

Desenvolvimento inicial de duas variedades de cana-de-açúcar com e sem inoculação com bactérias diazotróficas⁽¹⁾.

Rafaela Eloi de Almeida Alves⁽²⁾; Doãn Martins Sperandio⁽³⁾; Vinícius Pedroso Lima⁽⁴⁾; Márcio dos Reis Martins⁽²⁾; Nivaldo Schultz⁽⁵⁾; Segundo Urquiaga⁽⁶⁾

⁽¹⁾Trabalho executado com recursos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

⁽²⁾Bolsista de Pós-Doutorado, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, rafaelaeloialves@gmail.com, bolsista PDJ CNPq, reismartins@yahoo.com.br, bolsista PAPD - CAPES/FAPERJ; ⁽³⁾Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, doanmartins@hotmail.com, bolsista CAPES; ⁽⁴⁾Discente do Curso de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, pedroso.lima@yahoo.com.br, bolsista PIBIC; ⁽⁵⁾Docente do Departamento de Solos, Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, nivaldods@ufrj.br; ⁽⁶⁾Pesquisador, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, segundo.urquiaga@embrapa.br

RESUMO: As pesquisas com o inoculante formulado com bactérias diazotróficas para a cana-de-açúcar apresentaram avanços significativos nos últimos anos, entretanto, a elevada variabilidade dos resultados requer o desenvolvimento de novos ensaios, através dos quais busca-se melhor entendimento do uso dessa tecnologia. O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de massa seca e o acúmulo de N total de duas variedades de cana-de-açúcar, com e sem inoculação com bactérias diazotróficas. O experimento foi instalado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com 2 variedades com e sem inoculação, com 4 repetições. As parcelas foram constituídas de 6 linhas com 5 metros de comprimento, espaçadas a 1,2 metros. Por tratar-se de um experimento destrutivo as avaliações foram realizadas em 1 m linear de sulco. Foram avaliados o peso da matéria seca e o acúmulo de N total aos 90 e 180 dias após o plantio (DAP). De maneira geral houve elevada variabilidade no acúmulo de matéria seca e N total nas duas avaliações, nas duas variedades, entretanto, na variedade RB867515 a inoculação promoveu aumento de matéria seca aos 90 DAP em relação ao controle. Na segunda avaliação não houve influência da inoculação nos parâmetros avaliados. Na comparação entre as duas variedades, a RB867515 apresentou acúmulo de matéria seca e N total superior à RB92579 aos 90 DAP no controle e na inoculação. Aos 180 DAP a variedade RB867515 foi superior à RB92579 somente para o acúmulo de matéria seca no tratamento inoculado.

Termos de indexação: inoculante, bactérias promotoras de crescimento, fixação biológica de nitrogênio.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a cana-de-açúcar foi uma das culturas que mais cresceu em área plantada no

Brasil avançando sobre novas fronteiras, influenciando de forma decisiva no desenvolvimento econômico, social e cultural das regiões onde novas unidades são instaladas. A cana-de-açúcar é uma cultura da qual se aproveita 100% de seus resíduos, despertando no meio científico o interesse de muitos especialistas e resultando em diversas linhas de pesquisas. Entre os fatores que tornam a cana-de-açúcar brasileira uma das mais eficientes culturas de produção energética do mundo encontram-se a fixação biológica de N atmosférico (FBN) resultante da interação com bactérias diazotróficas que habitam os tecidos das plantas endofiticamente (Baldani et al., 2009).

Aproximadamente 70% do N acumulado na biomassa da parte aérea da cana-de-açúcar é exportado nos colmos destinados à indústria (Schultz et al., 2010). Se a saída de N do sistema solo-planta é maior que a reposição, isto indica que a cultura possui um sistema natural de reposição eficiente do N (Urquiaga et al., 2012). Com base nestas evidências diversos estudos sugerem que esta reposição de N seja proveniente do processo de FBN (Urquiaga et al., 1992, 2012; Boddey et al., 2003; Oliveira et al., 2006;).

Um dos avanços da pesquisa com FBN em cana-de-açúcar foi a formulação do inoculante composto por cinco estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de tecidos de diferentes variedades de cana-de-açúcar (Oliveira et al., 2003). Silva et al. (2009) e Schultz et al. (2012; 2014) verificaram aumento de produtividade de colmos em ensaios desenvolvidos em diferentes condições edafoclimáticas. Os resultados obtidos com a inoculação da cana-de-açúcar em condições de campo indicam que existe potencial para o uso desta tecnologia, entretanto, é necessário dar continuidade aos ensaios de campo, visando a máxima otimização da tecnologia.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de massa seca e acúmulo de N total na fase inicial de desenvolvimento de duas variedades de cana-de-açúcar, com e sem inoculação com bactérias diazotróficas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em março de 2013, no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, no km 7 da rodovia BR 465, município de Seropédica, RJ (22°44'38" S e 43°42'28" W), 26 m de altitude. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com 4 tratamentos e 4 repetições em fatorial 2 x 2 (2 variedades x 2 tratamentos). As variedades avaliadas foram RB867515 e RB92579, provenientes do viveiro de mudas da usina Cruz Alta do grupo Guarani, localizada no município de Olímpia, São Paulo.

Os tratamentos foram duas variedades de cana-de-açúcar com e sem inoculação com bactérias diazotróficas. As parcelas foram constituídas de 6 linhas com 5 metros de comprimento, espaçadas a 1,2 metros, totalizando 36 m² por parcela.

Antes do preparo do solo foi realizada amostragem nas camadas de 0 a 20 e 20 a 40 cm de profundidade para a avaliação da fertilidade natural do solo. Ressalta-se que a área em questão permaneceu sob pastagem composta basicamente por colônias (*Panicum maximum*) e mistura de diferentes espécies de braquiárias (*Urochloa* sp.) por aproximadamente 21 anos. Os resultados da análise química de amostras de terra encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas do solo da área experimental antes do preparo do solo.

Prof	pH	Ca	Mg	Al	H+Al	V	P	K
cm	H ₂ O	-----	cmolc dm ⁻³	-----	-----	-%-	mg dm ⁻³	
0 – 20	5,47	0,80	0,31	0,21	2,33	31	3	16
20 – 40	5,22	0,67	0,19	0,45	2,16	25	2	6

A área foi roçada e então realizada uma aração e aplicação de calcário logo em seguida. Uma segunda aração foi realizada para incorporação do calcário. Após 40 dias da aplicação e incorporação foi realizada a abertura dos sulcos e realizada adubação. Para adubação de plantio foram aplicados no fundo dos sulcos, 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples; 100 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio; 40 kg ha⁻¹ de FTE BR12 (mistura de micronutrientes) e 0,4 kg ha⁻¹ de molibdênio, na forma de molibdato de amônio. Aproximadamente 60 dias após o plantio foi realizada uma adubação com mais 60 kg ha⁻¹ de K₂O, na forma de cloreto de potássio. A adubação foi realizada de acordo com a análise de solo e as necessidades nutricionais da cultura, não sendo aplicado fertilizante nitrogenado em nenhum momento do cultivo.

As cinco estirpes de bactérias diazotróficas que compõem o inoculante foram previamente testadas

e selecionadas por Oliveira et al. (2003), e estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Espécies de bactérias diazotróficas, estirpes, variedades e respectivas partes das plantas de cana-de-açúcar de onde foram isoladas.

Espécies	Estirpes	Variedades	Partes da planta
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR 11281	<i>Saccharum</i> sp.	Raízes
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR 11335	SP701143	Raízes
<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	BR 11504	SP701284	Colmos
<i>Azospirillum amazonense</i>	BR 11145	CB453	Colmos
<i>Bulkholderia tropica</i>	BR 11366	SP711406	Perfilhos

Todas as estirpes estão depositadas na coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia.

Para a obtenção do inoculante, as bactérias foram cultivadas em meio de cultura Dyg's (Rodrigues Neto et al., 1986) de forma individualizada. Em seguida, 75 mL de meio de cultura Dyg's, com população de 10⁹ células mL⁻¹ de cada estirpe, foram adicionados a 175 g de turfa estéril (pH final 6,0), e essa mistura foi acondicionada em saco de plástico de 250 g, para cada estirpe. A suspensão inoculante foi preparada com a diluição de uma dose contendo as cinco estirpes (5 sacos com 250 g) do inoculante em 200 L de água limpa.

As avaliações foram realizadas com corte de 1 m linear de perfilhos aos 90 e 180 DAP, os quais foram pesados inteiros aos 90 DAP e fracionados em colmos, palha seca e ponteiros aos 180 DAP. Após a pesagem foi retiradas subamostras das plantas inteiras (aos 90 DAP) e das diferentes frações (aos 180 DAP) e encaminhada para o laboratório para a determinação de peso fresco, secagem em estufa de circulação forçada a 65 °C e determinação de pesos seco. Com base nestas subamostras foram estimados os acúmulos de matéria seca e N total. Após a secagem e pesagem, as subamostras foram inicialmente passadas em moído tipo Willey (2 mm) e depois finamente moídas em um sistema similar ao de Arnold & Schepers (2004). Em seguida foram realizadas as determinações de N total, segundo o método semimicro-Kjeldahl (Nogueira & Souza, 2005).

Os dados foram submetidos à análise estatística para verificação da distribuição normal e a homogeneidade das variâncias pelo software SAEG 9.1. A análise de variância e o teste de médias foram realizados com auxílio do software SIVAR 4.3. As médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação realizada aos 90 DAP, a variedade



RB867515 inoculada apresentou matéria seca superior ao controle sem inoculação, não havendo diferença no acúmulo de N total entre o tratamento inoculado e o controle nesta mesma variedade (**Tabela 2**). Na variedade RB92579 não houve efeito da inoculação nos dois parâmetros avaliados aos 90 DAP. Comparando as duas variedades aos 90 DAP, a variedade RB867515 apresentou acúmulo de matéria seca e N total superior à RB92579, tanto no controle quanto no tratamento inoculado.

Tabela 2. Acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana-de-açúcar cultivadas com e sem inoculação com bactérias diazotróficas, colhidas aos 90 dias após o plantio.

Tratamento	RB867515		RB92579	
	Mat.seca (Mg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)	Mat.seca (Mg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)
Controle	1,73 bA	20,24 A	0,75 B	9,06 B
Inoculado	2,47 aA	29,07 A	0,99 B	11,79 B
CV (%)	37,39	40,93	37,39	40,93

Médias de 4 repetições. Letras maiúsculas comparam variedades nas linhas. Letras minúsculas comparam os tratamentos controle e inoculado nas colunas. CV: coeficiente de variação. Teste t LSD a 10% de significância.

Na avaliação realizada aos 180 DAP não foram verificadas diferenças entre o controle e o tratamento inoculado, nas duas variedades, tanto para matéria seca, quanto para o acúmulo de N total (**Tabela 3**). Entre as variedades, a RB867515 apresentou acúmulo de matéria seca superior à RB92579 no tratamento inoculado, não sendo verificadas diferenças entre as variedades para matéria seca no controle e N total nos dois tratamentos (inoculado e controle).

De maneira geral foi verificado elevada variabilidade dos dados, o que se confirma com os elevados valores dos coeficientes de variação.

Esta variabilidade acentuada pode ser resultado da diferença do potencial germinativo das gemas basais e apicais, influenciando diretamente o início da brotação e o desenvolvimento inicial das plantas.

Mesmo nestas condições a variedade RB867515 apresentou resposta à inoculação, confirmando seu potencial para o uso do inoculante, conforme já apresentados em outros trabalhos de campo, nos quais foram verificadas respostas à inoculação na colheita final.

Tabela 3. Acúmulo de matéria seca e N total de duas variedades de cana-de-açúcar cultivadas com e sem inoculação com bactérias diazotróficas, colhidas aos 180 dias após o plantio.

Tratamento	RB867515	RB92579
------------	----------	---------

	Mat.seca (Mg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)	Mat.seca (Mg ha ⁻¹)	N total (kg ha ⁻¹)
Controle	18,62	117,26	12,84	80,68
Inoculado	23,46 A	121,95	16,44 B	104,28
CV (%)	28,88	30,43	28,88	30,43

Médias de 4 repetições. Letras maiúsculas comparam variedades nas linhas. Letras minúsculas comparam os tratamentos controle e inoculado nas colunas. CV: coeficiente de variação. Teste t LSD a 10% de significância.

Silva et al. (2009) e Schultz et al. (2012, 2014), avaliando esta mesma variedade verificaram aumentos significativos no rendimento de colmos, com produtividades similares à adubações com 120 kg ha⁻¹ de N. Sobre os possíveis efeitos do inoculante no aumento do potencial produtivo da cana-de-açúcar ainda não se tem respostas conclusivas, porém, existem relatos sobre a atuação no aumento da eficiência da FBN (Oliveira et al. 2003), expressam de promotores de crescimento vegetal (Bashan et al., 2004; Videira et al., 2012), solubilização de fosfato (Singh et al., 2007; Shukla et al., 2008), aumento de N e retenção de nutrientes essenciais na rizosfera (Yadav et al., 2009).

CONCLUSÕES

A variedade RB867515 é responsiva à inoculação com bactérias diazotróficas na fase inicial de desenvolvimento, porém o acúmulo de N total não é afetado.

A variedade RB867515 é superior à RB92579 para o acúmulo de matéria seca e N total na fase inicial de desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Embrapa Agrobiologia pelo campo experimental e laboratórios, e aos órgãos de fomento CNPq e CAPES.

REFERÊNCIAS

Baldani JI; Teixeira KRS; Schwab S; Olivares FL; Hemerly AS; Urquiaga S; Reis VM; Nogueira EM; Araújo JLS; Baldotto LEB; Soares LHB; Vinagre F; Baldani VLD; Carvalho TLG; Alves BJR; James EK; Jantalia CP; Ferreira PCG; Vidal MS; Boddey RM. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família da Poaceae (antiga gramineae). In: Ribeiro MR; Araújo, JLS; Nascimento CW; Ribeiro Filho MR; Cantalice JRB. (Ed.). Tópicos em Ciência do Solo. 1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2009. p.203-271.

Bashan, Y; Holguin, G; Bashan, LE. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). Ca J Microbiol. 2004; 50:521-577.



Boddey RM; Urquiaga S; Alves BJR; Reis VM. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. *Plant Soil*. 2003; 252:139-149.

Dobbelaere S; Croonenborghs A; Thys A; Ptacek D; Okon Y; Vanderleyden J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol Fert Soils*. 2002; 36:284–297.

Oliveira ALM de; Canuto EL; Reis VM; Baldani JI. Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Braz J Microbiol*. 2003; 34:59-61. Supl.1.

Oliveira ALM de; Canuto EL; Urquiaga S; Reis VM; Baldani JI. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Plant Soil*. 2006; 284(1-2):23-32.

Schultz N; Lima E; Pereira MG; 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. *R Bras. Ci Solo*, 2010, 34:811-820.

Schultz, N.; Morais, RF; Silva, JA; Baptista, RB; Oliveira, RP; Leite, JM; Pereira, W; Carneiro Júnior, JB; Alves, B. JR; Baldani, JI; Boddey, RM; Urquiaga, S.; Reis, VM. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. *Pesqu Agropecu Bras*. 2012; 47(2):261-268.

Schultz, N; Silva, JA; Sousa, JS; Monteiro, RC; Oliveira, RP; Chaves, VA; Pereira, W; Silva, MF; Baldani, JI; Boddey, RM; Reis, VM; Urquiaga, S. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. *R. Bras. Ci. Solo*. 2014; 38:407-414.

Shukla, SK; Yadav, RL; Suman, A; Singh, PN. Improving rhizospheric environment and sugarcane ratoon yield through bio-agent amended farm yard manure in Udic ustochrept soil. *Soil Till Res*, 2008, 99:158–168.

Singh, KP; Suman, A; Singh, PN; Lal, M. Yield and soil nutrient balance of sugarcane plant ratoon system with conventional and organic nutrient management in subtropical India. *Nutr Cycl Agroecosyst*. 2007; 79:209-219.

Urquiaga S; Cruz KHS; Boddey RM. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. *Soil Sci Soc Am J*, 1992, 56:105-114.

Urquiaga S; Xavier R; Morais RF; Batista R; Schultz N; Leite JM; Resende A; Alves BJR.; Boddey RM. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data of the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. *Plant Soil*. 2012; 356:5-21.

Videira, SS; Oliveira, DM; Morais, RF; Borges, WL; Baldani, VL.D; Baldani, JI. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. *Plant Soil*. 2012; 356:51-66.

Yadav, RL; Suman, A.; Prasad, SR; Prakash, O. Effect of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Trichoderma viride* on soil health, yield and N-economy of sugarcane cultivation under subtropical climatic conditions of India. *Eur J Agron*. 2009; 30:296–30.