

## INOCULAÇÃO DE BACTERIAS DIAZOTRÓFICAS NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CANA-DE-AÇÚCAR, VARIEDADE RB867515.

RENAN VITORINO<sup>1</sup>; JULIO C. GARCIA<sup>2</sup>; CARLOS A. AZANIA<sup>3</sup>; DANILO M. SILVA<sup>1</sup>;  
LUCAS R. BELUCI<sup>1</sup>.

Nº 12115

### RESUMO

Avaliou-se a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, variedade RB 867515, em casa de vegetação, em Ribeirão Preto, SP. O ensaio foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado em 6 repetições. As parcelas foram constituídas de vasos plásticos de 12 litros, com Neossolo Quartzarênico. Foi realizada uma adubação básica, comum a todos os tratamentos, referente a 120 kg. ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 1,15 t.ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico variando somente as doses de nitrogênio (120 e 60 kg.ha<sup>-1</sup>) e formas de inoculação das bactérias diazotróficas, conforme os tratamentos: 1. Adubação básica sem nitrogênio; 2 Adubação básica com metade da dose nitrogenada; 3. Adubação básica com dose normal de nitrogênio; 4. Adubação básica, sem adubação nitrogenada com inoculação por imersão dos toletes durante 1 hora; 5. Adubação básica, sem adubação nitrogenada, acrescida de pulverização com o inoculante. O inoculante consiste numa solução contendo 10<sup>7</sup> células por litro de calda, contendo as estirpes: BR11335 (*Herbaspirillum seropedicae*), BR11504 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), BR11281T (*Gluconacetobacter diazotrophicus*), BR11366T (*Burkholderia tropicalis*) e BR11145 (*Azospirillum amazonense*). Foi avaliado altura de plantas e número de perfilhos. Concluiu-se que a inoculação por imersão proporcionou a mesma altura de plantas no desenvolvimento inicial cana-de-açúcar comparado com a adubação mineral. Para o número de perfilhos, a adubação mineral propiciou maiores médias comparado com as formas de inoculação.

<sup>1</sup> Bolsista CNPq: Graduação em Eng. agrônoma, FAFRAM, Ituverava  
renan-vitorino@hotmail.com

<sup>2</sup> Orientador: Pesquisador, IAC, Ribeirão Preto.

<sup>3</sup> Colaborador: Pesquisador, IAC, Ribeirão Preto

## ABSTRACT

It was evaluated the efficiency of biological nitrogen fixation in the initial development of sugarcane, variety RB 867515, in a greenhouse located in the Ribeirão Preto, SP. The trial was conducted in a completely randomized design with six replications. The plots consisted of plastic pots with 12 liter each, using a sand soil. It was performed a basic fertilization, common to all treatments, relative to 120 kg. ha<sup>-1</sup> of K<sub>2</sub>O and P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; and 1,15 t. ha<sup>-1</sup> of lime varying only nitrogen rates (120 and 60 kg.ha<sup>-1</sup>) and inoculations forms of diazotrophs bacterias, according to the treatment: 1- Basic fertilization without nitrogen; 2. Basic fertilization with half dose of nitrogen; 3. Fertilization with normal dose of nitrogen; 4. Basic fertilization, without nitrogen with inoculation by immersion of cuttings for 1 hour; 5. Basic fertilization, without nitrogen with addition of spraying the inoculants. The inoculants consist of a solution containing 10<sup>7</sup> cells per liter of solution, containing strains: BR11335 (*Herbaspirillum seropedicae*), BR11504 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*), BR11281T (*Gluconacetobacter diazotrophicus*), BR11366T (*Burkholderia tropical*) and BR11145 (*Azospirillum amazonense*). It was evaluated the fresh and dry weight of shoots, plant height, tillers number and chlorophyll content at 60, 90 and 120 days after planting. It was concluded that inoculation in the form of immersion provided the same fresh weight of shoots in relation to levels of nitrogen applied, however, the dry weight was higher in treatments with mineral fertilizer. The inoculation by immersion provided the same plant height in the initial development of sugarcane compared with mineral fertilization. For number of tillers, chemical fertilizers resulted in higher average compared with the forms of inoculation.

## INTRODUÇÃO

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

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

participando direta ou indiretamente de processos bioquímicos e reações enzimáticas, bem como constituinte da molécula de clorofila (Malavolta, 1980).

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

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

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

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

Com isso, objetivou-se estudar formas de inoculação de bactérias diazotróficas comparadas com adubação mineral no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, em Neossolo Quartzarênico.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, município de Ribeirão Preto, SP. O ensaio foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado em 6 repetições. As parcelas foram constituídas de vasos plásticos de 12 litros, preenchidos com solo previamente peneirado, caracterizado como Neossolo Quartzarênico, cuja análise encontra-se na Tabela 1. Uma adubação básica, comum a todos os tratamentos, foi realizada conforme recomendação do Boletim 100 do IAC, referente a 120 kg. ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 1,15 t.ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico variando somente as

doses de nitrogênio ( 120 e 60kg.ha<sup>-1</sup>), bem como as formas de inoculação das bactérias diazotróficas, conforme descrição dos tratamentos a seguir:

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

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

pH	M.O	P	K	H+Al	Al	Ca	Mg	SB	CTC	V	Argila	Silte	Areia
CaCl <sub>2</sub>	g.dm <sup>-1</sup>	mg.dm <sup>-1</sup>					mmol.dm <sup>-1</sup>					%	
5,2	6	12	0,8	22	2	10	2	12,8	34,8	37	12,9	1,6	85,5

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

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

A variedade de cana utilizada foi a RB 86-7515, que apresenta como principais características: alta produtividade agrícola e rusticidade, alto teor de sacarose, perfilhamento médio, colheita de meio a final de safra e tolerante as principais doenças. Foram plantados quatro mini-toletes de uma gema em cada vaso. Posteriormente, após desbaste, foi conduzida apenas uma planta por vaso para a determinação dos parâmetros a serem avaliados.

### Parâmetros avaliados.

#### Altura de plantas.

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

#### Numero de perfilhos.

Foi avaliado o numero de perfilhos aos 60, 90 e 120 dias após o plantio.

### **Interpretação dos dados.**

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

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

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

O resumo da análise de variância e valores médios dos tratamentos aplicados para os parâmetros altura de plantas aos 60, 90 e 120 dias apos plantio podem ser observados nas Tabelas 2 e 3 respectivamente. De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, observa-se que houve diferença estatisticamente significativa para os diferentes tratamentos aos 60 e 120 dias após o plantio, entretanto, aos 90 dias após plantio não houve influência dos tratamentos.

De acordo com os valores médios para altura de plantas aos 60 dias após plantio, observa-se que as maiores médias foram proporcionadas pelos tratamentos onde foram aplicadas as doses de  $120 \text{ kg.ha}^{-1}$  e  $60 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N, demonstrando assim que as fontes minerais, solúveis no solo, estão prontamente disponíveis para a planta, melhorando de forma significativa seu desenvolvimento inicial.

Aos 90 DAP, não foi observado diferença entre os valores médios para altura de plantas em relação aos tratamentos aplicados.

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

O nitrogênio é um dos nutrientes essenciais absorvido em grande quantidade pela cana-de-açúcar, de modo geral, exigido na quantidade de 1 kg de N por tonelada de colmo produzido. Possui papel fundamental no desenvolvimento da planta, por ser constituinte obrigatório de proteínas e ácidos nucleicos, participando direta ou indiretamente de diversos processos bioquímicos e enzimáticos e ainda fazendo parte da molécula de clorofila (Malavolta et. al., 1997).

**TABELA 2.** Análise de variância para altura de plantas 60, 90 e 120 dias após plantio (DAP).

60 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	64,8835	16,2208	9,02**
Resíduo	25	44,9583	1,7983	
Total	29	109,8417	3,7876	
CV(%)	9,5			
Média Geral	14,12			
90 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	33,5333	8,3833	2,50 <sup>ns</sup>
Resíduo	25	83,8333	3,3533	
Total	29	117,3667	4,0471	
CV(%)	8,54			
Média Geral	21,43			
120 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	120,0000	30,0000	5,13 **
Resíduo	25	1461667	5,8467	
Total	29	266,1667	9.1781	
CV(%)	10,01			

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

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

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

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

O resumo da análise de variância e valores médios dos tratamentos aplicados para número de perfilhos aos 60, 90 e 120 dias após plantio podem ser observados nas Tabelas 4 e 5 respectivamente. De acordo com os dados apresentados na Tabela 4, observa-se que houve diferença estatisticamente significativa para os diferentes tratamentos aos 60, 90 e 120 dias após o plantio.

De acordo com Scarpari e Beuclair (2008), o perfilhamento da cana-de-açúcar é afetado por vários fatores como luz, temperatura, umidade do solo, nutriente e ainda dependente do fator varietal.

As plantas conduzidas no presente estudo foram submetidas aos mesmos fatores ambientais, tais como luz, temperatura e umidade, além de caracterizar-se por uma só variedade, onde o único fator a variar foram as doses de nitrogênio e formas de inoculação de bactérias diazotróficas.

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

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

nutriente limitante para o perfilhamento da cana foi o nitrogênio, nos tratamentos onde o mesmo não foi aplicado, bem como nas duas formas de inoculação (pulverização e imersão).

**TABELA 4.** Análise de variância para numero de perfilhos 60, 90 e 120 dias após plantio (DAP).

60 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	28,8667	7,2167	10,12 **
Resíduo	25	17,8333	0,7133	
Total	29	46,7000	1,6103	
CV(%)	27,24			
Média Geral	3,1000			
90 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	22,8000	5,7000	8,14 **
Resíduo	25	17,5000	0,7000	
Total	29	40,3000	1,3896	
CV(%)	22,61			
Média Geral	3,7000			
120 DAP				
FV	GL	SQ	QM	Fc
Tratamento	4	27,1333	6,7833	12,26 **
Resíduo	25	13,8333	0,5533	
Total	29	40,9667	1,4126	
CV(%)	20,47			
Média Geral	3,6333			



**TABELA 5.** Valores médios para numero de perfilhos 60, 90 e 120 dias após plantio (DAP).

TRATAMENTOS	Numero de Perfilhos		
	60 DAP	90 DAP	120 DAP
<b>T1.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC, sem adubação nitrogenada;	2,16 b	3,33 b	3,00 b
<b>T2.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC com metade da dose nitrogenada;	4,33 a	5,00 a	5,00 a
<b>T3.</b> Adubação conforme Boletim 100 IAC;	4,16 a	4,33 a	4.50 a
<b>T4.</b> Imersão por 1 hora em solução Padrão Embrapa;	2,83 b	3,33 b	3,16 b
<b>T5.</b> Pulverização com solução Padrão Embrapa;	2,00 b	2,50 b	2,50 b

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

## CONCLUSÃO

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

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBITI, pela bolsa concedida.

Ao Centro de Cana – IAC, pela oportunidade de estágio.

## REFERÊNCIAS

- BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. A brief story of nitrogen fixation in sugarcane – reasons for success in Brazil. *Functional Plant Biology*, v.29, p.417-423, 2002.
- JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v.65, p. 93-106, 2000.
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980, 251 p.

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

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E.G.F. Anatomia e botânica. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELLOS, A. C. M; LANDELL, M. G.A. (Org.). Cana-de-açúcar. 1 ed. Campinas/SP: Instituto Agronômico, 2008, v. 1, p. 47-56.

SOUZA, Z.M.; JUNIOR, J.M.; PEREIRA, G.T.; MOREIRA, L.F. **Variabilidade espacial do pH, Ca, Mg e V% do solo em diferentes formas do relevo sob cultivo de cana-de-açúcar**. CIÊNCIA RURAL, SANTA MARIA, V.34, n.6, p.1763-1771. nov-dez, 2004.

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

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