de probabilidade no teste de Tukey.

Ganhos no desenvolvimento e em produtividade da cana-de-açúcar quando realizada a inoculação com as BPCV são mais frequentes no sistema em cana crua, o mesmo utilizado no presente estudo. Em cana crua são mantidos os microrganismos benéficos no sistema solo-planta. O sistema com a queima da cana poderia eliminar grande parte dos microrganismos. (Reis et al., 2007 ; Leal, 2011; Lopes, 2013; Moraes et al., 2011; Schultz et al., 2012; Gírio et al., 2015).

Os tratamentos diferiram estatisticamente para o caracter NCM nos dois estádios e em MIC em cana planta. Em cana planta o tratamento controle (C) foi superior para NCM, seguido dos tratamentos MOL, NITR e BAC, onde o tratamento com os menores valores foi NITR+BAC (Tabela 12).

A fertilização nitrogenada reduz a atividade microbiana na rizosfera da cana-de-açúcar, alterando o balanço nutricional do solo, que de acordo com trabalho de Yeoh et al. (2015) bactérias nitrificadoras e desnitrificadoras aumentam suas populações em relação às BPCV. Tal fato conduz ao beneficiamento muitas vezes da promoção da atividade e do aumento populacional da microbiota patogênica, assim como demonstrado por Paungfoo-Lonhienne et al. (2015), em um estudo com adubos nitrogenados e comunidades de fungos em solos cultivados com a cana-de-açúcar.

Embora, algumas bactérias sobrevivam a condições de maior suprimento do nitrogênio oriundo da adubação, como relatado com a *H. rubrisubalbicans* (Olivares et al., 1996<sup>8</sup> citado por Fuentes-Ramirez et al., 1999), bactérias de grande importância para a cultura da cana-de-açúcar, como a *G. diazotrophicus*, apresentam dificuldades em colonizar e multiplicar-se em solos com altas concentrações de nitrogênio (Fuentes-Ramirez et al., 1999).

O tratamento C foi inferior aos demais para o caracter MIC, onde houve efetividade dos outros tratamentos nos dois genótipos. Em NCM no estádio de cana soca, os tratamentos onde o MOL esteve presente em conjunto com NITR ou BAC foi inferior aos demais, dentre os quais encontram-se os tratamentos NITR+BAC+MOL, NITR+MOL e BAC+MOL (Tabela 12).

As chuvas ocorridas acima da média para o ano de 2015, podem ter influenciado na redução do molibdênio (Mo) no solo fornecido pela adubação molíbdica no tratamento MOL, o qual foi aplicado logo após o corte em cana planta (Conab, 2015).

---

<sup>8</sup> Olivares, F.L., Baldani, V.L.D., Reis, V.M., Baldani, J.I. and Döbereiner, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. **Biol. Fertil. Soils**, v.21, p.197-200, 1996.

Nos tratamentos que foram somados a adubação nitrogenada com a molíbdica, também levanta-se a hipótese que pela adição do nitrogênio (fertilizante ureia) pode ter reduzido o pH do solo, fator importante para a não disponibilizar o Mo às plantas. O aumento do pH do solo acima de 5,5, por sua vez, possibilita a dessorção do molibdato ( $\text{MoO}_4^{-2}$ ), forma iônica presente no solo do Mo, que então é melhor disponibilizado às plantas (Mengel e Kirkby, 2001; Raij, 2011).

Na Tabela 13 que demonstra a interação genótipo×tratamento, em NCM e TCH o clone RB036152 foi superior nos tratamentos NITR+BAC+MOL e NITR+BAC. Esses resultados demonstram que os genótipos podem ter respostas diferentes para cada tratamento aplicado, refletindo uma maior especificidade dos genótipos a necessidade de determinado nutriente. Para Oliveira (2012) a adubação molíbdica foi mais efetiva em cana planta, contribuindo com ganhos de produtividade na cultivar RB92579.

Oliver (2014) verificou maiores produtividades na associação das BPCV com a adubação nitrogenada. Em desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, no trabalho de Girio et al. (2015) a associação da adubação nitrogenada na ordem de  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N com a inoculação da mistura de BPCV, promoveu o desenvolvimento da cultivar RB867515. Por outro lado, Muthukumarasamy et al. (1999) atribuíram a fertilização nitrogenada em grandes quantidades como uma causa para a redução na população de BPCV em cultivares da Índia.

O Mo é um cofator enzimático das enzimas nitrogenase (NIT) e nitrato redutase (NR), ligadas a assimilação de nitrogênio para a planta, seja com a NIT pela via da fixação biológica do nitrogênio em BPCV, ou da NR primeira enzima assimilatória do nitrogênio em plantas, pela conversão de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) (Moreira e Siqueira, 2006). Por isso, era esperado que em tratamentos com inoculantes a base de BPCV e/ou com fonte nitrogenada, houvesse uma resposta maior com o acréscimo do Mo, aumentando a assimilação do nitrogênio, resultando em melhores produtividades ao final do ciclo, assim como os resultados evidenciados por Oliveira (2012).

O Mo pode aumentar a ocorrência do gênero *Azospirillum* em solos (Miranda et al., 1985) e também é utilizado como uma alternativa na manutenção da viabilidade de inoculantes a base de *H. seropedicae* e *Burkholderia* sp. (Guimarães et al., 2013).

Na média geral, os tratamentos em cana planta obtiveram maiores resultados que em cana soca para TCH (Tabela 12). Os resultados corroboram com o que era esperado no ciclo de cana planta, visto que a produtividade decresce ao longo dos cortes, como pode ser visto em Daros et al. (2015), nas diferentes cultivares de cana-de-açúcar.

O efeito das intempéries climáticas pode ter influenciado nos resultados obtidos (Tabela 12). Em cana planta, houve uma estiagem entre os meses de dezembro de 2013 e janeiro de 2014, comprometendo o desenvolvimento vegetativo da cana-de-açúcar, afetando diretamente a produtividade final da cultura. Um dos fatores que não permitiu uma perda mais acentuada na produtividade em cana planta foi a redução das chuvas de agosto a outubro de 2014, contribuindo para uma colheita adequada. Em cana soca, assim como em cana planta, houve um período semelhante de estiagem no início do ciclo da cultura, no entanto, com uma recuperação nos meses seguintes, com regime adequado de chuvas. A produtividade poderia ter sido melhor caso as chuvas não tivessem se intensificado nos meses de agosto a outubro de 2015<sup>9</sup> (Conab, 2014; 2015).

Franco (2008) observou que para doses crescentes de nitrogênio em relação à testemunha, a variação do ambiente pode afetar nos resultados. Nesse trabalho em um ambiente a resposta foi positiva para a aplicação do nitrogênio, enquanto que em outro local não causou um efeito benéfico ao desenvolvimento da cultura.

O trabalho de Yeoh et al. (2015) identifica a interação entre ambiente (tipo e local do solo), genótipos e a fertilização nitrogenada afetando a comunidade de microrganismos em canaviais da Austrália. A interação genótipo×bactéria×ambiente é evidenciada com a cultivar RB72454, responsiva para inoculação no trabalho de Silva et al. (2012) e não responsiva para Schultz et al. (2012).

A aplicação do NITR em cana soca foi viável para o aumento do NCM (Tabela 12), uma vez que em cana-de-açúcar os efeitos positivos da adubação nitrogenada ocorrem em sua maioria nas socarias. A adubação nas socas auxiliam na manutenção na longevidade do canavial, além de complementar o residual oriundo de cana planta (Penatti et al., 1997; Weber et al., 2001).

Na soca a cana-de-açúcar necessita em maior quantidade do nitrogênio que foi consumido em grande parte no ciclo de cana planta. Outro fato é que a cultura está mais estabelecida e suas raízes atingindo uma maior extensão de solo, podem obter maior aproveitamento da adubação. Em cana planta, por sua vez, a adubação nitrogenada pode não promover o desenvolvimento desejado nas plantas, o que é atribuído ao residual do nitrogênio referente ao plantio anterior e a utilização da matéria orgânica do solo. As plantas podem ainda se utilizar das reservas nutricionais do tolete plantado, bem como do nitrogênio por um período de até 6 meses após o plantio (Carneiro et al., 1995; Vitti et al., 2005a; Weber et al., 2001).

---

<sup>9</sup> Anexo 2

Prado e Pancelli (2008) encontraram produtividades maiores dos tratamentos com doses crescentes de nitrogênio até 200 kg ha<sup>-1</sup> para segunda soqueira, em sistema sem queima (cana crua). Schultz et al. (2010) atribuem ao sistema de cana crua, o mesmo utilizado no presente trabalho, que a manutenção da palhada aliada ao efeito residual de cana planta, proporcionam uma melhora na produtividade em cana soca.

Com isso, a manutenção da palhada no solo após o primeiro corte, pode ter sido um dos fatores que também contribuiu para os bons resultados em cana soca, como dados simulados e apresentados por Costa et al. (2014), onde os autores afirmam que a palhada aliada a adubação nitrogenada contribui para boas produtividades em cana-de-açúcar.

Para Zhao et al. (2014) o aumento nas doses de nitrogênio refletem no aumento da estatura dos colmos e no aumento do perfilhamento, portanto podendo resultar em um maior NCM ao final do ciclo. Nos tratamentos com maiores doses de nitrogênio, Prado e Pancelli (2008) encontraram NCM maiores que a testemunha em segunda soqueira, corroborando com o resultado do presente trabalho. De acordo com o trabalho de Megda et al. (2012) a aplicação de adubos de origem nitrogenada possibilitam maiores ganhos de TCH, influenciado pelo aumento do perfilhamento em fases iniciais, parâmetro importante para estabelecer o NCM.

Os tratamentos aplicados apresentaram diferenças quanto ao acúmulo de nutrientes nas folhas +3. Houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre os tratamentos no macronutriente K e no micronutriente Mn. Os genótipos apresentaram diferença estatística para o macronutriente P, e para os micronutrientes Fe e Mn. Não houve interação (Tabela 14).

Os genótipos apresentaram diferenças entre si quanto aos teores de P, Fe e Mn acumulados na folha +3. A cultivar RB867515 foi superior somente para P (Tabela 14). Conforme Kist et al. (2015) a ocorrência de diferentes concentrações de nutrientes na folha +3 é inerente a cada genótipo. Esses autores também encontraram valores superiores de P nas folhas da RB867515 em comparação com outras cultivares de cana-de-açúcar.

Segundo Oliveira et al. (2011) a cultivar RB867515 possui alta capacidade de ciclagem dos nutrientes do solo. Schultz et al. (2012) observaram na cultivar RB867515 maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea dos tratamentos inoculados e com a fertilização nitrogenada. De acordo com os resultados obtidos na Tabela 14 o clone RB036152 alocou maiores quantidades de Fe e Mn nas folhas, indicando que o clone é eficiente na ciclagem de nutrientes do solo.

Tabela 14 – Teores foliares de macro e micronutrientes na folha +3, 4 meses após o corte de cana planta em primeira soqueira. Tratamentos (T): Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL. Genótipos (G): RB867515 e RB036152.

| Tratamentos         | N                   | P                   | K                   | Ca                  | Mg                  | S                   | Cu                  | Fe                   | Zn                  | Mn                     | B                   |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
|                     | g kg <sup>-1</sup>  |                     |                     |                     |                     |                     | mg kg <sup>-1</sup> |                      |                     |                        |                     |
| <b>C</b>            | 14,98               | 2,05                | 10,00 B             | 4,82                | 2,57                | 1,87                | 4,38                | 64,28                | 16,82               | 62,39 B                | 9,39                |
| <b>NITR</b>         | 15,72               | 2,11                | 11,58 A             | 4,29                | 2,47                | 1,79                | 4,62                | 67,64                | 16,32               | 77,22 A                | 11,12               |
| <b>BAC</b>          | 15,27               | 2,20                | 10,65 B             | 4,60                | 2,41                | 1,90                | 4,92                | 62,64                | 16,07               | 69,71 B                | 11,62               |
| <b>MOL</b>          | 15,25               | 2,12                | 10,31 B             | 4,97                | 2,60                | 1,90                | 4,73                | 63,09                | 17,08               | 69,29 B                | 11,33               |
| <b>NITR+BAC+MOL</b> | 14,85               | 2,14                | 10,60 B             | 4,51                | 2,66                | 1,79                | 4,56                | 66,17                | 16,50               | 74,10 A                | 12,04               |
| <b>NITR+BAC</b>     | 15,04               | 2,25                | 10,45 B             | 4,69                | 2,76                | 1,80                | 4,54                | 65,73                | 16,62               | 77,78 A                | 11,77               |
| <b>NITR+MOL</b>     | 14,90               | 2,17                | 10,40 B             | 4,51                | 2,59                | 1,76                | 4,54                | 66,02                | 16,47               | 83,59 A                | 11,83               |
| <b>BAC+MOL</b>      | 15,06               | 2,20                | 9,81 B              | 4,90                | 2,62                | 1,91                | 4,56                | 63,23                | 16,21               | 79,52 A                | 11,47               |
| <b>Genótipos</b>    |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                      |                     |                        |                     |
| <b>RB867515</b>     | 15,07               | 2,22 A              | 10,64               | 4,52                | 2,56                | 1,80                | 4,59                | 63,60 B              | 16,60               | 68,70 B                | 11,07               |
| <b>RB036152</b>     | 15,20               | 2,08 B              | 10,31               | 4,80                | 2,61                | 1,88                | 4,63                | 66,10 A              | 16,42               | 79,70 A                | 11,57               |
|                     | <b>Q.M.</b>         |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                      |                     |                        |                     |
| <b>G</b>            | 0,006 <sup>ns</sup> | 0,003 <sup>**</sup> | 0,016 <sup>ns</sup> | 0,012 <sup>ns</sup> | 0,004 <sup>ns</sup> | 0,001 <sup>ns</sup> | 0,024 <sup>ns</sup> | 99,875 <sup>*</sup>  | 0,517 <sup>ns</sup> | 1936,550 <sup>**</sup> | 4,040 <sup>ns</sup> |
| <b>T</b>            | 0,038 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,023 <sup>*</sup>  | 0,004 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,207 <sup>ns</sup> | 25,810 <sup>ns</sup> | 0,862 <sup>ns</sup> | 368,311 <sup>*</sup>   | 5,576 <sup>ns</sup> |
| <b>G × T</b>        | 0,017 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,003 <sup>ns</sup> | 0,003 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,000 <sup>ns</sup> | 0,259 <sup>ns</sup> | 20,172 <sup>ns</sup> | 0,907 <sup>ns</sup> | 263,103 <sup>ns</sup>  | 2,371 <sup>ns</sup> |
| <b>CV (%)</b>       | <b>11,81</b>        | <b>5,93</b>         | <b>9,80</b>         | <b>13,64</b>        | <b>12,71</b>        | <b>9,79</b>         | <b>12,23</b>        | <b>6,40</b>          | <b>6,42</b>         | <b>16,64</b>           | <b>16,07</b>        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si estatisticamente a 5% de probabilidade no teste de Tukey.

\* significativo a 5% e \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; **CV (%)** Coeficiente de variação

Não houve diferença significativa com a aplicação do MOL na concentração foliar de N (Tabela 14). Era esperado que houvesse diferença, uma vez que o MOL estimula a concentração de nitrogênio nas plantas (Oliveira, 2012).

Os teores de fósforo (P) nas folhas não diferiram entre os tratamentos (Tabela 14). Esses resultados concordam com os dados obtidos por Zambello Júnior et al. (1981)<sup>10</sup> citado por Espironelo et al. (1986), que assim como Espironelo et al. (1986) não obtiveram aumentos nos teores foliares de P.

O potássio (K) foi superior no tratamento NITR em comparação com os outros tratamentos (Tabela 14). Nesse tratamento, houve adubação tanto com N como K, favorecendo o maior acúmulo de K. Silveira e Crocomo (1991) indicam haver uma dependência entre o N e o K, afetando positivamente a fotossíntese e conseqüentemente a fitomassa de plantas de cana-de-açúcar. Tal fato pode ter contribuído para maior MIC na cultivar RB867515 em cana soca, assim como boas produtividades no tratamento NITR (Tabela 12).

Os tratamentos NIT+MOL, BAC+MOL, NIT+BAC, NITR e NITR+BAC+MOL, apresentaram os maiores valores, respectivamente, de acúmulo foliar para o elemento manganês (Mn) (Tabela 14), elemento essencial para a respiração celular (Mellis et al., 2008).

De acordo com a compilação de dados de outros autores como Orlando Filho e Campos (1975)<sup>11</sup>, Malavolta et al. (1997)<sup>12</sup>, Orlando Filho e Zambello Júnior (1977)<sup>13</sup>, Orlando Filho et al. (1980)<sup>14</sup>, citados por Reis Jr e Monnerat (2002), e os resultados obtidos por Reis Jr e Monnerat (2002) e Mendes (2006), as quantidades explicitadas na Tabela 14, correspondem em sua maioria a valores abaixo da adequada concentração de nutrientes na folha +3 de cana-de-açúcar em cana soca. O único elemento que se encontra próximo do esperado nos diferentes tratamentos e genótipos é o P. Conforme Rossetto et al. (2008) o excesso de P pode gerar deficiência de cobre (Cu), zinco (Zn) e ferro (Fe) no solo, porém não se pode confirmar no presente estudo se houve esse efeito.

<sup>10</sup> Zambello Júnior, E.; Haag, H.P.; Orlando Filho, J. Influência da época de amostragem foliar e do tipo de solo na diagnose foliar de soqueiras de cana-de-açúcar. **Saccharum-STAB**, v.13, p.23-30, 1981.

<sup>11</sup> Orlando Filho, J.; Campos, H. Número ideal de folhas para diagnose foliar em cana-de-açúcar (soqueira). **Brasil Açucareiro**, v. 85, p.23-29, 1975.

<sup>12</sup> Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas - princípios e aplicações**. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.

<sup>13</sup> Orlando Filho, J.; Zambello Júnior, E. Diagnose foliar de Cu, Fe, Mn e Zn em 16 variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) cultivados em diferentes grandes grupos de solos. **Brasil Açucareiro**, v. 90, p.28-37, 1977.

<sup>14</sup> Orlando Filho, J.; Zambello Júnior, E.; Haag, H.P. Absorção de Zn pela cana-de-açúcar, variedade CB 41-76, em três solos no Estado de São Paulo. **Brasil Açucareiro**, v. 96, p. 21-30, 1980.

### 3.4 CONCLUSÕES

Os genótipos tiveram comportamento diferente nos dois cortes e na resposta aos tratamentos aplicados. Em cana planta o clone RB036152 foi o mais produtivo e em cana soca a cultivar RB867515 foi superior.

No primeiro corte o clone RB036152 apresentou resultados superiores para TCH nos tratamentos adubação nitrogenada + mistura de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) + adubação molibídica (NITR+BAC+MOL) e NITR+BAC, indicando ser um clone promissor nos estudos com BPCV. Em cana soca a cultivar RB867515 apresentou maior acúmulo de massa nos colmos nos tratamentos NITR, NITR+BAC e BAC+MOL.

A inoculação com BPCV e a adubação molibídica, demonstram ser alternativas viáveis na utilização conjunta com a adubação nitrogenada em genótipos de cana-de-açúcar, sendo necessária a adequação ao manejo varietal, quanto à tecnologia de aplicação do molibdato de sódio e a inoculação de BPCV, bem como melhor época de aplicação.

### 3.5 REFERÊNCIAS

- Ahemad, M.; Kibret, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, v.26, n.1, p.1-20, 2014.
- Bezerra, P. C.; Santos, R. L.; Freire, F. J.; Mendes, R. L.; Demesio, R. C. A. Produção de biomassa aérea em variedades de cana-de-açúcar submetidas a doses de nitrogênio e molibdênio. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 8., 2013, Recife. **Anais...** Recife: JEPEX, 2013.
- Botha, F. C.; Lakshmanan P.; O'Connell, A.; Moore, P. H. Hormones and Growth Regulators. In: Moore, P. H.; Botha F. C. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**, 1<sup>st</sup> Ed. Oxford, West Sussex and Ames, Wiley Blackwell, 2014. Cap. 14. p.331-377.
- Carneiro, A. E. V.; Trivelin, P. C. O.; Victoria, R. L. Utilização da reserva orgânica e de nitrogênio do tolete de plantio (colmo-semente) no desenvolvimento da cana-planta. **Scientia Agricola**, v.52, n.2, 199-209, 1995.
- Chaves, V. A. **Desenvolvimento Inicial e Acúmulo de Nutrientes em Três Variedades de Cana-de-açúcar Inoculadas com Bactérias Diazotróficas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.
- Companhia Nacional De Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2014/15**. 1<sup>a</sup> Ed. Brasília: Conab, 2014. 25p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_04\\_15\\_15\\_44\\_37\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_1o\\_lev\\_-\\_14.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_15_15_44_37_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_14.pdf)>. Acesso em: 28 jun. 2015.
- Companhia Nacional De Abastecimento (Conab). **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: Safra 2015/16**. N. 2 – Segundo levantamento. 1<sup>a</sup> Ed. Brasília: Conab, 2015. 38p. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_12\\_17\\_12\\_15\\_58\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_2o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_12_17_12_15_58_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_15-16.pdf)>. Acesso em: 04 dez. 2015.
- Costa, L. G.; Marin, F. R.; Nassif, D. S.; Pinto, H. M.; Lopes-Assad, M. L. C. R. Simulação do efeito do manejo da palha e do nitrogênio na produtividade da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, p.469-474, 2014.
- Daros, E.; Oliveira, R. A.; Barbosa, G. V. S. **45 anos de variedades RB de cana-de-açúcar**. 1<sup>a</sup> Ed. Curitiba, Editora Graciosa, 2015.
- Espironelo, A.; Gallo, J. R.; Lavorenti, A.; Igue, T.; Hiroce, R. Efeitos da adubação NPK nos teores de macronutrientes das folhas de cana-de-açúcar (cana-soca). **Bragantia**, v.45, n.2, p.377-382, 1986.
- Fernandes, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. Piracicaba: STAB, 2003. 240p.

- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v.35, n. 6, p.1039-1042, 2011.
- Figueiredo, G. G. O.; Lopes, V. R.; Bessalho-Filho, J. C.; Daros, E. Efeito de substratos e bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação de sementes de cana-de-açúcar. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.4, p.447-454, 2013.
- Franco, H. C. J. **Eficiência agrônômica da adubação nitrogenada de cana-planta**. 128 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2008.
- Fuentes-Ramírez, L. E.; Caballero-Mellado, J.; Sepúlveda, J.; Martínez-Romero, E. Colonization of sugarcane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N-fertilization. **FEMS Microbiology Ecology**, v.29, n.2, p.117-128, 1999.
- Fuentes-Ramirez, L.; Jimenez-Salgado, T.; Abarca-Ocampo, I. R.; Caballero-Mellado, J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. **Plant and Soil**, v.154, n.2, p.145-150, 1993.
- Girio, L. A. S.; Dias, F. L. F.; Reis, V. M.; Urquiaga, S.; Schultz, N.; Bolonhezi, D.; Mutton, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.1, p.33-43, 2015.
- Guimarães, S. L.; Baldani, V. L. D.; Jacob-Neto, J. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. **Revista Ciência Agrônômica**, v.44, n.1, p.10-15, 2013.
- Hajari, E.; Snyman, J. S.; Watt, M. P. Nitrogen use efficiency of sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties under in vitro conditions with varied N supply. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.122, n.1, p.21-29, 2015.
- Hungria, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja, Londrina, 2011. 36p.
- Joris, H. A. W. **Nitrogênio na produção de cana-de-açúcar: aspectos agrônômicos e ambientais**. 134 f. Tese (Doutorado) - Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), Campinas, 2015.
- Kingston, G. Mineral Nutrition of Sugarcane. In: Moore, P. H.; Botha F. C. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**, 1<sup>st</sup> Ed. Oxford, West Sussex and Ames, Wiley Blackwell, 2014. Cap. 5. p.85-120.
- Kist, V.; Silveira, G.; Almeida Costa, P. M.; Oliveira, M. W.; Barbosa, M. H. P. Nutrient use efficiency in sugarcane cultivars. **Científica**, v.43, n.2, p.117-125, 2015.
- Leal, L. T. **Resposta de genótipos de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas no Rio Grande do Sul**. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Lopes, V. R. **Melhoramento genético de cana-de-açúcar em associação com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. 133 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Maranho, R. C.; Augusto, R.; Mangolin, C. A.; Machado, M. F. P. S. Use of differential levels of mean observed heterozygosity in microsatellite loci of commercial varieties of sugarcane (*Saccharum* spp). **Genetics and Molecular Research**, v.13, n.4, p.10130-10141, 2014.

Megda, M.X.V.; Trivelin, P.C.O.; Franco, H.C.J.; Otto, R.; Vitti, A.C. Eficiência agrônômica de adubos nitrogenados em soqueira de cana-de-açúcar colhida sem queima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.12, p.1681-1690, 2012.

Mellis, E. V. M.; Quaggio, J. A.; Cantarella, H. Micronutrientes. In: Dinardo-Miranda, L. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Campinas, Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), 2008. Cap. 15, p.331-336.

Mendes, L. C. **Eficiência nutricional de cultivares de cana-de-açúcar**. 46 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

Mengel, K.; Kirkby, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5<sup>th</sup> Ed. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2001.

Miranda, C. H. B.; Seiffert, N. F.; Döbereiner, J. Efeito de aplicação de molibdênio no número de *Azospirillum* e na produção de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.5, p.509-513, 1985.

Morais, L. K.; Silva, P. D. A.; Reis, V.; Aguiar, M. S.; Camara, T.; Marafon, A.; ...; Ramos, N. Evaluation of performance of sugarcane genotypes inoculated with endophytic diazotrophic bacteria. In: International Sugar Conference, 4., 2011. Nova Delhi. Balancing sugar and energy production in developing countries: sustainable technologies and marketing strategies. **Proceedings...** Nova Delhi: IAPSIT, 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/919145>>. Acesso em: 17 set. 2013.

Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª Ed., Lavras, Editora UFLA, 729p. 2006.

Munõz-Rojas, J.; Caballero-Mellado, J. Population dynamics of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane cultivars and its effect on plant growth. **Microbial Ecology**, v.46, p.454-464, 2003.

Muthukumarasamy, R.; Revathi, G.; Lakshminarasimhan, C. Influence of N fertilisation on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum* spp. from Indian sugarcane varieties. **Biology and Fertility of Soils**, v.29, n.2, p.157-164, 1999.

Ohyama, T.; Momose, A.; Ohtake, N.; Sueyoshi, K.; Sato, T.; Nakanishi, Y.; ...; Ando, S. Nitrogen Fixation in Sugarcane. Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation. In: Ohyama, T. **Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation**. 1<sup>st</sup> Ed. Rijeka, InTech, 2014. p.49-70.

- Oliveira, A. C. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. 97 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012.
- Oliveira, A. D., Urquiaga, S., Döbereiner, J., & Baldani, J. I. The effect of inoculating endophytic N<sub>2</sub>-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v.242, n.2, 205-215, 2002.
- Oliveira, A. L. M.; Canuto, E. L.; Urquiaga, S.; Reis, V. M.; Baldani, J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v.284, n.1-2, p.23-32, 2006.
- Oliveira, E. C. A.; Freire, F. J.; Oliveira, R. I.; Oliveira, A. C.; Freire, M. B. G. S. Acúmulo e alocação de nutrientes em cana-de-açúcar. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.3, p.579-588, 2011.
- Oliveira, R. A.; Daros, E. **Programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar da UFPR**. 1ª Ed., Curitiba, Editora Graciosa, 2014. 83p.
- Oliver, R. **Interação entre bactérias diazotróficas e doses de n-fertilizante na cultura da cana-de-açúcar**. 73 f. Mestrado (Dissertação) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.
- Paul, E. A.; Clark, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 1<sup>st</sup> Ed. California, Academic Press, 1989.
- Paungfoo-Lonhienne, C.; Yeoh, Y. K.; Kasinadhuni, N. R. P.; Lonhienne, T. G.; Robinson, N.; Hugenholtz, P.; ...; Schmidt, S. Nitrogen fertilizer dose alters fungal communities in sugarcane soil and rhizosphere. **Scientific reports**, v.5, 2015.
- Penatti, C. P.; Donzelli, J. L.; Forti, J. A. Doses de nitrogênio em cana-planta. **Seminário de tecnologia agronômica**, v.7, p.340-349, 1997.
- Prado, R. D. M.; Pancelli, M. A. Resposta de soqueiras de cana-de-açúcar à aplicação de nitrogênio em sistema de colheita sem queima. **Bragantia**, v.67, n.4, p.951-959, 2008.
- Raij, B. V. **Fertilidade do solo e manejo dos nutrientes**. 1st Ed. Piracicaba, International Plant Nutrition Institute, 2011.
- Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA). **Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Curitiba, Editores: Daros, E.; Oliveira, R. A.; Zambon, J. L. C.; Bessalho-Filho, J. C., 2010. 136p. Disponível em: <http://socicana.com.br/2.0/wp-content/uploads/2012-10-31-11-22-CatalogodeVariedadesRB.pdf>. Acesso em: 10 out. 2015.
- Reis, V.; Lee, S.; Kennedy, C. Biological nitrogen fixation in sugarcane. In: Elmerich, C.; Newton, W. E. **Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations**. Springer Netherlands, 2007. Cap. 10. p.213-232.
- Reis Jr, R. A.; Monnerat, P. H. Diagnose nutricional da cana-de-açúcar em Campos dos Goytacazes (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, n.2, p.367-372, 2002.

Rossetto, R. Fertilidade do solo, nutrição e adubação. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), 2008. Cap. 9, p.221-238.

Sage, R. F.; Peixoto, M. M.; Sage, T. L. Photosynthesis in Sugarcane. In: Moore, P. H.; Botha F. C. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**, 1<sup>st</sup> Ed. Oxford, West Sussex and Ames, Wiley Blackwell, 2014. Cap. 6. p.121-154.

Schmidt, S.; Lakshmanan, P.; Robinson, N.; Cox, M. **SaveN Cane: Developing selection tools for N-efficient sugarcane**. Completed projects final reports, Sugar Research Australia Ltd, 2015. Disponível em: <<http://elibrary.sugarresearch.com.au/handle/11079/14658>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

Schultz, N.; Lima, E.; Pereira, M. G.; Zonta, E. Efeito residual da adubação na cana-planta e da adubação nitrogenada e potássica na cana-soca colhidas com e sem a queima da palhada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, n.3, p.811-820, 2010.

Schultz, N.; Morais, R. D.; Silva, J. D.; Baptista, R. B.; Oliveira, R. P.; Leite, J. M.; Reis, V. M. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.2, p.261-268, 2012.

Silva, M. F.; Antônio, C. S.; Oliveira, P. J.; Xavier, G. R.; Rumjanek, N. G.; Soares, L. H. B.; Reis, V. M. Survival of endophytic bacteria in polymer-based inoculants and efficiency of their application to sugarcane. **Plant and soil**, v.356, n.1-2, p.231-243, 2012.

Silva, M. F.; Oliveira, P. J.; Xavier, G. R.; Rumjanek, N. G.; Reis, V. M. Inoculants containing polymers and endophytic bacteria for the sugarcane crop. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.11, p.1437-1443, 2009.

Silveira, J. A. G.; Crocomo, O. J. Efeitos de nitrogênio e potássio na utilização de nitrato e distribuição de carboidratos em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.6, p.247-257, 1991.

Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.

Urquiaga, S.; Cruz, K. H.; Boddey, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of America Journal**, v.56, n.1, p.105-114, 1992.

Vitti, A. C.; Cantarella, H.; Trivelin, P. C. O.; Rossetto, R. Nitrogênio. In: Dinardo-Miranda, I. L.; Vasconcelos, A. C. M.; Landell, M. G. A. (Org.). **Cana-de-açúcar**. 1ª Ed. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), 2008. Cap. 10, p.239-269.

Vitti, G. C.; Queiroz, F. E. C.; Otto, R.; Quintino, T. A. **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar**. Bebedouro, SP, [sn]. p.15-18, 2005a.

Vitti, G. C.; Queiroz, F. E. C.; Quintino, T. A. Micronutrientes na cana-de-açúcar: mitos e realidades. In: Simpósio de Tecnologia da Produção de Cana-de-açúcar, 1., 2005, Piracicaba.

**Anais...** Piracicaba: ESALQ, 2005b. Disponível em: <[http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/b2aaf15da221a95785256a6d006d7a23/770bfb5f9c6a3a49032570d800438ce4/\\$FILE/Anais%20Godofredo%20Cesar%20Vitti.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/b2aaf15da221a95785256a6d006d7a23/770bfb5f9c6a3a49032570d800438ce4/$FILE/Anais%20Godofredo%20Cesar%20Vitti.pdf)>. Acesso em: 02 Jun. 2015.

Weber, H.; Daros, E.; Zambon, J. L. C.; Ido, O. T.; Barela, J. D. Recuperação da produtividade de soqueiras de cana de açúcar com adubação NPK. **Scientia Agraria**, v.2, n.1, p.73-77, 2001.

Yeoh, Y. K.; Paungfoo-Lonhienne, C.; Dennis, P. G.; Robinson, N.; Ragan, M. A.; Schmidt, S.; Hugenholtz, P. The core root microbiome of sugarcane cultivated under varying nitrogen fertilizer application. **Environmental microbiology**, 2015.

Zhao, D.; Glaz, B.; Comstock, J. C. Physiological and growth responses of sugarcane genotypes to nitrogen rate on a sand soil. **Journal of agronomy and crop science**, v.200, n.4, p.290-301, 2014.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento da cana-de-açúcar, demonstrado em muitos trabalhos que a sua complementação auxilia no aumento produtivo da cultura (Weber et al., 2001; Prado e Pancelli, 2008; Vitti et al., 2008; Fortes et al., 2013). Alguns genótipos respondem melhor a adubação nitrogenada (Zhao et al., 2014; Hajari et al. 2015), assim como os genótipos 1, 7 e 9 que demonstraram relação positiva a adubação nitrogenada.

Não obstante, a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), das quais auxiliam no suporte a nutrição da planta com nitrogênio fixado da atmosfera ou na produção de reguladores vegetais (Mehnaz, 2013), são uma tendência frente a preocupação crescente com a preservação ambiental. O genótipo 2 e o clone RB036152 apresentaram resultados positivos com a inoculação de BPCV, enquanto que os genótipos 7 e 8 obtiveram ganhos no desenvolvimento radicular e da parte aérea, o que confirmou a interação positiva entre genótipos×tratamentos.

O aumento da eficiência do uso de fertilizantes nitrogenados em cana-de-açúcar é outro aspecto importante para a redução dos custos de produção e na redução do impacto ambiental. Esse aumento ocorre em concomitância com as BPCV e a adubação molíbdica, trazendo importante alternativa na redução da dependência restrita à adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, como demonstrado nos resultados da cultivar RB867515, a qual apresenta ganhos com a adubação molíbdica e BPCV em conjunto com a adubação nitrogenada.

O aumento nos teores foliares de macro e micronutrientes também foram evidenciados com a utilização desses tratamentos, com destaque para NITR e BAC, que aumentaram, respectivamente, os teores de potássio nos genótipos RB867515 e RB036152. O genótipo RB036152 apresentou maiores teores foliares de macro e micronutrientes, comparando-se com a RB867515.

Por outro lado, quando se busca genótipos responsivos às BPCV, o presente trabalho demonstrou assim como Lopes (2013) que seria possível alcançar êxitos na seleção de clones responsivos na fase inicial do melhoramento de cana-de-açúcar. Contudo, essas interações devem ser melhor estudadas em diferentes ambientes e em conjunto com outros microrganismos.

O isolamento das bactérias nativas dos canaviais, pode ser um caminho na identificação de BPCV voltadas para cada ambiente de cultivo. As cultivares comerciais que possuam grande importância para o mercado sucroenergético também devem ser testadas com

as BPCV. Recomenda-se ainda outros estudos incluindo maiores períodos de avaliação, ao longo dos cortes, testando diferentes formulações e combinações, para o lançamento de um produto comercial consolidado. Para estudos com clones promissores com a inoculação de BPCV em cana-de-açúcar, recomenda-se a utilização dos clones 2 e RB036152. Em estudos com adubação nitrogenada, recomenda-se a utilização da cultivar RB867515 e os clones 1, 7 e 9.

## 5. APÊNDICES

APÊNDICE A.1 – Capítulo 1 – Quadrado médio do delineamento em parcelas sub-subdivididas (estádios×tratamentos×genótipos), onde: ‘estádios’ são o primeiro (cana planta) e terceiro cortes (ressoca); os ‘tratamentos’ são: controle, nitrogênio e bactérias; e os ‘genótipos’ correspondem aos clones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e a cultivar RB867515. Análise dos dados realizada pela estimativa dos caracteres: estatura de planta (m) (EST), diâmetro médio do colmo (cm) (DIA), número de colmos por metro (NCM), massa de 1 colmo (MIC), tonelada de colmos por hectare (TCH), pol cana (PC), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX.

| Fonte de variação                     | Graus de Liberdade | Quadrado Médio |             |              |              |              |             |              |             |
|---------------------------------------|--------------------|----------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
|                                       |                    | EST (m)        | DIA (cm)    | NCM          | MIC          | TCH          | PC          | TPH          | °BRIX       |
| <b>Bloco</b>                          | 1                  | 0,062          | 1,928       | 0,112        | 0,039        | 5,279        | 2,282**     | 0,357        | 0,226       |
| <b>Cortes (E)</b>                     | 1                  | 0,079          | 1,154**     | 71,055       | 0,211        | 1831,836     | 211,39**    | 46,638       | 217,49      |
| <b>Erro 1</b>                         | 1                  | 0,252          | 0,000       | 0,486        | 0,035        | 82,618       | 0,000       | 1,852        | 0,945       |
| <b>Tratamentos (T)</b>                | 2                  | 0,080          | 0,016       | 17,998       | 0,062        | 3564,344     | 1,537       | 90,434       | 1,592       |
| <b>E x T</b>                          | 2                  | 0,063          | 0,075       | 3,287        | 0,172*       | 1524,588     | 0,665       | 40,668       | 0,643       |
| <b>Erro 2</b>                         | 2                  | 0,009          | 0,005       | 2,892        | 0,008        | 338,859      | 0,098       | 7,748        | 0,542       |
| <b>Genótipos (G)</b>                  | 9                  | 0,422**        | 0,624**     | 52,114**     | 0,707**      | 9367,888**   | 15,800**    | 194,314**    | 16,397**    |
| <b>G x E</b>                          | 9                  | 0,078**        | 0,172**     | 15,598*      | 0,200**      | 1527,483**   | 6,754**     | 33,920**     | 5,915**     |
| <b>G x T</b>                          | 18                 | 0,018          | 0,110**     | 16,350*      | 0,080        | 864,868      | 0,528       | 18,712       | 0,276       |
| <b>G x E x T</b>                      | 18                 | 0,047*         | 0,092**     | 20,414**     | 0,134*       | 1271,961**   | 1,175       | 25,624*      | 0,111       |
| <b>Erro 3</b>                         | 56                 | 0,021          | 0,254       | 7,502        | 0,071        | 507,654      | 0,690       | 11,371       | 0,613       |
| <b>Coefficiente de Variação 1 (%)</b> |                    | <b>22,40</b>   | <b>0,21</b> | <b>6,61</b>  | <b>16,15</b> | <b>10,60</b> | <b>0,03</b> | <b>11,68</b> | <b>5,14</b> |
| <b>Coefficiente de Variação 2 (%)</b> |                    | <b>4,31</b>    | <b>3,24</b> | <b>16,12</b> | <b>7,77</b>  | <b>21,46</b> | <b>2,30</b> | <b>23,89</b> | <b>3,90</b> |
| <b>Coefficiente de Variação 3 (%)</b> |                    | <b>6,54</b>    | <b>7,32</b> | <b>25,97</b> | <b>23,03</b> | <b>26,27</b> | <b>6,09</b> | <b>28,94</b> | <b>4,14</b> |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.2 – Capítulo 1 – Quadrado Médio da variável nitrogênio, representada por massa de nitrogênio/massa da folha +3 (%), avaliada no ciclo de cana planta e cana soca aos 4 meses após o plantio e 4 meses na ressoca.

| Fonte de variação                     | Graus de Liberdade | Quadrado Médio |              |
|---------------------------------------|--------------------|----------------|--------------|
|                                       |                    | Cana planta    | Segunda soca |
| <b>Bloco</b>                          | 1                  | 0,024          | 0,035        |
| <b>Tratamentos (T)</b>                | 2                  | 0,102*         | 0,098        |
| <b>Erro 1</b>                         | 2                  | 0,003          | 0,050        |
| <b>Genótipos (G)</b>                  | 9                  | 0,318**        | 0,099**      |
| <b>G x T</b>                          | 18                 | 0,128**        | 0,021        |
| <b>Erro 2</b>                         | 27                 | 0,015          | 0,022        |
| <b>Coefficiente de Variação 1 (%)</b> |                    | <b>2,73</b>    | <b>16,37</b> |
| <b>Coefficiente de Variação 2 (%)</b> |                    | <b>6,28</b>    | <b>10,94</b> |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.3 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do teor de nitrogênio nos tecidos foliares da folha +3 (TF) em cana planta, na análise do desdobramento genótipos (G) dentro de cada nível dos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR) e Bactérias (BAC).

| FV              | GL | TF     |
|-----------------|----|--------|
| <b>G x C</b>    | 9  | 0,09** |
| <b>G x NITR</b> | 9  | 0,22** |
| <b>G x BAC</b>  | 9  | 0,25** |
| <b>Erro</b>     | 27 | 0,01   |

\*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.4 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do teor de nitrogênio nos tecidos foliares da folha +3 em cana planta, na análise do desdobramento tratamentos (TR) dentro de cada nível dos genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515.

| FV                   | GL | TF     |
|----------------------|----|--------|
| <b>TR x 1</b>        | 2  | 0,09** |
| <b>TR x 2</b>        | 2  | 0,14** |
| <b>TR x 3</b>        | 2  | 0,06*  |
| <b>TR x 4</b>        | 2  | 0,26** |
| <b>TR x 5</b>        | 2  | 0,00   |
| <b>TR x 6</b>        | 2  | 0,04   |
| <b>TR x 7</b>        | 2  | 0,04   |
| <b>TR x 8</b>        | 2  | 0,51** |
| <b>TR x 9</b>        | 2  | 0,09** |
| <b>TR x RB867515</b> | 2  | 0,01   |
| <b>Erro</b>          | 27 | 0,01   |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.5 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento genótipos (G) dentro de cada nível de estádios cana planta (CP) e cana ressoca (CR).

| FV            | GL | DIA    | NCM     | TCH       | TPH      | °BRIX   |
|---------------|----|--------|---------|-----------|----------|---------|
| <b>G x CP</b> | 9  | 0,53** | 36,43** | 4845,27** | 84,38**  | 18,98** |
| <b>G x CR</b> | 9  | 0,27** | 31,28** | 6050,10** | 143,85** | 3,33**  |
| <b>Erro</b>   | 56 | 0,00   | 7,50    | 507,65    | 11,37    | 0,61    |

\*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.6 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento estádios (E) dentro de cada nível dos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR) e Bactérias (BAC).

| FV       | GL | DIA    | NCM   | TCH     | TPH    | °BRIX   |
|----------|----|--------|-------|---------|--------|---------|
| E × C    | 1  | 0,14*  | 38,02 | 4218,71 | 6,91   | 71,48** |
| E × NITR | 1  | 0,32*  | 31,79 | 169,50  | 102,11 | 59,98** |
| E × BAC  | 1  | 0,84** | 7,81  | 492,80  | 18,95  | 87,32** |
| Erro     | 2  | 0,00   | 2,89  | 338,86  | 7,75   | 0,54    |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.7 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento genótipos (G) dentro de cada nível dos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR) e Bactérias (BAC).

| FV       | GL | DIA    | NCM     | TCH       | TPH      | °BRIX  |
|----------|----|--------|---------|-----------|----------|--------|
| G × C    | 9  | 0,20** | 26,94** | 2669,47** | 11,37**  | 5,22** |
| G × NITR | 9  | 0,38** | 30,85** | 6304,90** | 135,36** | 7,06** |
| G × BAC  | 9  | 0,26** | 27,03** | 2123,26** | 41,70**  | 4,67** |
| Erro     | 56 | 0,00   | 7,50    | 507,65    | 11,37    | 0,61   |

\*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.8 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento estádios (E) dentro de cada nível dos genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515.

| FV           | GL | DIA    | NCM     | TCH       | TPH      | °BRIX   |
|--------------|----|--------|---------|-----------|----------|---------|
| E × 1        | 1  | 0,14*  | 62,28** | 539,48    | 9,99     | 21,15** |
| E × 2        | 1  | 0,98** | 17,13   | 248,25    | 10,53    | 2,85*   |
| E × 3        | 1  | 0,07   | 59,27** | 3797,45** | 80,80**  | 3,22*   |
| E × 4        | 1  | 0,02   | 0,59    | 14,61     | 1,61     | 5,44**  |
| E × 5        | 1  | 0,52** | 16,33   | 218,03    | 9,83     | 41,59** |
| E × 6        | 1  | 0,62** | 0,92    | 192,16    | 12,98    | 13,93** |
| E × 7        | 1  | 0,04   | 0,23    | 4050,58** | 151,58** | 17,04** |
| E × 8        | 1  | 0,23** | 44,12*  | 4787,21** | 21,82    | 58,43** |
| E × 9        | 1  | 0,03   | 0,45    | 357,96    | 50,80*   | 76,76** |
| E × RB867515 | 1  | 0,05   | 10,08   | 1373,45   | 1,98     | 30,30** |
| Erro         | 56 | 0,00   | 7,50    | 507,65    | 11,37    | 0,61    |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.9 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento tratamentos (TR) dentro de cada nível de estádios cana planta (CP) e cana rессoca (CR).

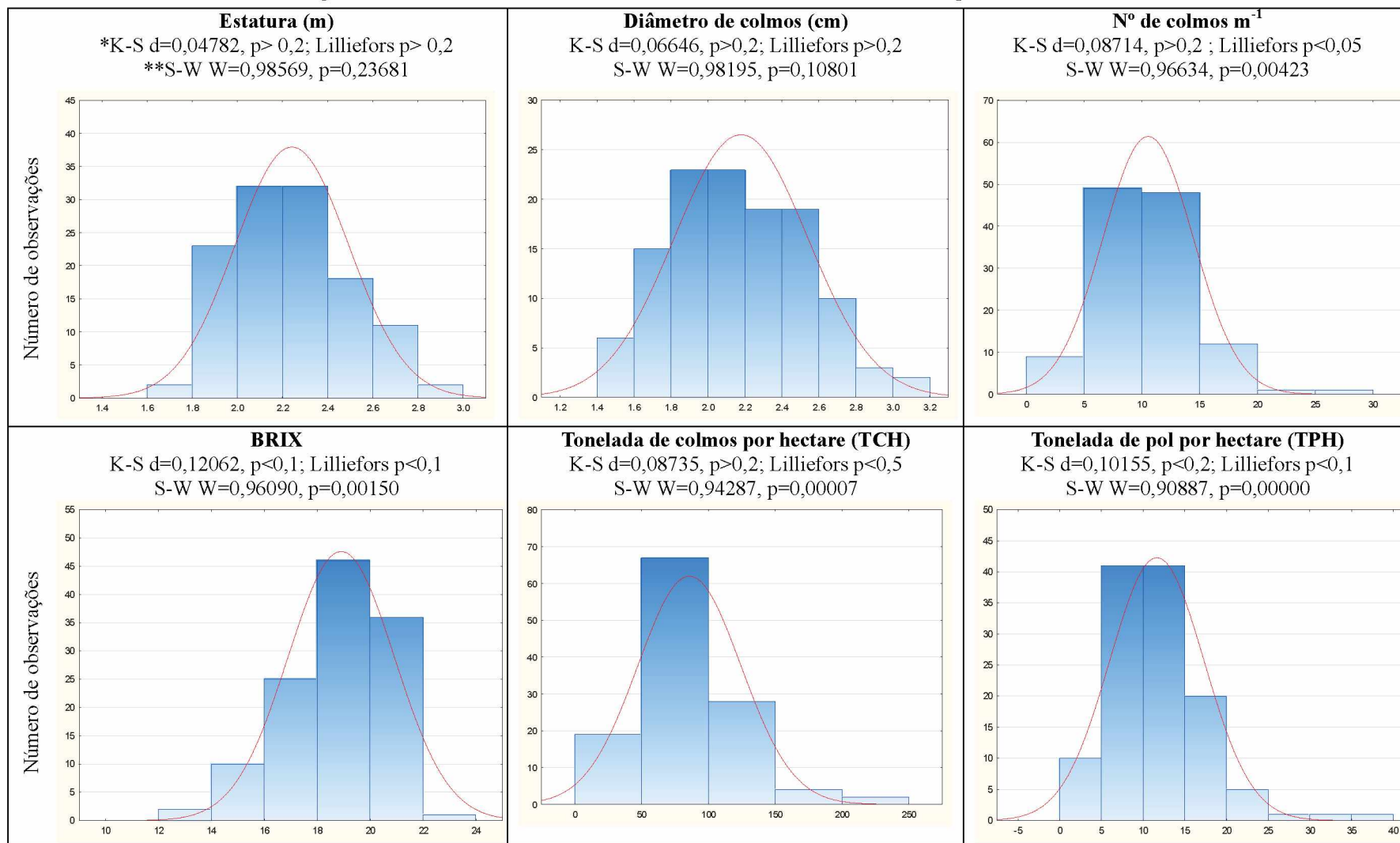
| FV      | GL | DIA  | NCM   | TCH     | TPH    | °BRIX |
|---------|----|------|-------|---------|--------|-------|
| TR × CP | 2  | 0,55 | 14,76 | 1288,47 | 27,35  | 1,72  |
| TR × CR | 2  | 0,04 | 6,52  | 3800,46 | 103,76 | 0,51  |
| Erro    | 2  | 0,00 | 2,89  | 338,86  | 7,75   | 0,54  |

APÊNDICE A.10 – Capítulo 1 – Quadrado Médio do diâmetro médio dos colmos (cm) (DIA) número de colmos por metro (NCM), tonelada de colmos por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH) e °BRIX, na análise do desdobramento tratamentos (TR) dentro de cada nível dos genótipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e RB867515.

| <b>FV</b>            | <b>GL</b> | <b>DIA</b> | <b>NCM</b> | <b>TCH</b> | <b>TPH</b> | <b>°BRIX</b> |
|----------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|--------------|
| <b>TR × 1</b>        | 2         | 0,03       | 42,84**    | 3667,33**  | 102,65**   | 0,32         |
| <b>TR × 2</b>        | 2         | 0,09*      | 36,18*     | 516,08     | 9,94       | 0,81         |
| <b>TR × 3</b>        | 2         | 0,16**     | 11,73      | 618,60     | 10,93      | 0,77         |
| <b>TR × 4</b>        | 2         | 0,05       | 19,81      | 767,70     | 9,87       | 0,50         |
| <b>TR × 5</b>        | 2         | 0,19**     | 14,89      | 842,02     | 12,68      | 0,30         |
| <b>TR × 6</b>        | 2         | 0,09*      | 5,06       | 146,67     | 1,32       | 0,64         |
| <b>TR × 7</b>        | 2         | 0,02       | 11,79      | 2025,07*   | 52,03*     | 0,20         |
| <b>TR × 8</b>        | 2         | 0,24**     | 13,02      | 211,14     | 2,16       | 0,08         |
| <b>TR × 9</b>        | 2         | 0,09*      | 4,34       | 2249,22*   | 51,29*     | 0,08         |
| <b>TR × RB867515</b> | 2         | 0,03       | 5,47       | 304,30     | 5,98       | 0,37         |
| <b>Erro</b>          | 56        | 0,02       | 7,50       | 507,65     | 11,37      | 0,61         |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

APÊNDICE A.11 – Histogramas e análise de normalidade das variáveis utilizadas no Capítulo 1



\*K-S = Kolmogorov-Smirnov    \*\*S-W = Shapiro-Wilk

APÊNDICE B.1 – Capítulo 2 – Quadrado Médio da estatura (cm) (EST), diâmetro médio de colmos (mm) (DIA), área foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), massa fresca da raiz (g) (MFR), massa fresca da parte aérea (g) (MFP), massa seca da raiz (g) (MSR) e massa seca da parte aérea (MSP), na análise do desdobramento genótipos (G) dentro de cada nível dos tratamentos: Controle (C) e Inoculado (I).

| <b>FV</b>    | <b>GL</b> | <b>EST</b> | <b>DIA</b> | <b>AF</b>  | <b>MFR</b> | <b>MFP</b> | <b>MSR</b> | <b>MSP</b> |
|--------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>G × C</b> | 5         | 886,08**   | 0,086**    | 12847,14** | 222,27**   | 4196,57**  | 4,63**     | 151,64**   |
| <b>G × I</b> | 5         | 639,04**   | 0,036**    | 42398,51** | 677,38**   | 3442,19**  | 9,23**     | 72,57**    |
| <b>Erro</b>  | 36        | 27,58      | 0,005      | 2020,06    | 59,29      | 208,67     | 0,39       | 11,87      |

\*\* Significativo a 1%

APÊNDICE B.2 – Capítulo 2 – Quadrado Médio da estatura (cm) (EST), diâmetro médio de colmos (mm) (DIA), área foliar (cm<sup>2</sup>) (AF), massa fresca da raiz (g) (MFR), massa fresca da parte aérea (g) (MFP), massa seca da raiz (g) (MSR) e massa seca da parte aérea (MSP), na análise do desdobramento tratamentos (TR) dentro de cada nível dos genótipos: 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515.

| <b>FV</b>            | <b>GL</b> | <b>EST</b> | <b>DIA</b> | <b>AF</b>  | <b>MFR</b> | <b>MFP</b> | <b>MSR</b> | <b>MSP</b> |
|----------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>TR × 3</b>        | 1         | 15,12      | 0,003      | 913,14     | 0,082      | 306,65     | 0,078      | 47,68      |
| <b>TR × 6</b>        | 1         | 108,78     | 0,037*     | 1440,23    | 5,494      | 64,75      | 3,162**    | 0,460      |
| <b>TR × 7</b>        | 1         | 94,53      | 0,001      | 3991,71    | 231,66     | 54,29      | 2,050*     | 0,026      |
| <b>TR × 8</b>        | 1         | 435,12**   | 0,009      | 1620,51    | 442,24**   | 1079,73*   | 1,361      | 23,43      |
| <b>TR × 9</b>        | 1         | 16,53      | 0,017      | 8008,72    | 39,60      | 175,31     | 2,387*     | 71,04*     |
| <b>TR × RB867515</b> | 1         | 112,50     | 0,008      | 44551,12** | 227,16     | 1003,27*   | 1,280      | 87,52*     |
| <b>Erro</b>          | 36        | 27,58      | 0,006      | 2020,06    | 59,29      | 208,67     | 0,389      | 11,87      |

\*\* Significativo a 1%

APÊNDICE B.3 – Capítulo 2 – Média da estatura (cm) de planta (EST), do diâmetro de colmo (mm) (DIA) e da área foliar (cm<sup>2</sup>) (AF) dos genótipos 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 submetidos aos tratamentos controle e inoculado.

| Genótipos       | EST       |           |           | DIA       |           |           | AR         |           |           |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
|                 | Controle  | Inoculado | $\bar{X}$ | Controle  | Inoculado | $\bar{X}$ | Controle   | Inoculado | $\bar{X}$ |
| <b>3</b>        | 53,12 Aa  | 55,87 Aa  | 54,50 A   | 10,14 Ca  | 11,12 Ca  | 10,63 C   | 141,45 Ba  | 162,81 Ba | 152,13 BC |
| <b>6</b>        | 20,62 Ca  | 28,00 Ca  | 24,31 C   | 9,57 Ca   | 12,39 BCa | 10,98 C   | 148,17 Ba  | 175,01 Ba | 161,59 BC |
| <b>7</b>        | 36,00 Ba  | 42,87 Ba  | 39,44 B   | 15,92 Ba  | 16,67 ABa | 16,29 B   | 276,63 Aa  | 321,30 Aa | 298,96 A  |
| <b>8</b>        | 27,62 BCb | 42,37 Ba  | 35,00 B   | 11,40 BCa | 13,29 BCa | 12,34 C   | 196,50 ABa | 224,96 Ba | 210,73 B  |
| <b>9</b>        | 59,50 Aa  | 56,62 Aa  | 58,06 A   | 23,00 Aa  | 18,63 Ab  | 20,81 A   | 264,88 Aa  | 328,16 Aa | 296,52 A  |
| <b>RB867515</b> | 35,50 Ba  | 28,00 Ca  | 31,75 BC  | 12,58 BCa | 10,86 Ca  | 11,72 C   | 207,62 ABa | 58,37 Cb  | 132,99 C  |
| $\bar{X}$       | 38,72     | 42,29     |           | 13,77     | 13,82     |           | 205,87     | 211,77    |           |

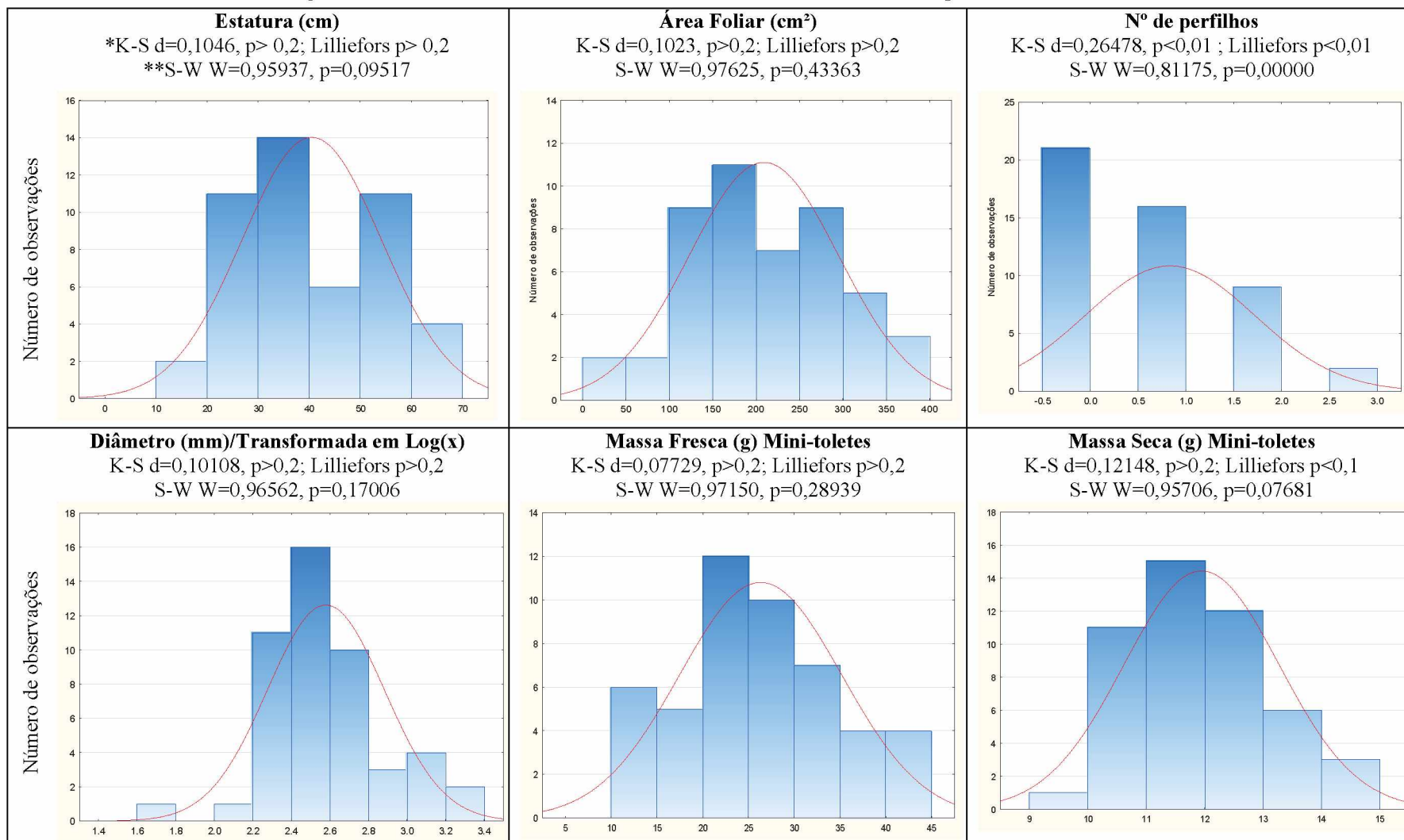
Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si estatisticamente a 5% de probabilidade no teste de Tukey.

APÊNDICE B.4 – Capítulo 2 – Média do conteúdo relativo de água na reserva orgânica do mini-tolete (CRRO), nas raízes (CRR) e na parte aérea (CRPA), dos genótipos 3, 6, 7, 8, 9 e RB867515 submetidos aos tratamentos controle e inoculado.

| Genótipos       | CRRO      |           |           | CRR      |           |           | CRPA     |           |           |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|
|                 | Controle  | Inoculado | $\bar{X}$ | Controle | Inoculado | $\bar{X}$ | Controle | Inoculado | $\bar{X}$ |
| <b>3</b>        | 1,83 Da   | 2,15 Ba   | 1,99 C    | 4,79 Aa  | 4,68 Ba   | 4,73 C    | 3,93 Ca  | 4,76 CDa  | 4,34 CD   |
| <b>6</b>        | 3,26 Ca   | 3,99 Aa   | 3,62 B    | 4,81 Aa  | 4,82 Ba   | 4,82 C    | 5,12 BCa | 5,72 BCa  | 5,42 C    |
| <b>7</b>        | 5,19 Aa   | 4,74 Aa   | 4,96 A    | 6,16 Aa  | 6,91 Aa   | 6,54 A    | 6,60 Ba  | 6,98 Ba   | 6,79 B    |
| <b>8</b>        | 3,71 BCa  | 3,55 Aa   | 3,63 B    | 5,46 Ab  | 6,56 Aa   | 6,01 AB   | 4,70 BCb | 6,48 BCa  | 5,59 BC   |
| <b>9</b>        | 4,52 ABa  | 3,71 Ab   | 4,11 AB   | 6,15 Aa  | 5,87 ABa  | 6,01 AB   | 9,29 Aa  | 8,99 Aa   | 9,14 A    |
| <b>RB867515</b> | 4,23 ABCa | 4,38 Aa   | 4,31 AB   | 5,57 Aa  | 4,53 Bb   | 5,05 BC   | 5,05 BCa | 2,96 Db   | 4,00 D    |
| $\bar{X}$       | 3,79      | 3,75      |           | 5,49     | 5,56      |           | 5,78     | 5,98      |           |

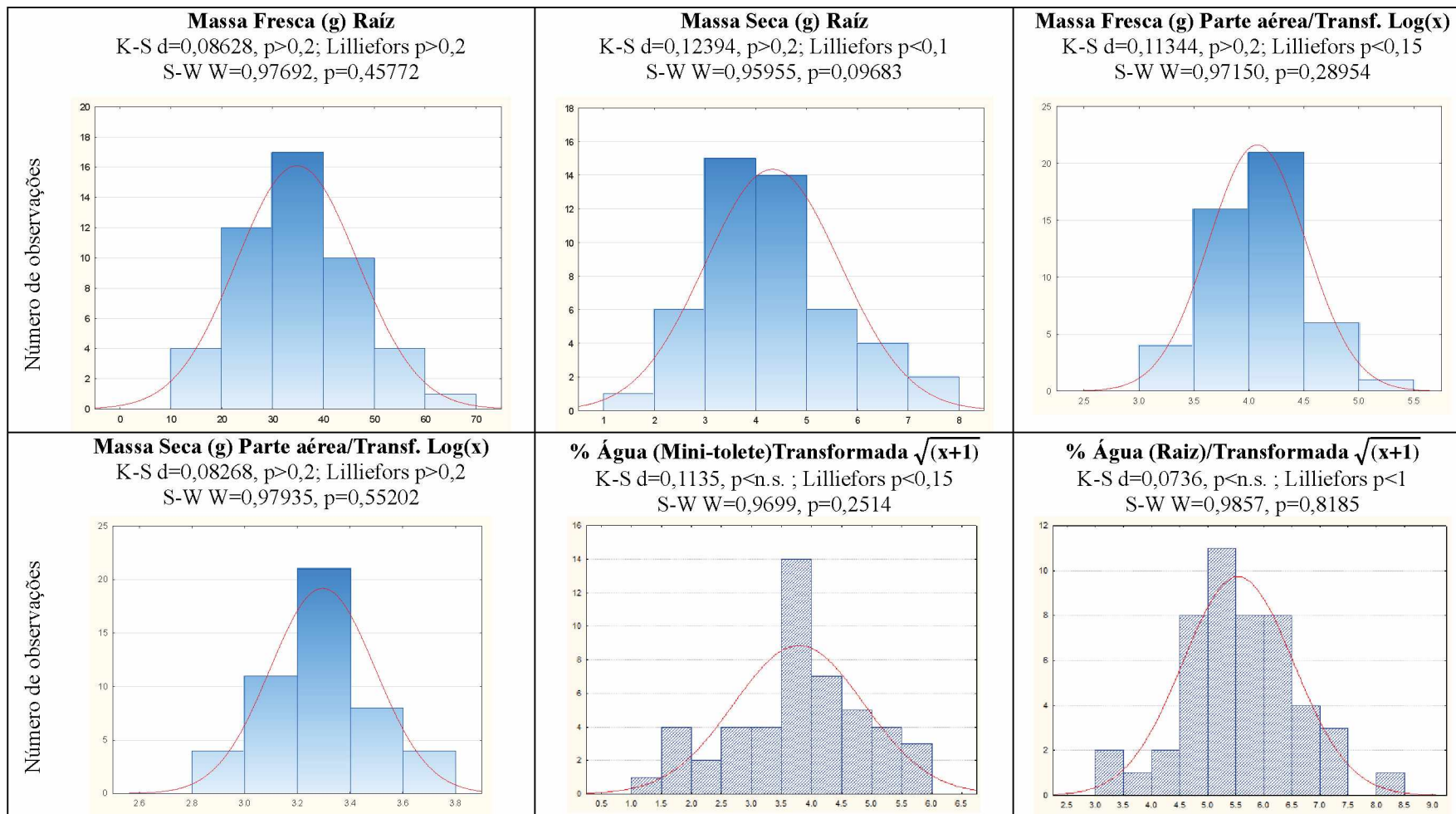
Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si estatisticamente a 5% de probabilidade no teste de Tukey.

APÊNDICE B.5 – Histogramas e análise de normalidade das variáveis utilizadas no Capítulo 2

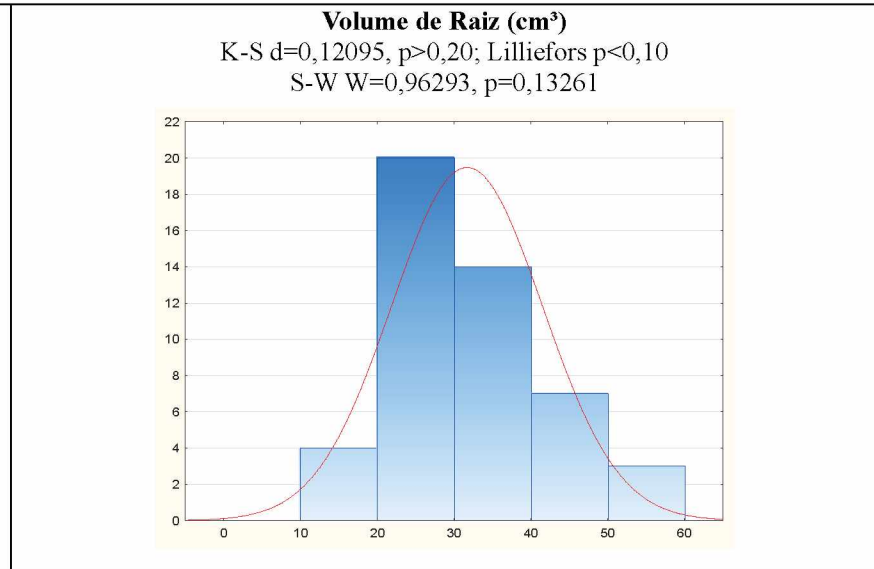
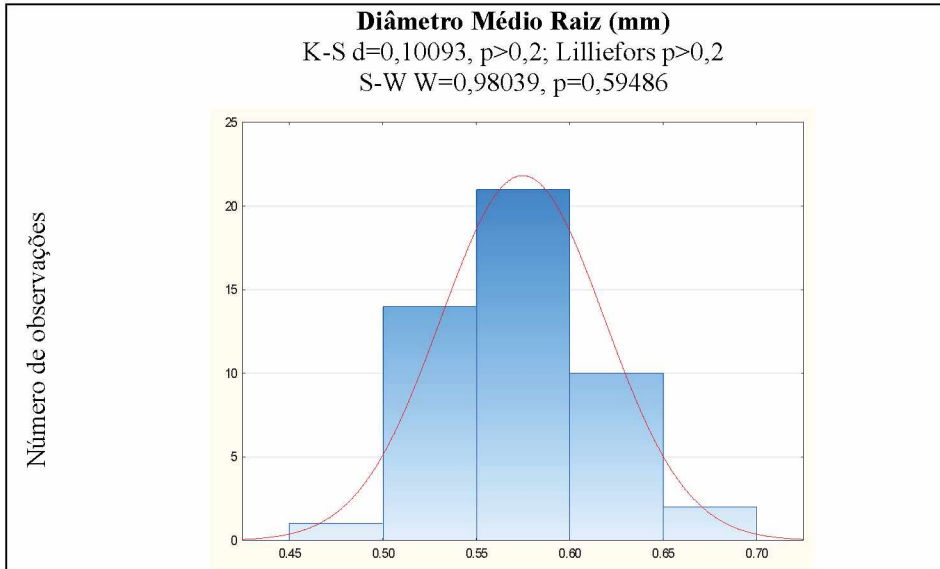
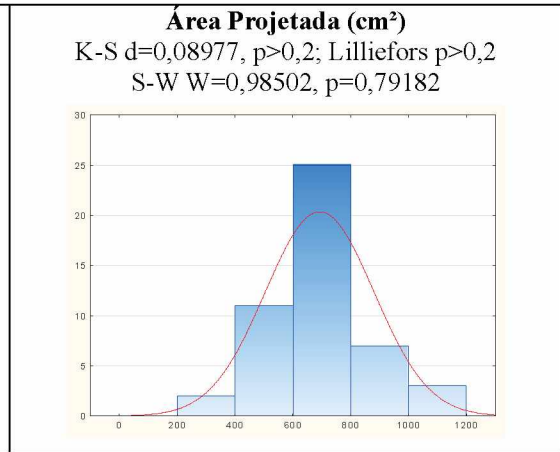
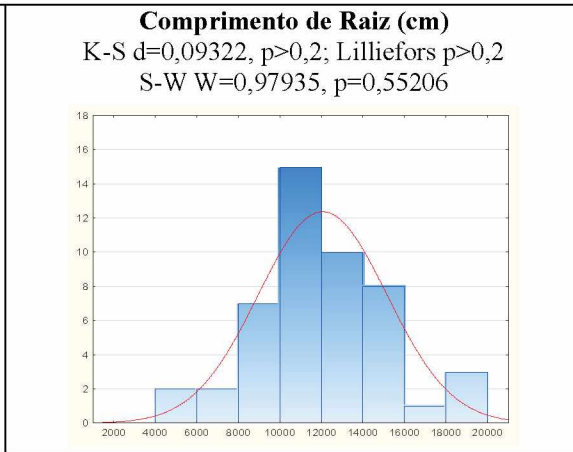
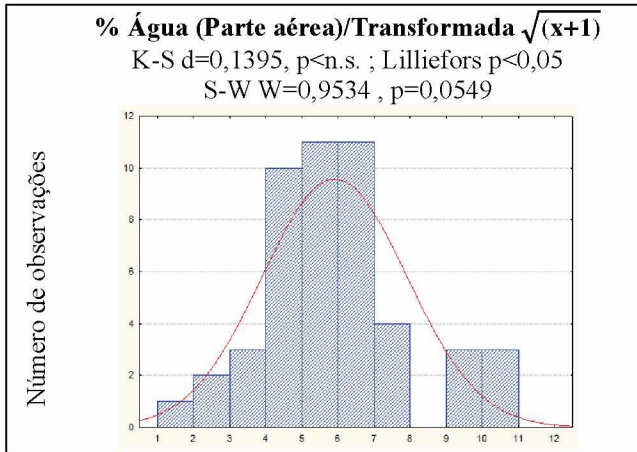


\*K-S = Kolmogorov-Smirnov    \*\*S-W = Shapiro-Wilk

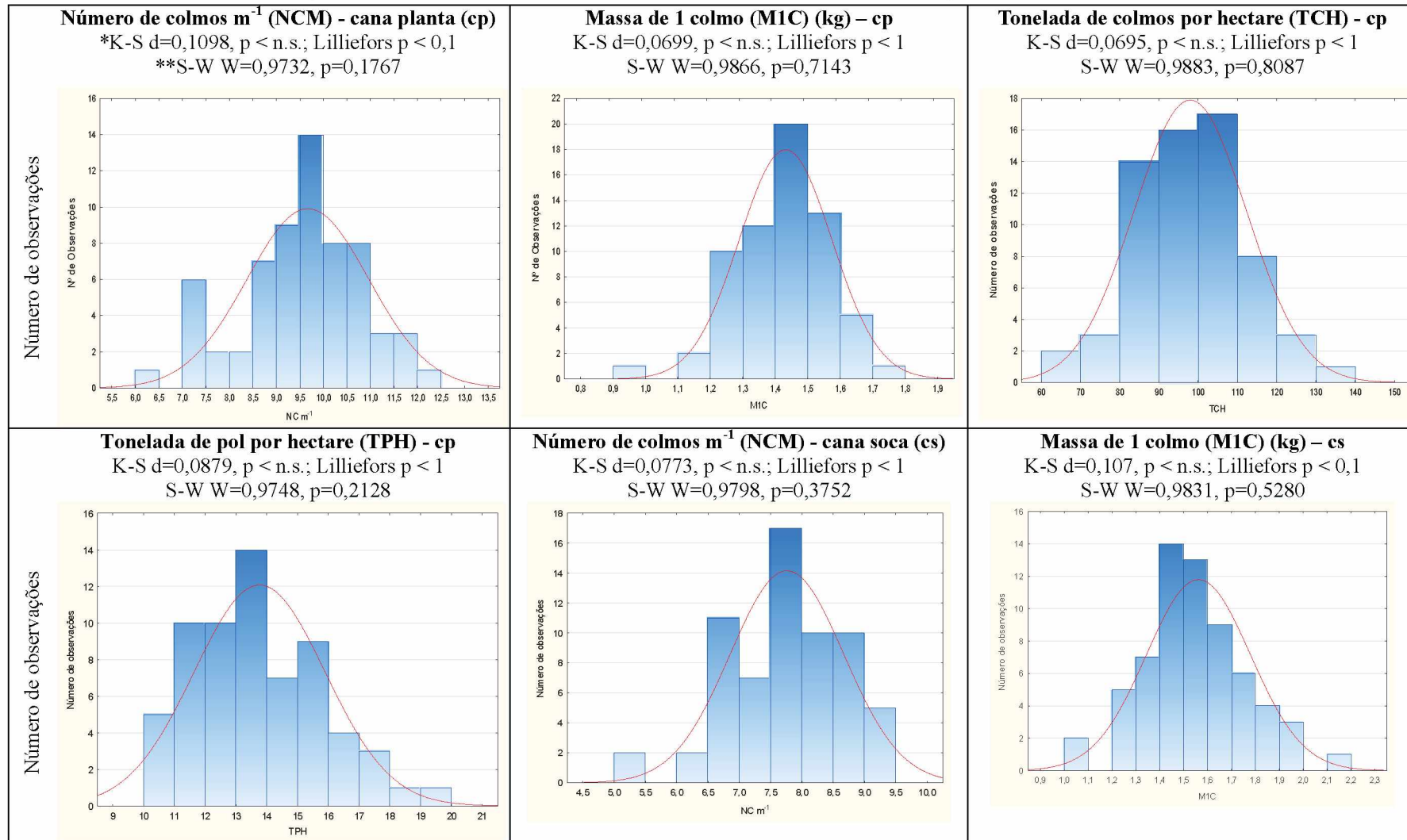
Continua...



Continua...



APÊNDICE C.1 – Histogramas e análise de normalidade das variáveis utilizadas no Capítulo 3



\*K-S = Kolmogorov-Smirnov    \*\*S-W = Shapiro-Wilk

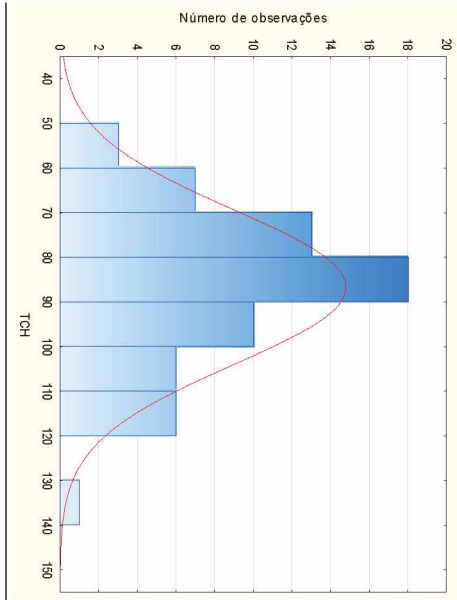
Continua...

Número de observações

**Tonelada de colmos por hectare (TCH) - cs**

K-S  $d=0,0859$ ,  $p < n.s.$ ; Lilliefors  $p < 1$

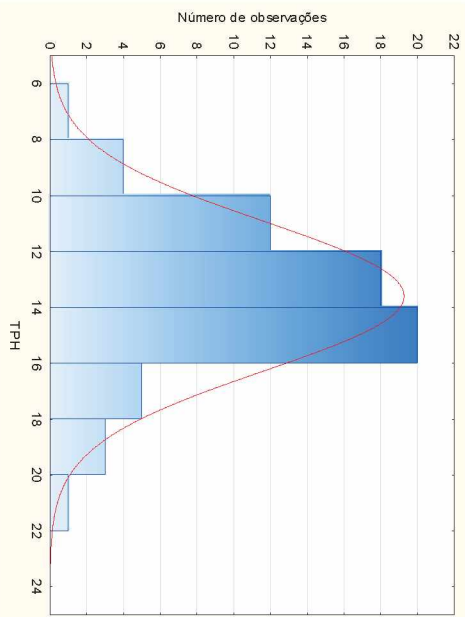
S-W  $W=0,9812$ ,  $p=0,4368$



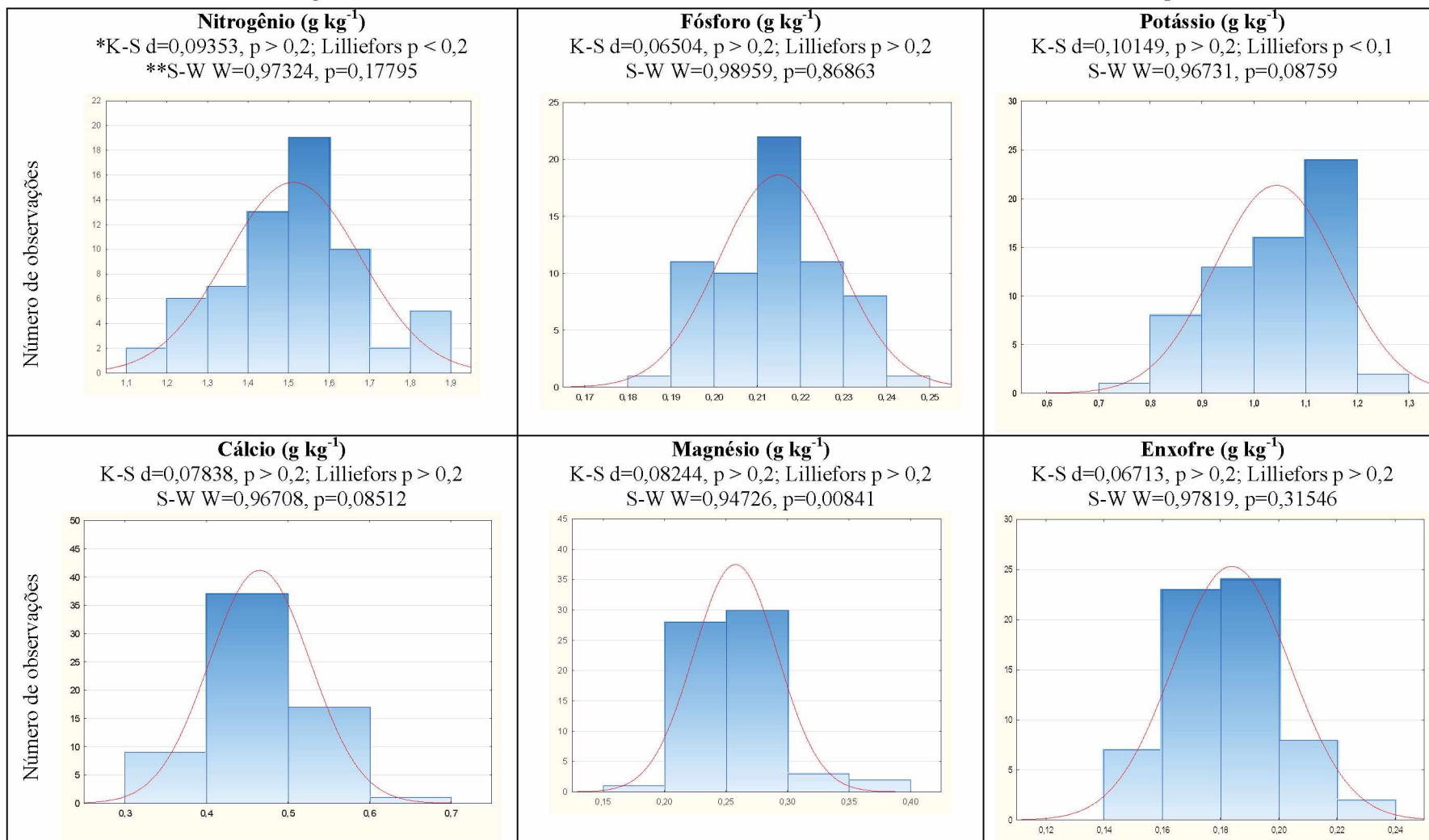
**Tonelada de pol por hectare (TPH) - cs**

K-S  $d=0,0834$ ,  $p < n.s.$ ; Lilliefors  $p < 1$

S-W  $W=0,9834$ ,  $p=0,5434$

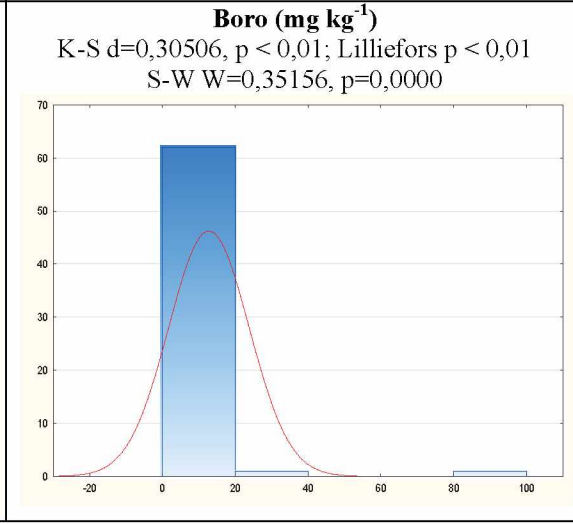
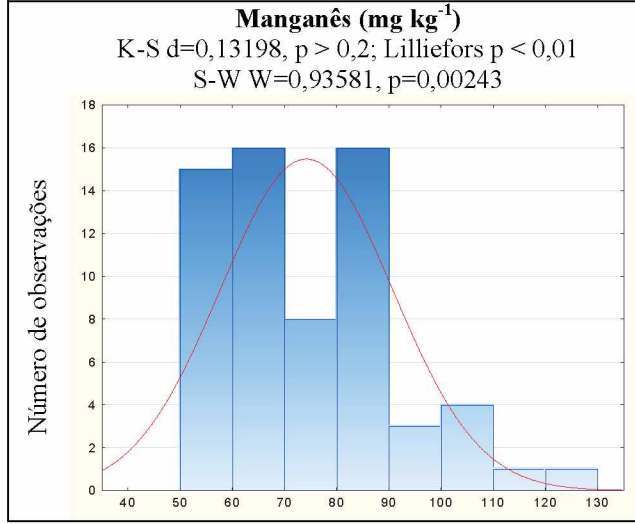
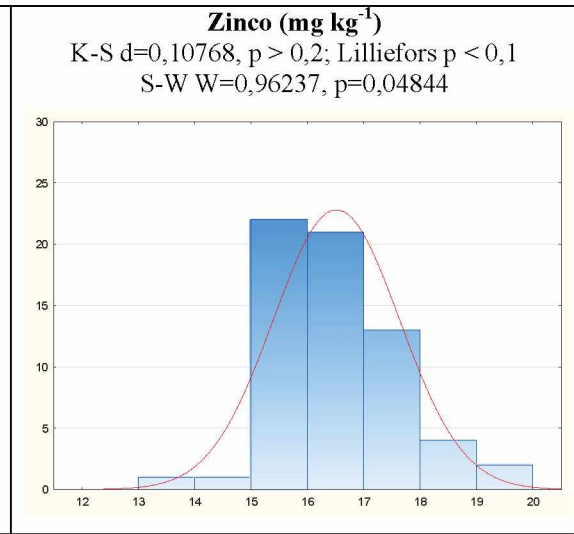
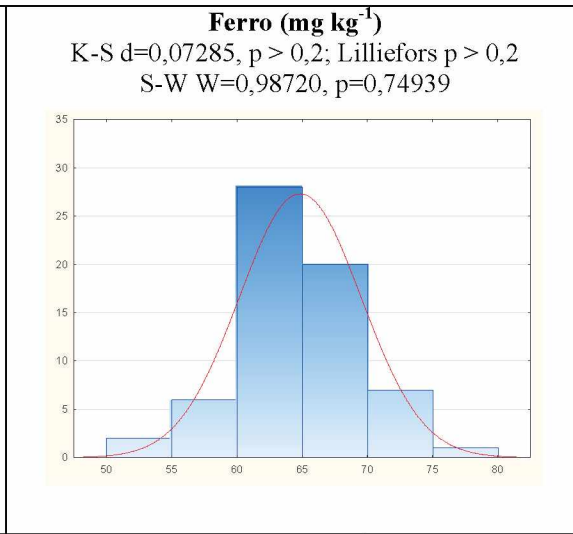
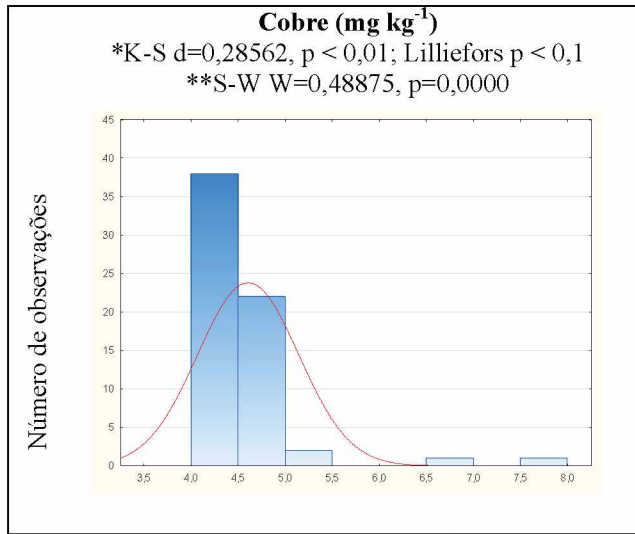


APÊNDICE C.2 – Histogramas e análise de normalidade da variável teor foliar da folha +3 utilizada no Capítulo 3



\*K-S = Kolmogorov-Smirnov    \*\*S-W = Shapiro-Wilk

Continua...



Apêndice C.3 – Capítulo 3 – Quadrado Médio do número de colmos por metro (NCM) e tonelada de colmos por hectare (TCH) em cana planta e massa de 1 colmo (kg) (MIC) em cana soca, na análise do desdobramento genótipos (G) dentro de cada nível dos tratamentos: Controle (C), Nitrogênio (NITR), Molibdênio (MOL), Bactérias (BAC), NITR+BAC+MOL, NITR+MOL, NITR+BAC e BAC+MOL.

| FV                      | GL | Cana planta |           | Cana soca |
|-------------------------|----|-------------|-----------|-----------|
|                         |    | NCM         | TCH       | MIC       |
| <b>G × C</b>            | 1  | 2,00        | 105,99    | 0,01      |
| <b>G × NITR</b>         | 1  | 0,40        | 180,02    | 0,26**    |
| <b>G × MOL</b>          | 1  | 0,98        | 0,07      | 0,03      |
| <b>G × BAC</b>          | 1  | 0,05        | 285,25    | 0,07      |
| <b>G × NITR+BAC+MOL</b> | 1  | 6,12**      | 1501,79** | 0,00      |
| <b>G × NITR+MOL</b>     | 1  | 2,20        | 262,89    | 0,03      |
| <b>G × NITR+BAC</b>     | 1  | 14,58**     | 1363,99** | 0,17*     |
| <b>G × BAC+MOL</b>      | 1  | 1,80        | 6,97      | 0,20*     |
| <b>Erro</b>             | 45 | 0,85        | 139,26    | 0,03      |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

Apêndice C.4 – Capítulo 3 – Quadrado Médio do número de colmos por metro (NCM) e tonelada de colmos por hectare (TCH) em cana planta e massa de 1 colmo (kg) (MIC) em cana soca, na análise do desdobramento tratamentos (TR) dentro de cada nível dos genótipos: RB036152 e RB867515.

| FV                   | GL | Cana planta |          | Cana soca |
|----------------------|----|-------------|----------|-----------|
|                      |    | NCM         | TCH      | MIC       |
| <b>TR × RB036152</b> | 1  | 1,03        | 107,73   | 0,08*     |
| <b>TR × RB867515</b> | 1  | 4,68**      | 464,66** | 0,04      |
| <b>Erro</b>          | 45 | 0,85        | 139,26   | 0,03      |

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%

## 6. ANEXOS

ANEXO 1. Análise de solo das camadas de 0-20 cm e 20-40 cm, dos experimentos conduzidos na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar da Universidade Federal do Paraná, no município de Paranavaí-PR.

SOLICITANTE: Funpar

TIPO DE AMOSTRA: Solo

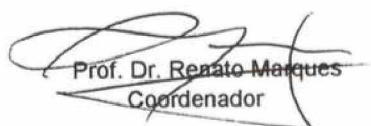
ENDEREÇO: Rua João Negrão, 280 Centro

EXTRAÇÃO : 0,1M HCl e N Total pelo Método de combustão ( Elementar Vario III )

ORIGEM DAS AMOSTRA: Paranavaí - PR.

Nº DE AMOSTRAS: 02

| Identificação     | Nº Lab. | N    | P | K Ca Mg |   |   | Fe   | Mn  | Cu Zn   |     | B | Al |
|-------------------|---------|------|---|---------|---|---|------|-----|---------|-----|---|----|
|                   |         |      |   | (g/kg)  |   |   |      |     | (mg/kg) |     |   |    |
| Am.1 20 cm (0-20) | 65122   | 0,54 | — | —       | — | — | 14,1 | 6,1 | 1,2     | 0,6 | — | —  |
| Am.2 40cm (20-40) | 65123   | 0,57 | — | —       | — | — | 23,6 | 5,1 | 1,5     | 0,5 | — | —  |

  
Prof. Dr. Renato Marques  
Coordenador

  
Prof. Marco Aurélio de Mello Machado  
Chefe do Departamento de Solos.

PROF. DR. RENATO MARQUES  
Coordenador do LABINP  
Lab. de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas  
Matrículas: UFPR 157848 - SIAPE 0395815

OBS. : Os resultados restringem-se às amostras recebidas



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE SOLOS E  
ENGENHARIA AGRÍCOLA

Tel:

Estado: PR

Cep:

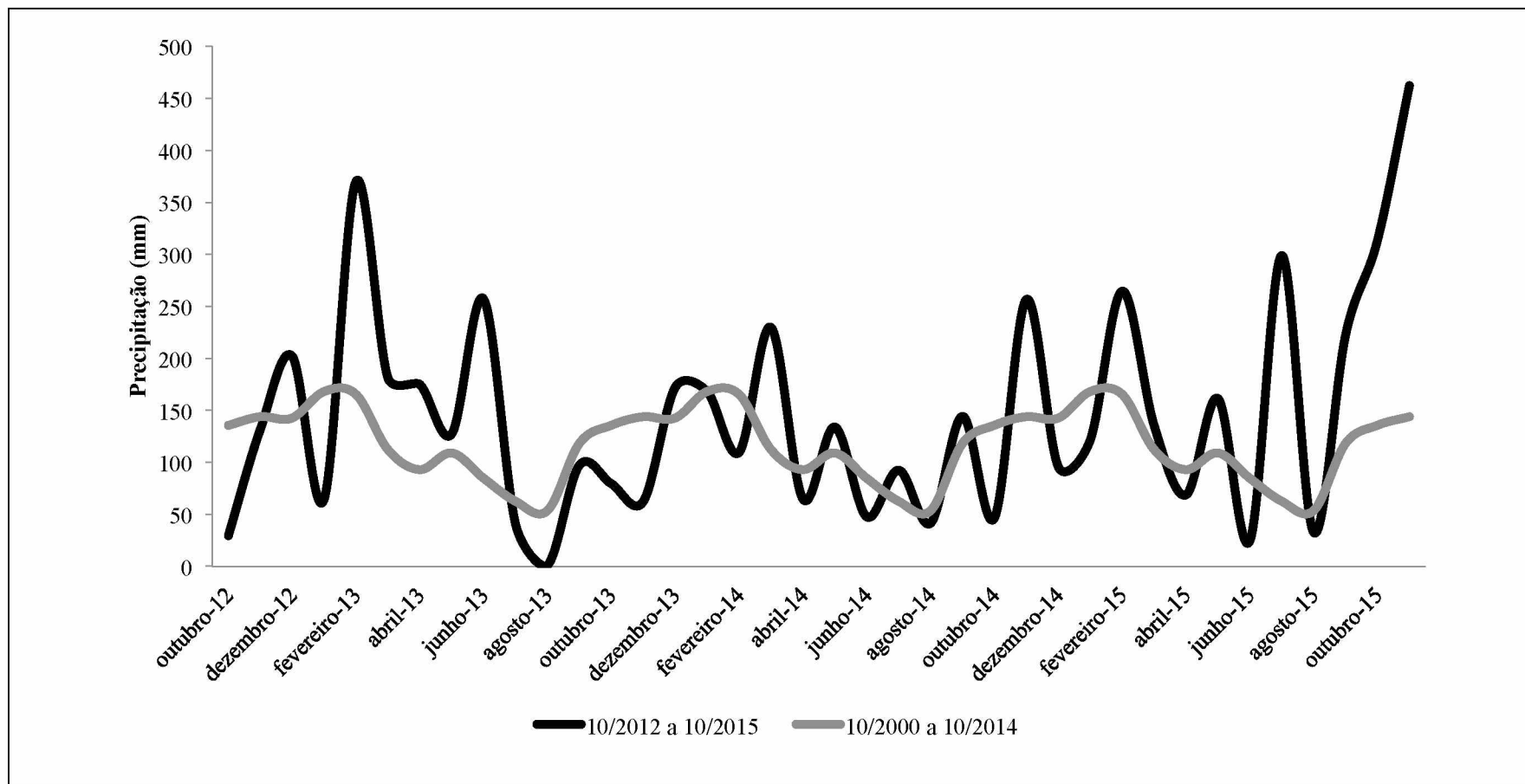
CERTIFICADO N 14236

LAUDO DE ANÁLISE DE SOLO - ROTINA

| Nº LAB | Identificação da Amostra | pH                |      | Al <sup>3+</sup> | H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | K <sup>+</sup> | SB   | T    | P    | S | C    | V  | m  | Ca/Mg |
|--------|--------------------------|-------------------|------|------------------|----------------------------------|------------------|------------------|----------------|------|------|------|---|------|----|----|-------|
|        |                          | CaCl <sub>2</sub> | SMP  |                  |                                  |                  |                  |                |      |      |      |   |      |    |    |       |
| 65122  | 1 - 0-20CM               | 5,50              | 7,00 | 0,00             | 2,40                             | 0,90             | 0,80             | 0,13           | 1,83 | 4,23 | 2,60 | - | 12,4 | 43 | 0  | 1,13  |
| 65123  | 2 - 20-40CM              | 4,30              | 6,80 | 0,50             | 2,70                             | 0,30             | 0,30             | 0,04           | 0,64 | 3,34 | 3,40 | - | 7,8  | 19 | 44 | 1,00  |



ANEXO 2. Precipitação pluvial (mm) ocorrida para o período de outubro de 2012 a Outubro de 2015 e a média histórica dos últimos 15 anos. Estação Experimental de Paranavaí – PR, UFPR, 2012/2015. Fonte: Estação Meteorológica IAPAR/SIMEPAR, Paranavaí - PR. 2016.



ANEXO 3. Temperaturas mínima ( $T^{\circ}\text{C min}$ ), máxima ( $T^{\circ}\text{C máx}$ ) e média ( $T^{\circ}\text{C méd}$ ) ocorridas no período de Outubro de 2012 a Outubro de 2015 e a média histórica dos últimos 15 anos. Estação Experimental de Paranavaí - PR, UFPR, 2012/2015. Fonte: Estação Meteorológica IAPAR/SIMEPAR, Paranavaí - PR. 2016.

