



# APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS VIA SISTEMA DE IRRIGAÇÃO PARA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA CANA-DE-AÇÚCAR

Welson Lima Simões<sup>1</sup>, Anderson Ramos de Oliveira<sup>2</sup>, Verônica Massena Reis<sup>3</sup>, Willian Pereira<sup>4</sup> & Jair Andrade Lima<sup>5</sup>

**RESUMO:** Os custos dos fertilizantes nitrogenados representam uma limitação ao cultivo da cultura da cana-de-açúcar, sendo uma das alternativas a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio. Entretanto, diante da competitividade do mercado, estudos ainda são necessários para determinação da forma mais viável para o fornecimento das bactérias. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de bactérias diazotróficas fixadoras de nitrogênio, via água de irrigação, no desenvolvimento da cana-de-açúcar. O experimento foi realizado na casa de vegetação da Embrapa Semiárido, em Petrolina-PE, no delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, onde se avaliou o comportamento das cultivares de cana-de-açúcar RB92579 e VAT90212 em duas épocas de aplicação: 10 e 20 dias após emergência e em três concentrações de solução inoculante de bactérias: 106, 107 e 108 células mL<sup>-1</sup>, aplicadas via sistema de irrigação. A cultivar RB92579 apresentou um desenvolvimento melhor que a cultivar VAT90212. A época mais adequada de aplicação das bactérias diazotróficas via sistema de irrigação é aos 10 dias após a emergência das plantas, em cana planta. A concentração de 106 células mL<sup>-1</sup> proporciona maior biomassa fresca e seca de colmo, sendo esta concentração a mais indicada para se proceder a inoculação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biometria, Cana Planta, Concentração De Inoculante.

## APPLICATION OF DIAZOTROPHIC BACTERIA BY IRRIGATION SYSTEM FOR BIOLOGICAL FIXATION OF NITROGEN IN SUGARCANE

**ABSTRACT:** The costs of nitrogen fertilizers represent a limitation to the cultivation of sugarcane. One of the alternatives to supply the demand is the use of nitrogen fixing bacteria. In irrigated crops, it is necessary to evaluate viable forms for the supply of bacteria. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of the application of nitrogen fixing diazotrophic bacteria by irrigation water in the development of sugarcane. The experiment was carried out in the greenhouse of Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, Brazil, in a randomized complete block design, with four replications, where the behavior of RB92579 and VAT90212 sugarcane varieties was evaluated in two application times: 10 and 20 days after emergence and in three concentrations of bacterial inoculum solution: 106, 107 and 108 mL<sup>-1</sup> cells, applied by irrigation water. The cultivar RB92579 presented better development than the cultivar VAT90212. The most appropriate time of application of the diazotrophic bacteria via irrigation system is at 10 days after the emergence of the plants, in plant cane. The concentration of 106 cells mL<sup>-1</sup> gives higher fresh and dry biomass of stalk, this concentration being the most appropriate for inoculation.

**KEYWORDS:** Biometry, Plant Cane, Inoculant Concentration.

## 1 INTRODUÇÃO

A adubação da cultura da cana-de-açúcar ocorre geralmente no sulco de plantio e em cobertura, antes do fechamento do canavial. A baixa taxa de aplicação de adubos nitrogenados, que apresentam um acentuado dinamismo na natureza, com suas transformações

químicas e seu elevado grau de mobilidade no solo, podendo proporcionar perdas em grande escala por meio da volatilização e da lixiviação nas épocas de chuva e/ou da aplicação de água via irrigação em excesso (VIERO et al., 2015). Considerando, ainda, que o Brasil é o líder na produção mundial de cana-de-açúcar, com área estimada em 9,05 milhões de hectares na safra 2016/2017 (CONAB, 2017) e que o nitrogênio é um dos elementos mais utilizados na sua adubação, elevadas perdas deste elemento podem estar acontecendo nas áreas de cultivo, aumentando consideravelmente os custos da atividade sucroalcooleira.

A extração de nitrogênio pela cultura é muito elevada, alcançando-se valores de requerimento próximos a 130

<sup>1</sup> Embrapa Semiárido. Pesquisador da Embrapa Semiárido. E-mail: [welson.simoese@embrapa.br](mailto:welson.simoese@embrapa.br)

<sup>2</sup> Embrapa Semiárido. Pesquisador da Embrapa Semiárido. E-mail: [anderson.oliveira@embrapa.br](mailto:anderson.oliveira@embrapa.br)

<sup>3</sup> Embrapa Agrobiologia. Pesquisadora da Embrapa Agrobiologia. E-mail: [veronica.massena@embrapa.br](mailto:veronica.massena@embrapa.br)

<sup>4</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Estudante de doutorado da UFRJ. E-mail: [wilpimg@gmail.com](mailto:wilpimg@gmail.com)

<sup>5</sup> Universidade de Pernambuco. Departamento de Ciências Biológicas. E-mail: [jairred@hotmail.com](mailto:jairred@hotmail.com)

kg ha<sup>-1</sup> de N para bons rendimentos em colmo (OLIVEIRA et al., 2017), por isso recomenda-se, em cana planta, que a adubação seja de 30 kg ha<sup>-1</sup> no plantio + 30 a 60 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura. Em cana soca, com produtividade estimada em 100 t ha<sup>-1</sup>, a recomendação é que a reposição de nitrogênio seja feita com base em 120 kg ha<sup>-1</sup>.

A cana-de-açúcar utiliza outras fontes de N além do fertilizante, como é o caso do N proveniente da mineralização da palhada que pode ser disponibilizado para a planta no final do ciclo da cultura, contribuindo para reduzir a necessidade de adubação química (FORTES et al., 2013). Outra forma diz respeito à fixação biológica de nitrogênio por bactérias que se associam às raízes das plantas de cana-de-açúcar (BARBOSA; CONSALTER; MOTTA, 2012).

Pesquisas vêm sendo realizadas nos últimos anos sobre inoculação com bactérias diazotróficas. Segundo Rodrigues et al. (2016), essas bactérias são benéficas às plantas e possuem a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos do vegetal e promoverem o crescimento das plantas, onde fixam o N<sub>2</sub> da atmosfera, disponibilizando-o para o vegetal na forma de subprodutos de natureza amoniacal.

Nesse sistema simbiótico, as bactérias são beneficiadas, uma vez que o interior dos tecidos das raízes das plantas representa uma estrutura protetora contra condições ambientais desfavoráveis que poderiam causar estresses de ordem biótica e abiótica (RAO, 2014) e, em contrapartida, as bactérias podem promover o crescimento da planta por meio de mecanismos de forma direta ou indireta, sendo que as ações incluem a fixação biológica de nitrogênio, a produção de fitormônios (SOUZA; AMBROSINI; PASSAGLIA, 2015), a síntese de sideróforo (PANDEY et al., 2017), a solubilização de fósforo e potássio (MUTHUKUMARASAMY et al., 2017), a aceleração da emergência das plântulas (GAIERO et al., 2013), entre outros. Estudos realizados em áreas de produção de cana-de-açúcar no Brasil indicaram que a FBN pode contribuir naturalmente com 50% de todo o N acumulado pelas plantas (SCHULTZ, 2012).

Ao estudarem a inoculação de duas cultivares de cana-de-açúcar utilizando-se estirpes de bactérias diazotróficas endofíticas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e *Burkholderia tropica*) Chaves et al. (2015) constataram que algumas bactérias foram eficientes na produção de auxina e que outras aumentaram o índice de velocidade de germinação e o número de brotações. Schultz et al. (2014) constataram que a inoculação da cultivar de cana-de-açúcar RB72454 com um conjunto de estirpes de bactérias resultou em produtividade de colmos semelhante ao alcançado com a utilização de adubação nitrogenada com 120 kg de N por hectare. Oliveira e Simões (2016) também constataram influência positiva da inoculação de bactérias na cultura da cana-de-açúcar, sendo a variável número de perfilhos em cana planta o fator mais responsivo à inoculação.

Contudo, estes autores relatam que o comportamento de outras variáveis como o número de colmos e a altura das plantas está mais relacionado às diferenças entre cultivares do que à presença de bactérias fixadoras.

Atualmente, o desafio da pesquisa tem sido desenvolver técnicas para inoculação no campo, principalmente durante o plantio da cana-de-açúcar, que ocorre via propagação vegetativa com toletes de três gemas. Os trabalhos de Schultz et al. (2014) e Oliveira e Simões (2016), utilizando a metodologia de inoculação via imersão em solução alcançaram bons resultados no campo para cana planta, contudo, a impossibilidade de realizar a imersão em cana soca reduziu a influência das bactérias na fixação de N. Já, Pedula et al. (2016), estudando a fixação biológica de N na cultivar RB92579, por meio de imersão dos toletes na solução inoculante, observaram aumento no acúmulo de biomassa seca e índice de área foliar desta cultivar em cana planta.

Assim, devido à baixa eficiência operacional do processo de inoculação via imersão dos toletes, outras formas de inoculação foram testadas. Prado Junior (2008), testando a aplicação das bactérias via pulverização, no momento do corte no sulco de plantio, nas cultivares de cana-de-açúcar RB72454 e IAC SP936006, obteve resposta para a cultivar RB72454 inoculada com uma concentração ao redor de 10<sup>7</sup> células mL<sup>-1</sup> de *Gluconacetobacter diazotrophicus* estirpe PAL5. Já a cultivar IAC SP936006 apresentou diferenças entre os tratamentos apenas com 15% de significância. Em trabalho realizado para cana soca, Oliveira et al. (2006) apresentaram dados de produtividade, entretanto, os resultados referem-se aos efeitos residuais da inoculação, uma vez que não houve reinoculação.

Deve-se salientar que concentrações elevadas de bactérias não conferem, necessariamente, aumentos de produtividade da cultura. No estudo de Prado Junior (2008) observou-se que o tratamento com maior contagem de bactérias não correspondeu ao tratamento com maior ganho de produtividade, indicando que apenas a contagem de bactérias não reflete o potencial de fixação da associação.

Em virtude da constante ampliação do cultivo irrigado com cana-de-açúcar, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da aplicação de um conjunto de estirpes de bactérias via água de irrigação na fixação biológica de nitrogênio e no desenvolvimento das cultivares de cana-de-açúcar RB92579 e VAT90212.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Semiárido, situada no município de Petrolina, PE (latitude: 9°09'S, longitude: 40°22'W, altitude: 365,5 m). O clima da região é do tipo BSwh (ARAÚJO, 2011), segundo a classificação de Köppen, o qual é formado por um conjunto de espaços que se caracterizam pelo balanço hídrico negativo, resultante das precipitações médias anuais inferiores a 800 mm, insolação média de 2.800 h ano<sup>-1</sup>, temperaturas médias anuais de 23 a 27 °C,

evaporação de 2.000 mm ano<sup>-1</sup> e umidade relativa do ar média em torno de 50%.

Utilizaram-se vasos de polietileno com capacidade para 7,0 dm<sup>3</sup> de solo, sendo o solo coletado em área de caatinga preservada. Em cada vaso foram plantados, na profundidade de aproximadamente 10 cm, toletes seccionados contendo duas gemas das cultivares selecionadas para o estudo.

O solo foi previamente analisado (Tabela 1) e esterilizado em autoclave (120 °C e 1 atm<sup>-1</sup>) durante uma hora, em três dias consecutivos. De acordo com os

resultados obtidos, foi realizada a adubação dos macronutrientes, sem nitrogênio e adubação de micronutrientes, seguindo recomendação para a cultura, incluindo a aplicação de calcário dolomítico a 45 dias antes do plantio.

Na análise física do solo, observou-se 73% de areia, 19% de silte e 8% de argila. A umidade na capacidade de campo (CC) foi de 12,7 dag kg<sup>-1</sup> e as irrigações dos vasos foram realizadas em dias alternados, com auxílio do aparelho TDR, para manter a umidade do solo próximo à capacidade de campo.

**Tabela 1 - Teores de alguns nutrientes no início do experimento, Petrolina, PE.**

M.O.	pH	CE	K	Ca	Mg	Na	Al	H+Al	SB	CTC	V	P	Cu	Fe	Mn	Zn
g kg <sup>-1</sup>		dS m <sup>-1</sup>				cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>					%		mg dm <sup>-3</sup>			
10,24	4,8	0,6	0,28	1,4	0,4	0,04	0,05	1,48	2,12	3,6	59	4,2	0,2	9,1	12	1,1

SB = soma de bases trocáveis; CTC= capacidade de troca catiônica efetiva; V = índice de saturação por bases.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro repetições, onde se avaliou o comportamento das cultivares de cana-de-açúcar RB92579 e VAT90212 associadas a duas épocas de aplicação: 10 e 20 dias após emergência (DAE), três concentrações da solução inoculante de bactérias para fixação biológica de nitrogênio: 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup> e 10<sup>8</sup> células mL<sup>-1</sup>, denominadas de C1, C2 e C3, respectivamente, compostas por turfa e mistura contendo cinco estirpes de bactérias diazotróficas: *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *Azospirillum amazonense* e *Burkholderia tropica*, que foram aplicadas via água de irrigação. A turfa com as bactérias inoculantes foi preparada no Laboratório de Inoculantes da Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ, acondicionada em caixa de papel e enviada para o local de realização do experimento.

Aos 70 dias após a emergência das plantas foram avaliadas a altura da planta; o número de folhas; o teor de clorofila, com uso do clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corporation, Ramsey, USA), avaliando as folhas +3, completamente desenvolvidas. Realizou-se, ainda, a avaliação da área foliar com uso do aparelho da LI-COR, modelo LI 3100 e, logo após o corte raso das mesmas, avaliou-se a produção de biomassa (fresca e seca das folhas, dos colmos com pecíolo e das raízes). A obtenção da biomassa radicular foi realizada por meio da lavagem do solo dos vasos em peneira (malha 2 mm) para separação das raízes. Para determinação da biomassa seca, as amostras foram colocadas em estufa de secagem a 65°C até estabilização de seus pesos. Após esta etapa, foram feitas análises dos teores de nitrogênio totais das folhas, dos colmos e das raízes das plantas, com uso de amostras de 200 mg de material seco e moído, por digestão sulfúrica, seguida de destilação e titulação.

Os dados foram submetidos à análise de variância (programa SAS) e as médias, conforme sua natureza, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ou utilizadas em modelos de regressão para explicar os fenômenos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 é apresentado um resumo da análise, onde se observa que as variáveis altura de plantas e teor de clorofila diferenciaram-se apenas em função da cultivar estudada. As variáveis: área foliar, biomassa das folhas frescas e biomassa das folhas secas foram influenciadas pelo tipo de cultivar e pela concentração do inoculante. A variável biomassa da raiz fresca, por sua vez, foi influenciada pela cultivar, pela época de aplicação e pela interação dos fatores cultivar e concentração do inoculante. A raiz seca só respondeu significativamente às diferentes concentrações do inoculante. As biomassas do colmo fresco e seco apresentaram comportamento similar e diferenciaram-se em função das fontes isoladas de variação. Para colmo fresco a interação época de aplicação e concentração do inoculante foi significativa. Já a biomassa do colmo seco foi influenciada pelos fatores (cultivar, época de aplicação e concentração do inoculante) isoladamente.

**Tabela 2** – Resumo da análise de variância contendo os quadrados médios para altura, teor de clorofila, área foliar, biomassas da folha fresca e seca, raiz fresca e seca e colmo fresco e seco. Petrolina – PE.

Fonte de Variação	GL	Variáveis				
		Altura	Teor de Clorofila	Área foliar	Biomassa da Folha Fresca	Biomassa da Folha Seca
Cultivar (C)	1	1245,4219*	68,02040*	153454,08*	44,08333*	24,79687*
Época de Aplicação (EAP)	1	12,5052	1,89607	14214,0833	12,00000	1,96020
C x EAP	1	11,5052	23,43607	1776,3333	1,20333	0,63020
Concentração do Inoculante (CI)	2	58,9739	15,18107	66947,521*	102,41333*	8,79937*
C x CI	2	23,7344	15,68640	41376,0208	17,87583	2,71312
EAP x CI	2	12,6927	3,06682	19263,8958	11,71750	0,45770
C x EAP x CI	2	8,8489	10,56032	19975,1458	31,37333	0,91145
Resíduo	36	11,9080	6,66360	14464,1667	0,77937	0,77937
CV (%)		9,9692	9,28517	13,4690	10,90934	12,10382

  

Fonte de Variação	GL	Variáveis			
		Biomassa da Raiz Fresca	Biomassa da Raiz Seca	Biomassa do Colmo Fresco	Biomassa do Colmo Seco
Cultivar (C)	1	208,2500*	0,2700	3370,1008*	133,0002*
Época de Aplicação (EAP)	1	98,8428*	1,2033	67,2133*	4,0252*
C x EAP	1	17,4243	1,6875	0,4800	0,0752
Concentração do Inoculante (CI)	2	0,8593	1,9827*	317,6858*	7,7725*
C x CI	2	24,4210*	1,3169	38,4808	2,5608
EAP x CI	2	9,8708	1,0252	45,7758*	0,4008
C x EAP x CI	2	4,3644	1,0294	0,1575	0,6608
Resíduo	36	7,1494	0,3986	13,3162	0,4458
CV (%)		23,3547	13,9398	14,2151	13,7484

\* = significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Com exceção da variável raiz seca, todas as demais variáveis foram influenciadas pela variedade cultivada (Tabela 02). Assim, a análise comparativa das cultivares é apresentada na Tabela 03. Nota-se que para todas as variáveis, a cultivar RB92579 mostrou-se com resultados superiores à VAT90212.

**Tabela 3** - Médias de altura, teor de clorofila total (SPAD), área foliar, biomassa de folha fresca e folha seca, biomassa de raiz fresca, biomassa de colmo fresco e colmo seco em função das cultivares

Variáveis	Cultivares	
	RB92579	VAT90212
Altura (cm)	39,70 A	29,52 B
Teor de clorofila (SPAD)	28,99 A	26,61 B
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	949,46 A	836,38 B
Folhas frescas (g)	27,12 A	25,20 B
Folhas secas (g)	8,01 A	6,57 B
Raiz fresca (g)	13,53 A	9,37 B
Colmo fresco (g)	34,05 A	17,29 B
Colmo seco (g)	6,52 A	3,19 B

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As diferenças podem ser atribuídas às características intrínsecas de cada cultivar, demonstrando que os parâmetros genéticos, independentemente das condições

de manejo (época de aplicação e concentração do inoculante) explicam o fenômeno. Em estudo realizado por Silva (2012), com algumas cultivares de cana-de-açúcar, dentre as quais foram testadas as cultivares RB92579 e VAT90212, foi verificado que a cultivar RB92579 apresentou maior índice de área foliar, menor comprimento e número de folhas do que a cultivar VAT90212. Entretanto, Oliveira et al. (2016) avaliaram o crescimento de cultivares de cana-de-açúcar irrigadas por gotejamento subsuperficial no Semiárido brasileiro e não observaram diferenças em altura das cultivares RB92579 e VAT90212.

O teor de clorofila observado para a cultivar RB92579 (28,99 µg cm<sup>-2</sup>) foi similar ao encontrado por Sousa (2013) em estudo realizado, sob adubação convencional (30,08 µg cm<sup>-2</sup>). Assim, depreende-se da Tabela 3 que o teor de clorofila das cultivares submetidas à fixação biológica de nitrogênio e sem adubação química, não compromete o aparato fotossintético das plantas, uma vez que o nitrogênio disponibilizado pela fixação biológica supre a demanda de N da planta. Salienta-se que o N é um elemento estruturante e fundamental da molécula de clorofila, sendo que esta tem influência direta na capacidade fotossintética, pois é responsável pela interceptação da luz que é utilizada nas reações fotoquímicas (HOUBORG et al., 2015).

A variável biomassa da raiz fresca, bem como a biomassa do colmo fresco e do colmo seco, além das diferenças entre cultivares, apresentaram diferenças em função da época de aplicação do inoculante (Tabela 03), cujas médias são apresentadas na Tabela 04.

**Tabela 4** - Médias de biomassa da raiz fresca e dos colmos fresco e seco em função da época de aplicação do inoculante

Variáveis	Época de aplicação	
	10 DAE	20 DAE
Raiz fresca (g)	12,88 A	10,01 B
Colmo fresco (g)	26,85 A	24,49 B
Colmo seco (g)	5,15 A	4,57 B

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Estes resultados podem auxiliar no manejo da aplicação do inoculante, uma vez que para as variáveis analisadas, a aplicação com 10 dias após a emergência proporciona maior biomassa radicular e maior biomassa do colmo. O maior desenvolvimento radicular possibilita que a planta explore maior volume de solo e, conseqüentemente, apresente maior potencial para a produção, o qual é observado pelo aumento na biomassa do colmo.

A penetração da bactéria nas raízes das cultivares de cana-de-açúcar pode ter sido facilitada pelas radículas das plantas, uma vez que a bactéria utiliza-se das pontas das raízes, principalmente da parte meristemática, para invadir o tecido do hospedeiro e promover a colonização (ESKIN et al., 2014). Além disso, aos 10 dias, as raízes são mais tenras e estão mais propícias aos danos causados pela abrasão com o solo durante seu processo de crescimento, o que pode facilitar a penetração das bactérias em seu interior pelas feridas (SANTOYO et al., 2016).

**Tabela 5** - Médias de área foliar, de biomassa de folhas fresca e seca, de biomassa de raiz seca e de biomassa de colmos fresco e seco de cultivares de cana-de-açúcar em função da concentração do inoculante

Concentração do Inoculante (Células mL <sup>-1</sup> )	Área Foliar (cm <sup>2</sup> )	Biomassa de Folha Fresca (g)	Biomassa de Folha Seca (g)	Biomassa de Raiz Seca (g)	Biomassa de Colmo Fresco (g)	Biomassa de Colmo Seco (g)
10 <sup>6</sup>	963,94 A	28,775 A	8,0125 A	4,8000 A	29,725 A	5,3938 A
10 <sup>7</sup>	877,44 AB	25,975 B	7,3375 A	4,6563 AB	26,388 B	5,1063 A
10 <sup>8</sup>	837,38 B	23,725 B	6,5313 B	4,1312 B	20,900 C	4,0688 B
dms	103,93	2,4661	0,7629	0,5456	3,1536	0,577

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A área foliar das cultivares demonstrou diferença entre a maior concentração (10<sup>8</sup> células mL<sup>-1</sup>) do inoculante e a menor concentração (10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup>), sendo que esta contribuiu para maior área da folha, não diferindo-se da concentração de 10<sup>7</sup> células mL<sup>-1</sup>. Resultados semelhantes foram observados para biomassa da folha seca, biomassa da raiz seca e biomassa seca do colmo. Em relação à biomassa da folha fresca, observou-se que apenas a menor concentração garantiu maior biomassa e, ao analisar-se a biomassa fresca do colmo, as três concentrações estudadas contribuíram de forma diferenciada nesta variável.

De maneira geral, e tomando-se por base as variáveis mais importantes na cultura da cana-de-açúcar, que são a biomassa fresca e seca dos colmos, verifica-se que a

As variáveis número de folhas e teores de N na raiz, na folha e no colmo não apresentaram diferenças significativas em função das cultivares, concentrações, época de aplicação ou mesmo entre as combinações destas fontes de variação. A média de número de folhas foi de 5,92; em relação aos teores de N nos diferentes compartimentos, sendo determinados os seguintes valores médios: 5,7; 8,6 e 4,8 g kg<sup>-1</sup> de N para raiz, folhas e colmo, respectivamente. Tais resultados, ainda que não apresentem diferenças entre os tratamentos, são relevantes, pois demonstram que a FBN promovida pelas bactérias é eficiente na reposição das necessidades de N nas plantas, uma vez que os valores médios encontrados nos diferentes compartimentos são similares àqueles encontrados em plantas submetidas à adubação convencional, como no estudo de onde se pode inferir que a adubação química pode ser reduzida ou mesmo substituída pela FBN. Os resultados ora observados são semelhantes aos encontrados por (GÍRIO, 2014), que verificaram teores de 8,81 g kg<sup>-1</sup> na parte área e 4,43 g kg<sup>-1</sup> de N em cultivares de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e concluíram que o inoculante não promoveu aumento nos teores de N, porém apresentou efeito promotor de crescimento em plantas.

Em relação à concentração de inoculante verificou-se que os teores proporcionaram comportamento diferenciado nas variáveis: área foliar, biomassa da folha fresca e seca, biomassa da raiz seca e biomassa do colmo fresco e seco da cana-de-açúcar. Tais diferenças podem ser observadas na Tabela 05.

concentração de 10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup> é mais eficiente na obtenção de maiores biomassas. Tal resultado corrobora os resultados de Prado Júnior (2008), ao constatar que maiores concentrações de bactérias não condicionam maiores produtividades na cultura.

Nos estudos sobre a utilização de bactérias diazotróficas na cultura da cana-de-açúcar, uma das práticas mais utilizadas é a imersão dos toletes (cortes do colmo da cana-de-açúcar) na solução inoculante, previamente ao plantio, por um período de 30 a 60 minutos (PEDULA et al., 2016). Contudo, esta prática é onerosa e apresenta baixa eficiência, principalmente se considerarmos áreas grandes de plantio. Assim, a possibilidade de se fazer a inoculação das bactérias com inoculantes líquidos, via sistema irrigação facilita e reduz custos de aplicação.

De acordo com Bashan et al. (2014), os inoculantes líquidos apresentam vantagens que são a maior eficiência de uso, não são contaminantes, reduzem estresses ambientais e têm vida útil mais longa

#### 4 CONCLUSÃO

A época de aplicação mais indicada para a inoculação das bactérias fixadoras de nitrogênio, via sistema de irrigação, é aos 10 dias após a emergência das plantas.

A concentração do inoculante de  $10^6$  de células  $\text{mL}^{-1}$  favorece o maior acúmulo de biomassa fresca e seca do colmo.

#### 5 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, S. M. S. A região semiárida do nordeste do Brasil: Questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. **Rios Eletrônica - FASETE**, Paulo Afonso, v. 5, n. 5, p. 89-98, 2011.

BARBOSA, J. B.; CONSALTER, R.; MOTTA, A. C. V. Fixação biológica de nitrogênio em Poaceae. **Evidência**, Joaçaba, v. 12, n. 1, p. 7-18, 2012.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.; PRABHU, S.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, Crawley, v. 378, n. 1/2, p. 1-34, 2014.

CHAVES, V. A.; SANTOS, S. G.; SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; REIS, V. M. Desenvolvimento inicial de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 6, p. 1595-1602, 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2017**. Brasília, DF: Conab, 2017. 77 p.

ESKIN, N.; VESSEY, K.; TIAN, L. Research progress and perspectives of nitrogen fixing bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, in monocot plants. **International Journal of Agronomy**, Cairo, v. 2014, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/208383>.

FORTES, C.; VITTI, A. C.; OTTO, R.; FERREIRA, D. A.; FRANCO, H. C. J.; TRIVELIN, P. C. O. Contribution of nitrogen from sugarcane harvest residues and urea for crop nutrition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 5, p. 313-320, 2013.

GAIERO, J. R.; McCALL, C. A.; THOMPSON, K. A.; DAY, N. J.; BEST, A. S.; DUNFIELD, K. E. Inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 100, n. 9, p. 1738-1750, 2013.

GÍRIO, L. A. S. **Eficiência agrônômica de bactérias diazotróficas na cultura da cana de açúcar**

(*Saccharum spp.*). 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

HOUBORG, R.; McCABE, M. F.; CESCATTI, A.; GITELSON, A. A. Leaf chlorophyll constraint on model simulated gross primary productivity in agricultural systems. **International Journal of Applied Earth Observations and Geoinformation**, Amsterdam, v. 43, p. 160-176, 2015.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; VADIVELU, M.; ARUN, K. Isolation of bacterial strains possessing nitrogen-fixation, phosphate and potassium-solubilization and their inoculation effects on sugarcane. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v. 55, n. 3, p. 161-170, 2017.

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**, Crawley, v. 284, n. 1/2, p. 23-32, 2006.

OLIVEIRA, A. P. P.; ALVES, B. J. R.; ANJOS, L. H. C.; LIMA, E.; ZONTA, E.; PEREIRA, W.; SOARES, P. F. C. Agronomic performance of green cane fertilized with ammonium sulfate in a coastal tableland soil. **Bragantia**, Campinas, v. 76, n. 2, p. 246-256, 2017.

OLIVEIRA, A. R.; BRAGA, M. B.; SANTOS, B. L. S.; WALKER, A. M. Biometria de cultivares de cana-de-açúcar sob diferentes reposições hídricas no Vale do Submédio São Francisco. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 31, n. 1, p. 48-58, 2016.

OLIVEIRA, A. R.; SIMÕES, W. L. Cultivares de cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas em condições irrigadas no semiárido brasileiro. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 31, n. 2, p. 154-161, 2016.

PANDEY, P. K.; SINGH, M. C.; SINGH, S.; SINGH, A.; KUMAR, M.; PATHAK, M.; SHAKYWAR, R. C.; PANDEY, A. K. Inside the plants: endophytic bacteria and their functional attributes for plant growth promotion. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Tamil Nadu, v. 6, n. 2, p. 11 -21, 2017.

PEDULA, R. O.; SCHULTZ, N.; MONTEIRO, R. C.; PEREIRA, W.; ARAÚJO, A. P.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Growth analysis of sugarcane inoculated with diazotrophic bacteria and nitrogen fertilization. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 11, n. 30, p. 2786-2795, 2016.

PRADO JUNIOR, J. P. Q. **Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar inoculada com *Gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico**. 2008. 45 f. Dissertação (Mestrado em

Agricultura Tropical e Subtropical)-Instituto Agrônomo, Campinas.

RAO, D. L. N. Recent advances in biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, Calcutá, v. 80, n. 2, p. 359-378, 2014.

RODRIGUES, A. A.; FORZANI, M. V.; SOARES, R. S.; SIBOV, S. T.; VIEIRA, J. D. G. Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 2, p.149-158, 2016.

SANTOYO, G.; HAGELSIEB, G. M.; MOSQUEDA, M. C. O.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, Bruxelas, v. 183, p. 92-99, 2016.

SCHULTZ, N. **Fixação biológica de nitrogênio associada à cultura da cana-de-açúcar: eficiência e contribuição da inoculação com bactérias diazotróficas**. 2012. 126 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SCHULTZ, N.; SILVA, J. A. S.; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; OLIVEIRA, R. P.; CHAVES, V. A.; PEREIRA, W.; SILVA, M. F.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 3, n. 2, p. 407-414, 2014.

SILVA, V. S. G. **Estado nutricional, acúmulo de nutrientes, qualidade do caldo e produção de açúcares por quatro variedades de cana**. 2012. 28 f. Monografia (Bacharelado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.

SOUSA, J. P. S. **Avaliação ecofisiológica e metabólica de quatro variedades de cana-de-açúcar**. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Sergipe, Sergipe.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 4, p. 401-419, 2015.

VIERO, F.; BAYER, C.; VIEIRA, R. C. B.; CARNIEL, E. Management of irrigation and nitrogen fertilizers to reduce ammonia volatilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 6, p. 1737-1743, 2015.