

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**VALESKA REGINA SILVA MARTINS**

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO POR *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869)  
INOCULADA NA CANA SOCA ADUBADA COM MOLIBDÊNIO E  
NITROGÊNIO**

**RECIFE  
2021**



Valeska Regina Silva Martins

Engenheira Florestal

**Promoção de crescimento por *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869) inoculada na cana soca adubada com molibdênio e nitrogênio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo

Orientador: Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Renato Lemos dos Santos

**Recife  
2021**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M386p      Martins, Valeska Regina Silva  
                Promoção de crescimento por *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869) inoculada na cana soca adubada com molibdênio enitrogênio / Valeska Regina Silva Martins. - 2021.  
                116 f. : il.

                Orientador: Emidio Cantidio  
                Almeida de Oliveira. Coorientador:  
                Renato Lemos dos Santos.  
                Inclui referências e apêndice(s).

                Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2021.

                1. *Saccharum* spp. . 2. Proteoma diferencial. 3. Nutrição nitrogenada. I. Oliveira, Emidio Cantidio Almeida de, orient.  
                II. Santos, Renato Lemos dos, coorient. III. Título

CDD 631.4

---

VALESKA REGINA SILVA MARTINS

**Promoção de crescimento por *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869) inoculada na cana soca adubada com molibdênio e nitrogênio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Aprovada em 30 de março de 2021.

ORIENTADOR

---

Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

EXAMINADORES:

---

Prof. Dr. Eder da Costa dos Santos  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas  
Universidade Federal Rural de Pernambuco



**Dedico** este trabalho a minha mainha (Maria de Lourdes), a meu painha (Valdemir Martins), a minha vó (Terezinha Mamede), a meu esposo (Jonanthan Mendes), aos meus irmãos (Valeria, Vaneska, Emylle, Valdemir e Vlademilson) e a toda minha família de sangue e de coração, por estarem ao meu lado me incentivando, apoiando e ajudando sempre que precisei.





## AGRADECIMENTOS

À Deus, o condutor de todas as coisas pelos caminhos traçados em minha vida.

À toda minha família, e em especial a minha **VIDA** (Mainha) e ao meu companheiro, amigo e **AMOR** (Jonanathan). À minha mãe por sempre viver comigo este sonho, nunca fraquejar mesmo nos momentos mais difíceis de nossas vidas, por sempre nos dar amor e educação, colocando sempre os seus filhos acima de tudo e por permitir que o nosso sonho se tornasse realidade. “Mesmo não estando mais aqui de corpo presente, sempre estará no meu coração, e sei que a cada batalha vencida a senhora comemora aí no céu muito mais do que qualquer um. Te amo!”

À Jonanathan por sempre me incentivar a correr atrás dos meus sonhos, e fazer deles os nossos sonhos, não me permitindo jamais desistir. Sempre serei grata pelo apoio e companheirismo consedido. “Te amo!”

Aos membros do Grupo de Pesquisa e Extensão em Nutrição de Plantas, Adubação e Fertilidade do Solo – GNAF pelo auxílio na condução do experimento e apoio durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo – UFRPE pela oportunidade e apoio durante o curso. Aos professores pelo aprendizado e dedicação na formação dos seus alunos. À Socorro pela disponibilidade, apoio e conselhos nesse período.

À Miriri Alimentos e Bioenergia S/A por conceder a área comercial, equipe de funcionários, acesso ao laboratório e equipamentos da usina. Ao técnico agrícola Antônio Emídio pela disponibilidade e ideias para facilitar a condução do experimento. Ao agrônomo da Miriri Pedro Souza pelo auxílio e assecibilidade.

À FACEPE pela concessão da bolsa de mestrado. À Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz pelo financiamento do projeto, tornando possível a realização da pesquisa.

À Universidade Federal do Pernambuco, em especial aos membros do Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, Fabiana, Lucas, Raíssa, Elton e ao professor Dr. Tercício Calsa pela conseqção do laboratório e auxilio nas análises laboratoriais e computacionais.

Aos laboratórios da UFRPE (Biologia e Bioquímica do Solo, Biotecnologia Ambiental, Química do Solo e Química Ambiental), por disponibilizar o espaço e equipametos dos laboratórios, mesmo em tempo de pandemia da Covid-19, tornando possível a finalização do experimento de mestrado.

Ao Instituto Federal do Pernambuco, campus Vitória de Santo Antão – PE pela disponibilização de laboratórios, em especial ao professor Dr. Renato Lemos, meu co-

orientador pelo aprendizado e conselhos nesse período tão necessário, que é a instrução de um aluno.

Ao meu orientador, professor Dr. Emídio Cantídio pelo acolhimento, aprendizado e amizade. “Não tenho palavras para descrever o quanto o senhor foi importante na minha formação acadêmica e pessoal. Muito obrigada!”

À professora Dr. Ana Dolores e Dr. Eder Costa pelas colaborações na nossa pesquisa, que fizeram toda diferença na finalização do trabalho.

Aos meus amigos que conquistei durante essa jornada, Amanda, Larissa, Luan e Joel pela amizade, sempre dividindo conhecimentos e ajudando um ao outro sem querer nada em troca. “Contem comigo para o que precisarem sempre!”

E por fim, a todos que direto e indiretamente fizeram parte da minha vida e jornada acadêmica, sempre me apoiando e auxiliando.

Obrigada a todos pelo apoio, ensinamento, amor, amizade e por me proporcionarem as mais diversas emoções, principalmente por estarem ao meu lado na realização desse sonho. Que Deus os protejam sempre e ilumine a vida de cada um. Jamais terei como retribuir da mesma forma tudo o que fizeram e fazem por mim.

**Obrigada por tudo!**

## Promoção de crescimento por *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869) inoculada na cana soca adubada com molibdênio e nitrogênio

### RESUMO

O nitrogênio (N) é um fator limitante na produção da cana-de-açúcar e é fornecido principalmente pela adubação nitrogenada. As perdas do N-fertilizante no sistema solo-planta-atmosfera são altas e alternativas de manejo para minimizar os impactos ambientais causados na área de produção são necessárias, principalmente na cana soca, que representa mais de 50% da área de cultivo do Brasil. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) atuam na produção de hormônios vegetais, solubilização de nutrientes e no processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN). A adição do molibdênio (Mo) potencializa esses mecanismos realizados pela bactéria, além de atuar no metabolismo do N, por meio da assimilação do nitrogênio, promovendo o crescimento vegetal. A contribuição das BPCP na cana-de-açúcar varia com o genótipo da planta utilizada e a estirpe bacteriana. A análise do proteoma da planta possibilita a compreensão dos papéis desempenhados pelo Mo e as BPCP em plantas de cana-de-açúcar adubadas com N. O objetivo foi avaliar o desenvolvimento de duas variedades de cana (RB867515 e RB92579), inoculadas com BPCP (*Stenotrophomonas* sp. UAGC 869) e adubadas com duas doses de Mo (0 e 0,2 kg ha<sup>-1</sup>) e N (0 e 80 kg ha<sup>-1</sup>), aos 100 e 340 dias após a colheita (DAC) da cana soca. Nos tratamentos que apresentaram efeito significativo na produção de biomassa aos 100 DAC foi avaliado o acúmulo diferencial de proteínas por espectrometria de massa em larga escala (*SHOTGUN*). O N e Mo aumentaram a altura e produção de biomassa da parte aérea nas duas variedades. A inoculação com *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869 inibiu os efeitos positivos desses nutrientes na produção de biomassa da RB867515. A análise do proteoma foi realizada para o N+Mo na RB92579 e para N+Bac na RB867515 devido ao efeito de aumento e redução da biomassa da parte aérea das respectivas variedades. A aplicação combinada de N e Mo na RB92579 elevou a quantidade de proteínas relacionada à eficiência fotossintética, produção de hormônios vegetais (auxinas e ácido abscísico), proteínas de assimilação de nitrogênio e controle de estresses (bióticos e abióticos), o que resulta em maior desenvolvimento da parte aérea e radicular na cana soca. Para RB867515 a inoculação da bactéria *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869 nas plantas adubadas com N promoveu maior gasto energético pela respiração e inibiu as proteínas relacionadas à fotossíntese. O desequilíbrio na relação fotossíntese/respiração proporcionou redução no desenvolvimento da parte aérea das plantas. Esses resultados demonstram a eficiência do Mo na nutrição nitrogenada da cana soca e identificam novos mecanismos no proteoma da planta regulados por ele, podendo ser utilizado como uma alternativa de manejo sustentável no segundo ciclo da cana-de-açúcar. Também foi identificado que a eficiência da interação entre a cana-de-açúcar e *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869 depende da variedade.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Proteoma diferencial. Nutrição nitrogenada.



## **Growth promotion in sugarcane ratoon under with *Stenotrophomonas* sp. (UAG 869) inoculation and molybdenum e nitrogen fertilization**

### **ABSTRACT**

Nitrogen (N) is a limiting factor in sugarcane production and is mainly supplied by fertilizers. Fertilizer-N losses in the soil-plant-atmosphere system are high and management alternatives to minimize the environment impacts caused on production field are required, mainly in ratoon cycle, which represents more than 50% of the cultivated area in Brazil. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) act in plant hormones production, nutrient solubilization and in process of biological nitrogen fixation (BNF). Molybdenum (Mo) addition enhances these bacterial mechanisms performed by the bacteria, further to act in plant N metabolism, through the assimilation of N and promoting plant growth. The contribution of PGPB in sugarcane varies with the genotype of the plant and bacterial strain. Analysis of plant proteome allows understanding the roles played by Mo and PGPB in sugarcane fertilized with N. The objective was to evaluate the development of two sugarcane varieties (RB867515 and RB92579) inoculated with PGPB UAGC 869 (*Stenotrophomonas* sp.) and fertilized with two doses of Mo (0 and 0.2 kg ha<sup>-1</sup>) and N (0 and 80 kg ha<sup>-1</sup>) at 100 and 340 days after harvest (DAH) of first ratoon cycle. Treatments with statistical effect on biomass production at 100 DAC, differential protein accumulation was evaluated by large-scale mass spectrometry (*SHOTGUN*). N and Mo increased height and shoot biomass production in both varieties. Inoculation with *Stenotrophomonas* sp. UACG 869 inhibited the positive effects of nutrients on the biomass production of RB867515. Proteome analysis was performed for N+Mo in RB92579 and for N+Bac in RB867515 due to effect of increasing and decreasing aeral biomass of the respective varieties. The combined application of N and Mo in RB92579 increased the amount of protein related to photosynthetic efficiency, production of plant hormones (auxins and abscisic acid), nitrogen assimilation proteins and stress control (biotic and abiotic), which results in greater shoot and root development in sugacane ratoon. For RB867515 the inoculation of the bacterium *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869 in plants fertilized with N, it promoted greater spend of energy by respiration and inhibited proteins related to photosynthesis. The imbalance in the photosynthesis / respiration ratio resulted in a reduction of plant aerial part development. These results demonstrate the efficiency of Mo in nitrogen nutrition of sugarcane ratoon and the identify new mechanisms in the plant proteome regulated by it, which can be used as an alternative for sustainable management in the second cycle of sugarcane. It was also identified that the efficiency of the interaction between sugarcane and *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869 depends on the variety.

**Keywords:** *Saccharum* spp. Differential proteome. Nitrogen nutrition.



## LISTA DE FIGURAS

### I. CAPÍTULO I

**Figura 1** – Precipitação pluviométrica (mm) e temperaturas mensais na área experimental durante o ciclo de cultivo, em Rio Tinto – PB.....39

**Figura 2-** Croqui da área experimental com a distribuição dos tratamentos para as variedades RB867515 (amarelo) e RB92579 (azul) nos respectivos blocos. R: Plantas referências; C0: Controle absoluto; B: Inoculação. Fonte: Imagem adaptada de Lima, 2020.....41

**Figura 3** - Croqui da parcela experimental com 5 sulcos duplos.....42

**Figura 4** - Ilustração da amostragem de raiz. Adaptado de Otto et al. (2009).....46

### II. CAPÍTULO II

**Figura 1-** Croqui da área experimental com a distribuição dos tratamentos para as variedades RB867515 e RB92579 nos respectivos blocos. Imagem adaptada de Lima, 2020.....77

**Figura 2** - Croqui da parcela experimental com 5 sulcos duplos.....78

**Figura 3** – Categorização ontológica de proteínas diferencialmente acumuladas por processo biológico.....89

**Figura 4** – Categorização ontológica de proteínas exclusivas nas variedades de cana-de-açúcar.....90

**Figura 5** – Repicagem da bactéria *Stenotrophomonas* sp. (UAFG 869) da placa de Petri para o meio líquido TSA (A). Diluição da solução bacteriana em meio líquido e aplicação na cana soca (B).....109

**Figura 6** – Análise estatística das proteínas obtidas por meio de espectrometria de massas em larga escala (LC-MS-Orbitrap), identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio .....110





## LISTA DE TABELAS

### I. CAPÍTULO I

**Tabela 1** – Atributos químicos e granulometria do solo da área experimental nas profundidades de 0 – 0,20 e 0,20 – 0,40 m.....40

**Tabela 2** – Nitrogênio (N) acumulado na cana soca, teor de Molibdênio (Mo) e Atividade da enzima nitrato redutase (ARN) na folha índice (+1) do segundo ciclo da cana-de-açúcar (RB92579 e RB867515), aos 100 dias após a colheita para N e Mo e aos 340 dias após a colheita para ARN.....48

**Tabela 3** - Variáveis biométrica (altura e diâmetro) e perfilhamento avaliados na cana soca (RB867515) aos 100 e 340 dias após a colheita .....50

**Tabela 4** - Variáveis biométricas (altura e diâmetro) e perfilhamento avaliados na cana soca (RB92579) aos 100 e 340 dias após a colheita.....51

**Tabela 5** - Biomassa seca da parte aérea da cana soca (RB867515), avaliada aos 100 e 340 dias após a colheita.....53

**Tabela 6** - Biomassa seca da parte aérea da cana soca (RB92579), avaliada aos 100 e 340 dias após a colheita.....54

**Tabela 7** - Massa seca de raiz da cana soca (RB867515 e RB92579) nas profundidades 0-0,2 m (J1) e 0,2-04 m (J2), avaliada aos 100 dias após a colheita.....56

**Tabela 8** - Produção de colmos (TCH) e produção de açúcar (TPH) da cana soca (RB867515 e RB92579), avaliada aos 390 dias após a colheita.....57

**Tabela 9** - Atributos agroindustriais da cana soca (RB867515), avaliados aos 390 dias após o colheita.....59

**Tabela 10** - Atributos agroindustriais da cana soca (RB92579), avaliados aos 390 dias após o colheita.....60

### II. CAPÍTULO II

**Tabela 1** – Ontologia gênica das proteínas diferencialmente acumuladas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio .....85

**Tabela 2** – Ontologia gênica das proteínas diferencialmente acumuladas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculada com Bactéria *Stenotrophomonas* sp. ....88

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tabela 3</b> – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio.....  | 111 |
| <b>Tabela 4</b> – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio.....                                 | 112 |
| <b>Tabela 5</b> – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio.....   | 113 |
| <b>Tabela 6</b> – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculadas com <i>Stenotrophomonas</i> sp..... | 115 |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 19 |
| 1.1 Hipótese.....   | 20 |
| 1.2 Objetivos.....  | 20 |
| 1.3 Objetivo Geral .....  | 20 |
| 1.4 Objetivos Específicos .....   | 20 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....   | 22 |
| 2.1 Cana-de-açúcar .....  | 22 |
| 2.2 Nitrogênio na cana-de-açúcar .....  | 22 |
| 2.3 Bactérias promotoras de crescimento de plantas na cana-de-açúcar.....   | 24 |
| 2.4 Molibdênio na cana-de-açúcar .....  | 25 |
| 2.5 Análise proteômica na cana-de-açúcar .....  | 27 |
| CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DA CANA SOCA INOCULADA<br>COM BACTÉRIA PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA E ADUBADA COM<br>NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO..... | 35 |
| <b>RESUMO</b> .....   | 36 |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | 37 |
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 38 |
| 2 METODOLOGIA.....  | 39 |
| 2.1. Descrição da área experimental.....  | 39 |
| 2.2 Implantação do experimento .....  | 41 |
| 2.3 Produção e aplicação do inoculante em cana soca .....   | 43 |
| 2.4 Coleta e análise dos dados .....  | 43 |
| 2.4.1 <i>Coleta e análise dos dados biométricos</i> .....   | 43 |
| 2.4.2 <i>Estado nutricional</i> .....   | 44 |
| 2.4.3 <i>Atividade da enzima redutase do nitrato</i> .....  | 45 |
| 2.4.4 <i>Produção de biomassa radicular</i> .....   | 45 |
| 2.5 Análise estatística .....   | 46 |
| 3 RESULTADOS .....  | 46 |
| 3.1 Acúmulo de nitrogênio nas plantas .....   | 46 |
| 3.2 Teor de Molibdênio e Atividade da Redutase do Nitrato na folha +1.....  | 46 |
| 3.3 Parâmetros biométricos aos 100 e 340 DAC.....   | 49 |
| 3.4 Produção de biomassa da parte aérea aos 100 e 340 DAC.....  | 52 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.5 Produção de biomassa de raiz.....  | 55  |
| 3.6 Produtividade e produção de açúcar.....  | 56  |
| 3.7 Atributos Agroindustriais.....   | 58  |
| 5 CONCLUSÕES.....  | 65  |
| REFERÊNCIAS.....   | 66  |
| CAPÍTULO II – PROTEOMA DA CANA SOCA INOCULADA COM BACTÉRIA PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA E ADUBADA COM NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO..... | 72  |
| <b>RESUMO</b> .....  | 73  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | 74  |
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 75  |
| 2 METODOLOGIA.....   | 77  |
| 2.1 Implantação do experimento.....  | 77  |
| 2.2 Produção e aplicação do inoculante em cana soca.....   | 79  |
| 2.3 Coleta de material vegetal e extração de proteínas solúveis totais.....  | 80  |
| 2.4 Eletroforese unidimensional (SDS - PAGE).....  | 81  |
| 2.5 Análise por espectrometria de massas em larga escala ( <i>Shotgun</i> ).....   | 82  |
| 2.6 Identificação das proteínas.....   | 82  |
| 2.7 Classificação funcional.....   | 83  |
| 3 RESULTADOS.....  | 83  |
| 4 DISCUSSÃO.....   | 91  |
| 4.1 Comparação N+Mo – Variedade RB92579.....   | 91  |
| 4.2 Comparação N+Bac – Variedade RB867515.....   | 94  |
| 5 CONCLUSÕES.....  | 99  |
| REFERÊNCIAS.....   | 99  |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 108 |
| APÊNDICE A – Preparo do inoculante e aplicação no campo.....   | 109 |
| APÊNDICE B – Análise estatística das proteínas.....  | 110 |
| APÊNDICE C – Protínas exclusivas em N e N+Mo em cana-de-açúcar.....  | 111 |
| APÊNDICE D – Protínas exclusivas em N e N+Bac em cana-de-açúcar.....   | 113 |

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma das culturas agrícolas de maior importância para o mercado brasileiro, atendendo ao mercado nacional e internacional a partir do fornecimento de açúcar e biocombustível. O biocombustível derivado da cana-de-açúcar é uma alternativa sustentável para minimizar os impactos causados ao meio ambiente, por meio da redução de emissão de CO<sub>2</sub>, em contrapartida ao uso do petróleo.

A pluviosidade e a disponibilidade de nutrientes são os fatores mais limitantes para o desenvolvimento da cana-de-açúcar. Entre os nutrientes, o nitrogênio (N) é o segundo nutriente mais exigido pela cultura por participar diretamente no metabolismo de crescimento da planta.

A fonte primária de N é a adubação mineral, porém o aproveitamento do N-fertilizante é baixo, cerca de 10% a 50% na cana planta e de 30% a 70% na cana soca, na fase inicial de crescimento à fase final (FRANCO et al., 2011). Isso ocorre devido às transformações do nitrogênio no solo, que resultam em perdas no sistema solo-planta-atmosfera e a outras fontes de N para planta. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) e mineralização da matéria orgânica do solo são consideradas fontes secundárias para nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar. Essas contribuições irão variar principalmente com o ciclo da cultura, temperatura, umidade e deposição de matéria orgânica no solo.

No ciclo da cana soca a contribuição dessas fontes oriundas do solo e da atmosfera não atendem a demanda nutricional das plantas, que promove maior resposta ao fornecimento de N pela adubação mineral. Deste modo, alternativas para melhorar a eficiência da adubação nitrogenada neste ciclo de crescimento ou inovações tecnológicas no campo que possibilitem reduzir o N-fertilizante, e mantenha a produtividade e o cultivo sustentável devem ser estudadas e aplicadas ao sistema de produção atual da cana-de-açúcar.

A interação de bactérias promotoras do crescimento em plantas (BPCP) com a cana-de-açúcar é considerada uma alternativa sustentável de aumentar a produção, por meio de estímulos diretos e indiretos ao crescimento vegetal. Os mecanismos de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a produção de fito-hormônios, como ácido abscísico (ABA) e ácido-indol-3-acético (AIA), têm sido estudados como responsáveis pelos ganhos nutricionais, produção de biomassa e desenvolvimento radicular em plantas inoculadas com BPCP.

O micronutriente molibdênio (Mo) participa desses mecanismos promotores do crescimento de plantas, como constituinte de enzimas que realizam a FBN e na síntese dos fitohormônios AIA e ABA. A deficiência desse micronutriente limita a ação das

molibdoenzimas como a redutase do nitrato, xantina oxidase/desitrogenase, aldeído oxidase e sulfito oxidase que são encontradas em plantas e bactérias, atuando no metabolismo do N, enxofre e na síntese de fitohormônios.

A contribuição das BPCP e do Mo na produção dos hormônios vegetais na planta pode ser avaliada por meio da análise do proteoma da cana-de-açúcar. A expressão diferencial de proteínas possibilita identificar quais processos metabólicos estão sendo estimulados pelo manejo das plantas inoculadas e adubadas com Mo.

A interação da estirpe bacteriana com a variedade da planta influencia na contribuição dos mecanismos promotores de crescimento vegetal. O estudo da interação entre esses dois fatores auxiliam na identificação da estirpe e variedade de cana-de-açúcar que melhor se adequam às condições ambientais submetidas. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o proteoma, a assimilação de N e a produção de biomassa em duas variedades de cana soca inoculadas com BPCP e adubadas com N e Mo em condições de campo.

### **1.1 Hipótese**

A inoculação da cana soca com bactéria diazotrófica associada à adubação nitrogenada e molíbdica estimula os mecanismos de promoção de crescimento vegetal com aumento da assimilação do N, produção de hormônios vegetais e acúmulo diferencial de proteínas, o que proporcionará incremento no desenvolvimento das plantas e produtividade da cana soca.

### **1.2 Objetivos**

### **1.3 Objetivo Geral**

Identificar a contribuição do nitrogênio e do molibdênio no crescimento e produção de biomassa, bem como na atividade da redutase do nitrato, nos mecanismos de promoção de crescimento da cana soca inoculada com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) em condições de campo.

### **1.4 Objetivos Específicos**

- Avaliar a interação entre molibdênio e nitrogênio na assimilação do nitrato em cana soca inoculada com BPCP;

- Identificar os mecanismos de promoção do crescimento que contribuem para o desenvolvimento da cana soca inoculada com bactéria diazotrófica e adubada com molibdênio e nitrogênio;
- Identificar a contribuição do N, Mo e das BCPC na produção de biomassa e produtividade da cana soca;
- Avaliar a influência da inoculação de BPCP e a adubação molíbdica no proteoma da cana soca adubada com nitrogênio.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cana-de-açúcar

*Saccharum* spp. é da família Poaceae, introduzida no Brasil em 1532 com a finalidade de produção de açúcar. Foi intensamente estudada ao longo dos anos com o intuito de desenvolver variedades com características adaptativas para o cultivo em distintas condições edafoclimáticas e elevada produtividade (LANDELL et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2010).

Atualmente, a cana-de-açúcar é uma das culturas agrícolas de maior produção no Brasil, atingindo na safra de 2018/2019 produção de 642,7 milhões toneladas (CONAB, 2020). A cultura atende o mercado nacional e internacional de açúcar e biocombustíveis, exportando na última safra 19,9 milhões de toneladas de açúcar e 1,82 bilhões de litros de etanol para países como a Índia, Nigéria, Estados Unidos e Japão (CONAB, 2019). Além disso, a cana fornece subprodutos, como bagaço de cana, torta de filtro e vinhaça, utilizados como ração animal, fertilizantes e produtos aglomerados (LANDELL et al., 2014).

O cultivo da cana-de-açúcar para produção de biocombustível no Brasil aumentou 71,9% entre os anos de 2012 e 2020, que vem sendo estimulado pela demanda crescente por sistemas de produção sustentáveis (CONAB, 2020). O aumento na emissão de gases de efeito estufa na atmosfera tem resultado em danos ao meio ambiente e ao ser humano, e alternativas que busquem reduzir a emissão desses gases tem sido prioridade atualmente. O biocombustível derivado da cana-de-açúcar reduz emissão de dióxido de carbono na atmosfera (CO<sub>2</sub>), caracterizando um produto sustentável (CALDARELLI; GILIO, 2018; GRASSI; PEREIRA, 2019).

A cultura requer condições para o seu desenvolvimento, como disponibilidade hídrica, reserva de nutrientes no solo, e práticas de manejo adequadas (LANDELL et al., 2014). No entanto, a fertilidade natural dos solos brasileiros tem sido um fator limitante para o aumento da produtividade da cultura, sendo necessária a manutenção da fertilidade do solo, em destaque a oferta do Nitrogênio (N), responsável por 91% da produção de biomassa da planta (MARIANO et al., 2017; VALE; PRADO; HOJO, 2011).

### 2.2 Nitrogênio na cana-de-açúcar

O nitrogênio está presente na atmosfera na forma de N<sub>2</sub> (72%), não disponível às plantas. A conversão do N atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas é realizada naturalmente por micro-organismos diazotróficos, através da fixação biológica de nitrogênio (FBN), por meio da enzima nitrogenase, e pela fixação industrial, pelo processo de Haber-



Bosch. No solo a reserva de N constitui o compartimento orgânico e formas inorgânicas dissolvidas na solução do solo ( $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ ) (OLIVEIRA et al., 2018).

No metabolismo da planta, o N atua na síntese da clorofila, aminoácidos, atividade das enzimas Rubisco e PEP carboxilase, e estão presentes na composição do ATP, NADH e NADPH (PRADO JÚNIOR, 2008). Quando a planta apresenta deficiência de N, essas atividades são reduzidas e o desenvolvimento é comprometido, com redução na cana-de-açúcar que pode chegar a 83% na matéria seca de raiz e 92% na parte aérea da cana-de-açúcar (VALE; PRADO; HOJO, 2011).

Atualmente a adubação nitrogenada é a principal fonte de N para os canaviais, disponibilizado nas formas minerais de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ . A recuperação do N-fertilizante na cana-de-açúcar é diferente entre os ciclos de produção, cerca de 40% na cana planta e 70% na cana soca (FRANCO et al., 2011). Na cana planta a taxa de recuperação do N-fertilizante é menor por haver a contribuição de outras fontes de N, como a mineralização da matéria orgânica do solo (MOS) e da fixação biológica de nitrogênio (FBN). Na socaria a mineralização do N da MOS é reduzida e FBN não é suficiente para nutrir a planta, favorecendo a utilização do N mineral, aplicada no presente ciclo, ocorrendo à rápida absorção do N-fertilizante pela planta, e por consequência maior aproveitamento do N mineral (VITTI; TRIVELIN, 2011; FRANCO et al., 2011; FORTE et al., 2013).

Contudo, as perdas do N-fertilizante ainda são significativas no sistema solo-planta-atmosfera, promovida pela lixiviação, volatilização e imobilização do N no solo, sendo necessária a contribuição de outras fontes de nitrogênio para suprir a demanda de N na planta, como a matéria orgânica do solo e fixação biológica de nitrogênio (OTTO et al., 2013; URQUIAGA et al., 2012).

Através da mineralização da matéria orgânica do solo é disponibilizado N às plantas, contribuindo para nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar (OTTO et al., 2013). Em solos pobres em matéria orgânica essa fonte nitrogenada é comprometida e a FBN se torna uma das principais fontes de N (SCHULTZ et al., 2016).

De acordo com Urquiaga et al. (2012) a associação entre bactérias diazotróficas e a cana-de-açúcar pode contribuir com até 30% do nitrogênio requerido pela cultura, através da FBN. Schultz et al. (2014) identificaram que a adubação nitrogenada ( $120 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e a inoculação bacteriana promoveram aumentos semelhantes na produtividade da cana planta e primeira soca na variedade de cana RB72454. Já Oliveira e Simões (2016) concluíram que a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio é uma possibilidade viável na redução da

adubação nitrogenada para cana planta, no entanto, na cana soca a inoculação foi menos eficiente, o que destaca o comportamento varietal entre os ciclos.

### **2.3 Bactérias promotoras de crescimento de plantas na cana-de-açúcar**

As bactérias promotoras de crescimento de plantas são micro-organismos procariotos que podem ser de vida livre no solo ou associadas às plantas promovendo principalmente a FBN (FAN et al., 2011). A interação entre a cana-de-açúcar e as BPCP é associativa, em que esses micro-organismos podem estar presentes no interior da planta (endofíticos), na superfície dos tecidos vegetais da planta (epífíticas) e na rizosfera, região entre as raízes e o solo, que apresenta alta diversidade de espécies (ROESCH et al., 2007).

Apesar de os estudos com bactérias promotoras de crescimento de plantas na cana-de-açúcar terem iniciado na promoção da FBN, vem sendo constatado que a maior contribuição desses organismos procariotos está relacionada a outros mecanismos de promoção de crescimento (PEREIRA et al., 2013; LIMA et al., 2019).

Ao avaliar a produtividade da cana-de-açúcar submetida à inoculação com duas estirpes bacterianas e a mistura de estirpes (*Burkholderia* e *Pantoea*), Lima et al. (2018) identificaram incrementos na produtividade na ordem de 23%, 18% e 16%, respectivamente quando comparadas à testemunha nitrogenada. No entanto, não foi identificada contribuição do N via FBN pelas BPCP. Em outra pesquisa identificaram a capacidade de produção de AIA (63%), solubilizar fosfato (22%) e produzir sideróforos (10%) a partir da identificação de 103 isolados de bactérias diazotróficas, o que pode explicar os resultados obtidos para produção de biomassa aérea e radicular (TALUE et al., 2012).

Portanto, entender a ação das BPCP com o genótipo da cana-de-açúcar é importante primeiro para identificar os mecanismos de ação e posteriormente avaliar a possibilidade de novas ações para estimular esse mecanismo. No caso de seleção de novas estirpes, introduzir novos nutrientes e manejos.

Com isso promover o cultivo sustentável ao estimular o crescimento de modo semelhante a doses altas de N, o que possibilita melhor interação entre as doses mais econômicas de N e micro-organismos bioestimuladores, reduzindo o N-fertilizante e aumentando a contribuição das BPCP.

As BPCPs possuem a capacidade de produzir fitohormônios, como ácido 3-indol-acético (AIA) e o ácido abscísico (ABA), disponibilizando-os às plantas. Esses hormônios são responsáveis por alterações no desenvolvimento radicular e regulação estomática. O AIA e ABA também são produzidos no metabolismo das plantas e a contribuição das BPCP na

produção e transferências desses fitohormônios para planta potencializa a ação desses mecanismos na planta e por consequência eleva a produtividade da cultura (RAHMAN, 2013; LI et al., 2016).

De acordo com Santos et al. (2012) a maioria das BPCP apresentam a capacidade de solubilizar fosfato inorgânico, disponibilizando o nutriente para realização das atividades metabólicas da cana-de-açúcar. Além disso, elas promovem antagonismo a fitopatógenos, resistência à salinidade e a déficit hídrico, como contribuições indiretas. (SANTOYO et al., 2016; MOREIRA et al., 2010; JOE et al., 2016).

As plantas naturalmente realizam esses processos na regulação do crescimento da cultura, como produção de hormônios vegetais, solubilização de nutrientes e adaptações a condições de déficit hídrico e salinidade. No entanto, as BPCP possuem a capacidade de potencializar essas atividades, promovendo adaptações do sistema fisiológico da planta e do micro-organismo, que possibilita benefícios mútuos (TALUE et al., 2012).

Na análise de 30 bactérias diazotróficas isolados das raízes de cana soca, Santos et al. (2012) identificaram que 90% desses foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico e que 60% se desenvolverem em condições salinas, inferindo o uso desses isolados como promotoras de crescimento vegetal de plantas.

Ao avaliar a cana-de-açúcar inoculado com *Stenotrophomonas* sp. Silva (2020) identificou o estímulo na planta de proteínas ligadas à assimilação de N, divisão celular e fotossíntese, que ao associar a inoculação bacteriana com o molibdênio foi estimulado mecanismos na planta ligados aos fitohormônios ABA e AIA, contribuindo para o maior desenvolvimento das plantas. O molibdênio está ligado a enzimas chaves no metabolismo da cana-de-açúcar e das BPCP (SANTOS et al., 2019a; SANTOS et al., 2019b).

#### **2.4 Molibdênio na cana-de-açúcar**

O Molibdênio (Mo) é um micronutriente requerido pelas plantas em pequena quantidade, porém é responsável por funções relevantes no metabolismo das plantas, envolvido na atividade metabólica do nitrogênio e na produção de hormônios vegetais.

No metabolismo do nitrogênio na planta o molibdênio é responsável pela assimilação do nitrato, através da enzima redutase do nitrato (ARN), atuando como co-fator na redução do  $\text{N-NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$ , posterior reduzido a  $\text{NH}_4^+$ , quando é incorporado no sistema metabólico da planta. De acordo com Santos et al. (2019a) a ação do Mo na ARN é essencial, especialmente em solos com predominância de  $\text{N-NO}_3^-$ , ocorrendo nas folhas e raízes da cana-de-açúcar.

O Mo atua como cofator na assimilação do nitrogênio atmosférico ao compor a unidade proteica Molibdênio-Ferro-proteína do complexo enzimático nitrogenase, tornando esse microelemento essencial para a FBN (SANTOS et al., 2019b). Santos et al. (2019b) identificaram que a aplicação do Mo potencializou a atividade da nitrogenase (AN) nas variedades RB867515 e RB92579, especialmente na ausência do N, promovendo aumento na contribuição do N derivado do ar.

Na produção de hormônios vegetais o Mo tem a função de redox enzimático, integrando no complexo orgânico de pterina chamado de cofator de molibdênio (Moco), envolvido principalmente na produção de ácido 3-indol-acético (AIA) e ácido abscísico (ABA) (MENDEL; HAENSCH, 2002; KAISER et al., 2005).

A enzima aldeído oxidase (AO) interage com o Moco e atua nas fases finais de oxidação do aldeído abscísico em ABA e do indol-3-acetaldeído em AIA. O ABA é responsável principalmente pela regulação estomática, em condições de déficit hídrico. Ao interagir com o etileno, o ABA promove a formação de raízes laterais e inibe a germinação das sementes (FERREIRA et al., 2017; SHKOLNIKINBAR; BAR-ZVI, 2010). O AIA (Auxina) estimula o crescimento radicular da planta, alterando a arquitetura das raízes, especialmente quando em interação com o etileno, abrangendo o acesso a água e nutrientes no solo, promovendo incremento na biomassa e produtividade em cana-de-açúcar (GÍRIO et al., 2015; PEREIRA et al., 2013).

Na planta o Moco também atua nas enzimas sulfito oxidase e xantina oxidase/desnitrogenase, ligadas ao metabolismo do enxofre e ao catabolismo da purina (KAISER et al., 2005). A função dessas enzimas na planta podem ser limitadas pela deficiência de Mo na planta, decorrente da falta desse nutriente no solo. Aspectos físicos, químicos e mineralógicos condiciona a concentração de Mo no solo. A presença de óxidos de ferro e alumínio em solos ácidos pode tornar o Mo do solo indisponível pela retenção nos coloides do solo (VITOSO, MORA e BOLAN, 2005; KAISER et al., 2005). Já o Mo disponível na solução do solo na forma de molibdato, com concentração máxima atingida em pH entre 5,0 e 6,0 (FONTES; COELHO, 2005; OLIVEIRA, 2012).

A adubação molibídica não faz parte da adubação padrão dos canaviais, não havendo reposição do Mo extraído pela cultura, principalmente nos ciclos subsequentes de cana soca, que acarreta a redução dos teores de Mo nos solos, o que pode impulsionar a restrição desse micronutriente nas atividades metabólicas da cultura. Mellis et al. (2016) identificaram que a aplicação do molibdênio impulsionou um aumento na produção da cultura, cerca de 14% quando comparado ao controle.

Identificar como a cana soca responde aos estímulos promovidos pelo Mo é uma alternativa de contribuir com o manejo da cultura. Isso pode ser realizado ao identificar os processos biológicos que o Mo está envolvido na cana soca, por meio da análise do proteoma da planta. Nesta análise é avaliado o acúmulo diferencial de proteínas em tecidos da planta quando submetido ao estresse aplicado (EMIDIO et al., 2015; SALVATO; CARVALHO, 2010). Silva (2020) fez o uso da técnica proteômica para identificar a atuação do Mo, N e BPCP na cana-de-açúcar. Esta técnica também foi empregada por Salvato et al. (2017) para avaliar a atuação do N nos processos metabólicos da cana-de-açúcar.

## **2.5 Análise proteômica na cana-de-açúcar**

A análise de proteômica na cana-de-açúcar teve início na década de 60, mas somente nos últimos anos vem ganhando impulso, com análises do proteoma de diferentes compartimentos da cultura (BARNADAS et al., 2015; FONSECA et al., 2017; PACHECO et al., 2013; SALVATO et al., 2019). No início o foco era a caracterização de perfis proteicos, evoluindo para a quantificação das proteínas, identificação e a interação entre elas no metabolismo das plantas. A análise consiste na identificação da expressão do proteoma (proteínas) na planta numa célula ou tecido num determinado momento, fornecendo informações a nível molecular (SALVATO; CARVALHO, 2010).

No decorrer dos anos, as técnicas metodológicas de análise de proteômica sofreram mudanças positivas, com o intuito de facilitar a quantificação das proteínas e identificar em quais mecanismos da planta elas estão inseridas. Inicialmente foi empregado a eletroforese unidimensional (1D) para identificar os perfis proteicos, separando as proteínas por carga em função do pH. Posteriormente, foi introduzido a eletroforese bidimensional (2D), no qual a separação das proteínas é realizada de acordo com a carga e massa das mesmas. Na eletroforese bidimensional é possível identificar e quantificar as proteínas, porém para identificação de proteínas menos abundantes essa técnica pode ser imprecisa. Essa limitação impulsionou o uso da técnica “shotgunproteomics” que promove a separação das proteínas por cromatografia líquida multidimensional, com maior resolução do proteoma da planta (EMIDIO et al., 2015).

As proteínas atuam na expressão dos genes da planta, compondo grande parte das funções fisiológicas das células. Alterações na produção das proteínas acarreta mudanças na expressão genética da planta (EMIDIO et al., 2015). A expressão proteica varia com as condições em que a planta está submetida, promovendo alterações no metabolismo vegetal

com o intuito de se adequar a condições adversas, como identificado por Pacheco et al. (2013) em variedades de cana-de-açúcar submetidas a níveis de salinidade.

Aguiar et al. (2018) identificaram alterações no metabolismo de aminoácidos e na biossíntese do nitrogênio em extrato de cana-de-açúcar com a inoculação das BPCP *Herbaspirillum seropedicae* e *Gluconacetobacter diazotrophicus*. De acordo com Silva (2020), a inoculação de *Stenotrophomonas* sp. associada a adubação molibídica promoveram a expressão de proteínas na variedade RB867515 ligadas a síntese e ao transporte de hormônios, crescimento da planta e armazenamento de fotoassimilados.

Cordeiro et al. (2013) observou alterações na expressão gênica das proteínas da bactéria endofítica *Herbaspirillum seropedicae* ao interagir com o extrato da cana-de-açúcar. O mesmo foi identificado por Terra et al. (2020) em *Nitrospirillum amazonense* ao interagir com o fluido apoplástico da variedade RB867515. A interação entre bactéria e cana-de-açúcar possibilita alterações no proteoma de ambos os metabolismos fisiológicos, o que pode ser uma ferramenta para identificar qual mecanismo bacteriano atua de forma mais expressiva na promoção do crescimento da cana-de-açúcar.

Portanto, o estudo da proteômica de duas variedades do segundo ciclo da cana-de-açúcar é uma alternativa viável de compreender qual o mecanismo na planta é estimulado com inoculação com BPCB, com a adubação nitrogenada e molibídica no metabolismo fisiológico das plantas, fornecendo informações a nível molecular.

## REFERÊNCIAS

- BARNABAS, L.; RAMADASS, A.; AMALRAJ, R. S.; PALANIYANDI, M.; RASAPPA, V. Sugarcane proteomics: An update on current status, challenges, and future prospects. **Proteomics**, v. 15, n. 10, p. 1658-70, 2015. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25641866/>>.
- CALDARELLI, C. E.; GILIO, L. Expansion of the sugarcane industry and its effects on land use in São Paulo: Analysis from 2000 through 2015. **Land Use Policy**, v. 76, p. 264-274, 2018. <<https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2018.05.008>>.
- CHEN, Q.; QI, L.; BI, Q.; DAI, P.; SUN, D.; SUN, C.; LIU, W.; LU, L.; NI, W.; LIN, X. Comparative effects of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and dicyandiamide (DCD) on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a vegetable soil. **Appl Microbiol Biotechnol**. V. 99, n. 1, p. 477-87, 2015. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25172135/>>.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira de cana-de-açúcar, safra 2018/2019, segundo levantamento, agosto de 2019. v. 5, p. 76, Brasília, DF: 2019.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira de cana-de-açúcar, safra 2019/2020, quarto levantamento, abril de 2020. v. 6, p. 1-58 Brasília, DF: 2020.
- CORDEIRO, F. A.; TADRA-SFEIR, M. Z.; HUERGO, L. F.; DE OLIVEIRA PEDROSA, F.; MONTEIRO, R. A.; DE SOUZA, E. M. Proteomic analysis of *Herbaspirillum seropedicae* cultivated in the presence of sugar cane extract. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 3, p. 1142-1150, 2013. <<https://doi.org/10.1021/pr300746j>>.
- EMIDIO, N. B.; CARPANEZ, A. G.; QUELLIS, L. R.; FARANI, P. S.; VASCONCELOS, E. G.; FARIA-PINTO, P. Proteômica: uma introdução aos métodos e aplicações. Revista HU. Juiz de Fora, v. 41, n. 3 e 4, 2016. <<https://periodicos.ufjf.br/index.php/hurevista/article/view/2482>>.
- FAN, B.; CHEN, X. H.; BUDI HARJO, A.; BLEISS, W.; VATER, J.; BORRISS, R. Efficient colonization of plant roots by the plant growth promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, engineered to express green fluorescent protein. **Journal of Biotechnology**, v. 151, n. 4, p. 303-311, 2011. <doi: 10.1016 / j.jbiotec.2010.12.022>.
- FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane Water Stress Tolerance Mechanisms and Its Implications on Developing Biotechnology Solutions. **Frontiers Plant Science**, v. 8, p. 1077, 2017. <doi: 10.3389 / fpls.2017.01077>.
- FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A. de; TRIVELIN, P. C. O.; Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**. v. 121, n. 1, p. 29-41, 2011. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378429010002947>>.

FONTES, R. L. F.; COELHO, H. A. Molybdenum determination in Mehlich-1 and Mehlich-3 soil test extracts and molybdenum adsorption in Brazilian soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 36, p. 2367–2381, 2005.  
<<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00103620500251377>>.

FONSECA, J. G.; CALDERAN-RODRIGUES, M. J.; DE MORAES, F. E.; CATALDI, T. R.; JAMET, E.; LABATE, C. A. Cell Wall Proteome of Sugarcane Young and Mature Leaves and Stems. **Proteomics**, v. 18, n. 2, p. 1-12, 2018.  
<<https://doi.org/10.1002/pmic.201700129>>.

FORTES, C.; OCHEUZE TRIVELIN, P. C.; VITTI, A. C.; OTTO, R.; JUNQUEIRA FRANCO, H. C.; 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. <[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2013000100012](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2013000100012)>.

GÍRIO, L. A. da 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**. Brasília, v.50, n.1, p. 33-43, 2015.  
<<https://www.scielo.br/pdf/pab/v50n1/0100-204X-pab-50-01-00033.pdf>>.

GRASSI, M. C. B.; PEREIRA, G. A. G. Energy-cane and RenovaBio: Brazilian vectors to boost the development of biofuels. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 201-205, 2019.  
<<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.006>>.

JOE, M. M.; DEVARAH, S.; BENSON, A.; A. S, T. Isolamento de bactérias endofíticas solubilizadoras de fosfato de *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn: Avaliação da promoção do crescimento vegetal e atividade antioxidante sob estresse salino. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**. V. 3, n. 2, p. 71–77, 2016.  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214786116300080>>.

KAISER, B. N.; GRIDLEY, K. L.; BRADY, J. N.; PHILLIPS, T.; TYERMAN, S. D. The role of molybdenum in agricultural plant production. **Annals of Botany**, v. 96, n. 5, p. 745-754, 2005. <<https://doi.org/10.1093/aob/mci226>>.

LANDELL, M. G. de A.; XAVIER, M. A.; GARCIA, J. C.; PRADO H. de; AZANIA, C. A. M.; SCARPARI, M. S.; DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A. dos; SILVA, D. N. da; BIDÓIA, M. A. P.; BRANCALIÃO, S. R.; ROSSETTO, R.; VITTI, A. C. **Cana-de-açúcar**. In: AGUIAR, A. T. da E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. de., editores. Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. Campinas: Instituto Agrônomo, Ed. 7.<sup>a</sup> rev. e atual., p. 106-113, 2014 (Boletim IAC, n.º 200).

LI, C.; NONG, Q.; SOLANKI, M. K.; LIANG, Q.; XIE, J.; LIU, X.; LI, Y.; WANG, W.; YANG, L.; LI, Y. Differential expression profiles and pathways of genes in sugarcane leaf at elongation stage in response to drought stress. **Scientific Reports**, v. 6, n. 25698, 2016.  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4864372/>>.



LIMA, D. R. M. DE; SANTOS, I. B. dos; OLIVEIRA, J. T. C.; BARBOSA, J. G.; DINIZ, W. P da S.; FARIAS, A. R. B. de; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Tolerance of potentially diazotrophic bacteria to adverse environmental conditions and plant growth-promotion in sugarcane. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, n. 11, p. 1534-1548, 2018. <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03650340.2018.1443212>>.

MARIANO, E.; OTTO, R.; MONTEZANO, Z. F.; CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O. Soil nitrogen availability indices as predictors of sugarcane nitrogen requirements. **European Journal of Agronomy**, n. 89, p. 25-37, 2017. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1161030117300849>>.

MELLIS, E. V.; QUAGGIO, J. A.; BECARI, G. R. G.; TEIXEIRA, L. A. J.; CANTARELLA, H.; DIAS, F. L. F. Effect of micronutrients soil supplementation on sugarcane in different production environments: cane plant cycle. **Soil Fertility and Crop Nutrition**, v. 108, n. 5, p. 2060-2070, 2016. <<https://doi.org/10.2134/agronj2015.0563>>.

MENDEL, R. R.; HANSCH, R. Molybdo enzymes and molybdenum cofactor in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 375, p. 1689-1698, 2002. <<https://academic.oup.com/jxb/article/53/375/1689/449990>>.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. Piauí, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

OLIVEIRA, E. C. A. DE; FREIRE, F. J.; OLIVEIRA, R. I. de; FREIRE, M. B. G. DOS S.; SIMÕES NETO, D. E.; SILVA, S. A. M. da. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, n. 4, p. 1343-1352, 2010. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v34n4/31.pdf>>.

OLIVEIRA, A. C. de. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. 2012. 96f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

OLIVEIRA, A. R. de; SIMÕES, W. L. Cultivares de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas em condições irrigadas no semiárido brasileiro. **Revista Energia na Agricultura**. Botucatu, vol. 31, n. 2, p. 154-161, 2016. <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147058/1/Energ.-Agric.2016.pdf>>.

OLIVEIRA, D. M. de A.; SANTOS, R. L. dos; GUEDES, V. H. de F.; BARBOSA, J. de A.; MOURA, M. J. A. de.; LOPES, N. R. da C. Produtividade de colmos e índice de maturação em cana-de-açúcar cultivada sob adubação nitrogenada e molíbdica. **Solos nos Biomas Brasileiros 3**. Organizadores Alan Mario Zuffo, Jorge González Aguilera. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, cap. 3, p. 19-26, 2018.

OTTO, R.; MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; TRIVELIN, P. C. O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 893–904, 2013. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-013-0787-5>>.

PACHECO, C. M.; PESTANA-CALSA, M. C.; GOZZO, F. C.; MANSUR CUSTODIO NOGUEIRA, R. J.; MENOSSI, M.; CALSA, T. Differentially delayed root proteome responses to salt stress in sugar cane varieties. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 12, p. 5681- 5695, 2013. <<https://doi.org/10.1021/pr400654a>>.

PEREIRA, W. ; LEITE, J. M.; HIPÓLITO, G. de S.; SANTOS, C. L. R. dos; REIS, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**. Ceará, v. 44, n. 2, p. 363-370, 2013. <<https://www.scielo.br/pdf/rca/v44n2/v44n2a20.pdf>>.

PRADO JÚNIOR, J. P. Q. **Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar inoculada com *gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico**. 2008. 49f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2008.

RAHMAN, A. Auxin: a regulator of cold stress response. **Physiologia Plantarum**, v. 147, p. 28-35, 2013. <doi: 10.1111 / j.1399-3054.2012.01617.x>.

ROESCH, L. F. W.; PASSAGLIA, L. M. P.; BENTO, F. M.; TRIPLETT, E. W.; CAMARGO, F. A. O. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 31, n.6, p. 1367-1380, 2007. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v31n6/15.pdf>>.

SALVATO, F.; LOZIUK, P., KIYOTA E.; DANELUZZI, G. S.; ARAÚJO, P.; MUDDIMAN, D. C.; MAZZAFERA, P. Label-Free Quantitative Proteomics of Enriched Nuclei from Sugarcane (*Saccharum* ssp.) Stems in Response to Drought Stress. **Proteomics**, v. 19, n. 14, p. 1-15, 2019. <<https://doi.org/10.1002/pmic.201900004>>.

SALVATO, F.; De CARVALHO, M. C. da C. G. Métodos e estratégias em proteômica e suas aplicações na área vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, 2010. <<https://www.scielo.br/pdf/cr/v40n3/a479cr1680.pdf>>.

SALVATO, F.; WILSON, R.; LLERENA, J. P. P.; KIYOTA, E.; REIS, K. L.; BOARETTO, L. F.; BALBUENA, T. S.; AZEVEDO, R. A.; THELEN, J. J.; MAZZAFERA, P. Luxurious Nitrogen Fertilization of Two Sugar Cane Genotypes Contrasting for Lignin Composition Causes Changes in the Stem Proteome Related to Carbon, Nitrogen, and Oxidant Metabolism but Does Not Alter Lignin Content **Journal of Proteome Research**, v. 16, n. 10, p. 3688-3703, 2017. <DOI: 10.1021 / acs.jproteome.7b00397>.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. Del C.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, v. 183, p. 92 – 99, 2016. <doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008>.

SANTOS, I. B. dos; LIMA, D. R. M. de; BARBOSA, J. G.; OLIVEIRA, J. T. C.; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRAI, J. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 142-149, 2012. <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13254>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; FREIRE, M. B. G. dos S.; WEST, J. B.; BARBOSA, J. de A.; MOURA, M. J. A. de; BEZERRA, P. da C. Nitrate Reductase Activity and Nitrogen and Biomass Accumulation in Sugarcane under Molybdenum and Nitrogen Fertilization. **REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO**, v. 43, p. 1-19, 2019a. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v43/1806-9657-rbcs-43-e0180171.pdf>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O.; FREIRE, M. B. G. dos S.; BEZERRA, P. da C.; OLIVEIRA, R. I. de; SANTOS, M. B. da C. Changes in Biological Nitrogen Fixation and Natural-Abundance N Isotopes of Sugarcane Under Molybdenum Fertilization. **SUGAR TECH**, v. 21, p. 1-11, 2019b. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12355-019-00717-w>>.

SHKOLNIK-INBAR, D.; BAR-ZVI, D. ABI4 Mediates abscisic acid and cytokinin inhibition of lateral root formation by reducing polar auxin transport in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 22, n. 11, p. 3560-3573, 2010. <[doi:https://doi.org/10.1105/tpc.110.074641](https://doi.org/10.1105/tpc.110.074641)>.

SILVA, D. F. da; PEGORARO, R. F.; MAIA, V. M.; KONDO, M. K.; SOUZA, G. L. O. D. de; MOTA, M. F. C. Volatilização de amônia do solo após doses de ureia com inibidores de urease e nitrificação na cultura do abacaxi. **Revista Ceres**, v. 64, n. 3, p. 327-335, 2017. <<https://www.scielo.br/pdf/rceres/v64n3/2177-3491-rceres-64-03-00327.pdf>>.

SILVA, M. A. da. **Adubação molíbdica e Bactérias promotoras de crescimento na nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar**. 2020. 232f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife, 2020.

SOUZA, S. R. de; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R. de; SANTOS, L. A. (eds). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, ed. 2, p. 310- 375, 2018.

TAULÉ, C.; MAREQUE, C.; BARLOCCO, C.; HACKEMBRUCH, F.; REIS, V. M.; SICARDI, M.; BATTISTONI, F. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, p. 35-49, 2012. <<https://doi.org/10.1007/s11104-011-1023-4>>.

TERRA, L. A., DE SOARES, C. P., MENESES, C. H. S. G., TADRA SFEIR, M. Z., DE SOUZA, E. M., SILVEIRA, V.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I.; SCHWAB, S. Transcriptome and proteome profiles of the diazotroph *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC in response to the sugarcane apoplast fluid. **Plant and Soil**, n. 451, p. 145-168, 2020. <<https://doi.org/10.1007/s11104-019-04201-y>>.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F. de; BATISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA e SÁ, J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; ROBERT M. BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and <sup>15</sup>N natural abundance data for the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**. v. 356, n. 1-2, p. 5–21, 2012. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-011-1016-3>>.

VALE, D. W.; PRADO, R. M.; HOJO, R. H. Omissão de macronutrientes na nutrição e no crescimento da cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v. 6, n. 2, p. 189-196, 2011. <[http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria\\_v6i2a550&path%5B%5D=1575](http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria_v6i2a550&path%5B%5D=1575)>.

VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O. Adubação nitrogenada melhora vigor das soqueiras de cana-de-açúcar refletindo em produtividade e nos ciclos agrícolas subsequentes. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 95, p. 1-8, 2011. <[http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2011/2011-julho-dezembro/1144-adubacao-nitrogenada-melhora-o-vigor-das-soqueiras-de-cana-de-acucar-refletindo-em-produtividade-nos/file.html?force\\_download=1](http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2011/2011-julho-dezembro/1144-adubacao-nitrogenada-melhora-o-vigor-das-soqueiras-de-cana-de-acucar-refletindo-em-produtividade-nos/file.html?force_download=1)>.

VITOSO, E.; MORA, M. L.; BOLAN, N. **Phosphorus and Mo interactions in the Andisols of Chile**. In: DEVELOPMENTS IN FERTILIZER APPLICATION TECHNOLOGIES AND NUTRIENT MANAGEMENT, Auckland, 2005. Proceedings. Auckland, Massey University, p. 245-257, 2005.

---

**CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DA CANA SOCA  
INOCULADA COM BACTÉRIA PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA  
E ADUBADA COM NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO**

---

## CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DA CANA SOCA INOCULADA COM BACTÉRIA PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA E ADUBADA COM NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO

### RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o crescimento vegetal, assimilação de nitrogênio (N), produtividade e atributos tecnológicos no segundo ciclo da cana-de-açúcar de variedades inoculadas com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP) (*Stenotrophomonas* sp. UAGC 869) e adubadas com molibdênio (Mo) e N. O experimento foi conduzido em condições de campo, na área agrícola da Miriri Alimentos e Bioenergia, em Rio Tinto – PB, Brasil. Doses de N (0 e 80 kg ha<sup>-1</sup>), doses de Mo (0 e 0,2 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação (sem e com) de bactéria diazotrófica foram aplicados nas variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579. Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial triplo (2x2x2), em delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, contabilizando dois experimentos, uma para cada variedade de cana-de-açúcar. Foram analisados o N acumulado, atividade da redutase do nitrato (ARN), teor foliar de Mo e produção de massa seca de raiz aos 100 dias após o corte (DAC). Os parâmetros biométricos e produção de biomassa da parte aérea foram analisados aos 100 e 340 DAC. No final do ciclo foram determinados a produtividade e atributos agroindustriais. A interação entre N, Mo e inoculante não influenciou no desenvolvimento e produtividade da cana soca para as duas variedades. A adubação nitrogenada aumentou o acúmulo de N na planta, a altura, diâmetro e a produção de biomassa seca aos 100 e 340 DAC, resultando no aumento da produtividade e produção de açúcar nas duas variedades. O teor de fibras foi reduzindo pela adubação nitrogenada na RB92579. Na RB867515 o N promoveu a qualidade industrial da cultura, com a redução da porcentagem de açúcares redutores e aumento da porcentagem de sacarose no caldo e do colmo, açúcar teórico recuperável, e teor de sólidos solúveis. A associação entre o N e Mo elevou o crescimento e produção de biomassa das variedades aos 100 DAC, não diferindo do N e Mo isolados. Esse resultado indica que os benefícios da aplicação de 0,2 kg ha<sup>-1</sup> de Mo equivale a ao de aplicar 90 kg ha<sup>-1</sup> de N na fase inicial de desenvolvimento. Os benefícios do Mo continuaram sendo expressos na RB92579 até os 340 DAC, indicando que a variedade é mais responsiva ao molibdênio. No entanto, esses benefícios não foram refletidos na produtividade e atributos agroindustriais da cana soca, com respostas apenas para o N. Além disso, na RB867515 o Mo aumentou a produção de biomassa de raiz, o que evidencia a importância da aplicação do Mo no desenvolvimento radicular da cultura. A inoculação na RB92579 contribuiu no crescimento em altura das plantas na fase inicial de desenvolvimento e perfilhamento. Na RB867515 a inoculação aumentou a produção de biomassa de raiz, perfilhamento e os teores de Mo na folha +1. Contudo, reduziu o desenvolvimento da parte aérea e o acúmulo de N da cana soca no decorrer do experimento, o que permite inferir que a associação planta-bactéria não foi eficiente para esta variedade.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar. Micronutrientes. Biomassa vegetal. Produtividade.

## **CHAPTER I – DESENVOLPMENT AND PRODCTION OF SUGARCANE RATOON INOCULATED WITH PLANT GROWTH-PROMOTION BACTERIUM AND FERTILIZED WITH NITRGEN AND MOLUBDENUM.**

### **ABSTRACT**

The objective was to evaluate plant growth, nitrogen (N) assimilation, yield and technological attributes in the second cycle of sugarcane of varieties inoculated with plant growth-promoting bacteria (PGPB) (*Stenotrophomonas* sp. UAGC 869) and fertilized with molybdenum (Mo) and N. The experiment was carried on in field conditions, on agricultural area of Miriri Alimentos e Bioenergia, in Rio Tinto – PB, Brazil. N doses (0 and 80 kg ha<sup>-1</sup>), Mo doses (0 and 0.2 kg ha<sup>-1</sup>) and inoculation (without/with) of diazotrophic bacterium were applied in first ratoon in RB867515 and RB92579 sugarcane varieties. The treatments were distributed in a triple factorial arrangement (2x2x2), in a randomized block design, with four replications, counting two experiments, one for each sugarcane varieties. Accumulated N, nitrate reductase activity (NRA), Mo foliar content and root dry mass production at 100 days after harvest (DAH) were analyzed. Biometric parameters and shoot biomass production were analyzed at 100 and 340 DAH. At the end of the cycle, productivity and agro-industrial attributes were determined. The interaction between N, Mo and inoculant did not influence on development and productivity of ratoon sugarcane for both varieties. Nitrogen fertilization increased plant N accumulation, height, diameter and dry biomass production at 100 and 340 DAH, resulting in increased of yield and sugar production in both varieties. Fiber content was reduced by nitrogen fertilization in RB92579. In RB867515, N enhanced the industrial quality of sugarcane promoting reduction of the percentage of reducing sugars and increase of the percentage of juice and stalk sucrose, theoretical recoverable sugar, soluble solids content. The association between N and Mo increased the growth and biomass production of the varieties to 100 DAC, not differing from isolated N and Mo. This result indicate that the benefits of application of 0.2 kg ha<sup>-1</sup> of Mo is equivalent to apply 90 kg ha<sup>-1</sup> of N in the initial development phase. The benefits of Mo continued to be expressed in RB92579 until 340 DAH, indicating that the variety is more responsive to molybdenum. However, these benefits were not reflected in the productivity and agro-industrial attributes of ratoon sugarcane, whose only answers for N. In addition, in RB867515, Mo increased root biomass production, which highlights the importance of Mo application in development root of the crop. Inoculation in RB92579 contributed to the height growth of plants in the initial stages of development and tillering. In RB867515, inoculation increased root biomass production, tillering and leaf Mo contents +1. However, it reduced the shoot development and N accumulation of ratoon sugarcane during the experimete, wicth mean that the plant-bacteria association was not efficient for this variety.

Palavras-chave: Sugarcane. Micronutrient. Vegetal biomass. Yield.

## 1 INTRODUÇÃO

Na cana-de-açúcar, a contribuição das bactérias promotores de crescimento de plantas (BPCP) no fornecimento de N é baixo, não sendo suficiente para nutrir a cultura, como identificado por Schultz et al. (2014). A baixa contribuição desses mecanismos possibilita maior resposta à adubação nitrogenada pelas socarias, principal fonte de nitrogênio nas socarias para atingir a produtividade (GAVA et al., 2019). Apesar do baixo aporte de N pela FBN, é identificado que a inoculação com BPCP promove o desenvolvimento semelhante à adubação nitrogenada (SCHULTZ et al., 2014). Isso se dá pelos mecanismos de promoção de crescimento ocasionados por esses micro-organismos.

As BPCP possuem a capacidade de atuar no metabolismo hormonal e nutricional da cana-de-açúcar, ao solubilizar e disponibilizar nutrientes e potencializar a produção de hormônios vegetais, promovendo o crescimento vegetal. A eficiência das PBPC na promoção de crescimento é influenciada pela interação estirpe bacteriana e genótipo da planta, como também pela interação com o molibdênio (TALUE et al., 2012).

De acordo com Lima et al. (2018) a interação do genótipo da planta com os micro-organismos promotores de crescimento de plantas pode potencializar a produtividade da cultura. As estirpes bacterianas inoculadas que se adequam às condições submetidas podem favorecer a planta hospedeira. A identificação de inoculantes bacterianos não patogênicos que favoreçam a atividade metabólica da planta acarreta benefícios no acúmulo e assimilação de nutrientes, produção de hormônios vegetais, crescimento vegetal, resistência a estresse biótico e abiótico (LIMA et al., 2018; SCHULTZ et al., 2016; TALUE et al., 2012).

O molibdênio (Mo) potencializa essa interação planta–bactéria ao atuar no metabolismo de ambos com efeitos sobre a produtividade da cultura. Na cana-de-açúcar a fotossíntese e metabolismo hormonal e dos nutrientes são influenciados pelo Mo (SILVA, 2020). Esse aumento na produção hormonal resulta em aceleração do crescimento vegetativo (SANTOS et al., 2019a).

Na socaria a aplicação do Mo e da inoculação com BPCP se torna importante, tendo em vista que neste ciclo há redução da fertilidade natural e da contribuição da matéria orgânica do solo (AAMER et al., 2017). As BPCP irão potencializar a produção de hormônios vegetais e solubilização de nutrientes, promovendo maior crescimento radicular e por consequência a área percorrida pelas raízes no solo, que será potencializada pelo Mo acarretando maior desenvolvimento da cultura (SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2014).



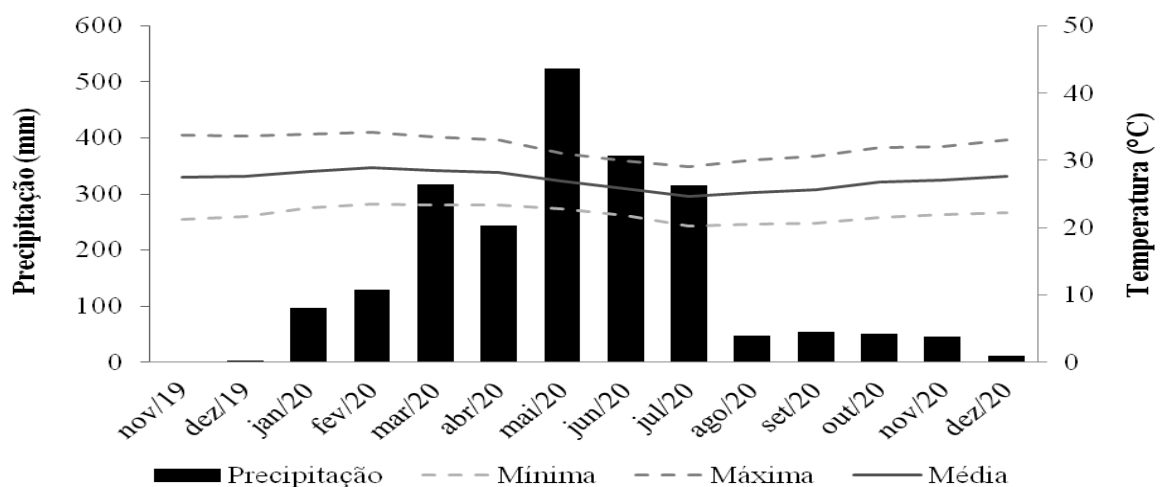
Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento vegetal, assimilação de N, produtividade e atributos tecnológicos no segundo ciclo da cana-de-açúcar promovidos pela inoculação de BPCP e adubação molíbdica nas variedades RB92579 e RB867515 adubadas com N em condições de campo.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1. Descrição da área experimental

O experimento foi conduzido em condições de campo, na área agrícola da Miriri Alimentos e Bioenergia, localizada no município de Rio Tinto, PB, Brasil (6°49'58,8" S e 34°57'24" W). Segundo a AESA (2020), Rio Tinto fica localizado na Mesorregião da Zona da Mata Paraibana e microrregião Litoral Norte. A temperatura média da região é de 26°C e precipitação média de 1.500 mm anuais (EMBRAPA, 2018; ALVARES et al., 2013). O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Amarelo distrocoeso (PA<sub>dx</sub>), de textura arenosa.

Após a colheita da cana planta, foi realizada coleta de amostras de solo nas profundidades 0 – 0,20 e 0,20 – 0,40 m para caracterização dos atributos químicos e granulometria. No primeiro mês de aplicação dos tratamentos foi aplicado lâmina de irrigação de 27 mm de água, por meio do pivô central. Durante o ciclo, a precipitação pluvial foi de 2.207 mm, com temperatura mínima de 22°C e máxima de 32°C (Figura 1).



**Figura 1** – Precipitação pluviométrica (mm) e temperaturas mensais na área experimental durante o ciclo de cultivo, em Rio Tinto – PB. Fonte: Dados obtidos de estação agrometeorológica da Miriri Alimentos e Bioenergia S/A.

**Tabela 1** – Atributos químicos e granulometria do solo da área experimental nas profundidades de 0 – 0,20 e 0,20 – 0,40 m

| Atributo   | Profundidades (m) |                |
|--|-------------------|----------------|
|  | 0,0 – 0,20        | 0,20 – 0,40    |
| pH <sub>H2O</sub> (1:2,5)                                      | 6,9               | 6,5            |
| pH <sub>CaCl2</sub>  | 5,8               | 5,7            |
| MOS (g dm <sup>-3</sup> )                                      | 14                | 9              |
| P (mg dm <sup>-3</sup> )                                       | 37                | 13             |
| S (mg dm <sup>-3</sup> )                                       | 5                 | 5              |
| Ca <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )         | 1,8               | 1,1            |
| Mg <sup>2+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )         | 0,8               | 0,6            |
| K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )           | 0,06              | 0,04           |
| Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )         | 0,0               | 0,0            |
| H+Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )                     | 1,0               | 1,0            |
| S.B. (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )                     | 2,7               | 1,7            |
| CTC <sub>potencial</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) | 3,72              | 2,69           |
| V (%)  | 73                | 63             |
| m (%)  | 0,0               | 0,0            |
| Cu <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )                        | 0,2               | 0,2            |
| Fe <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )                        | 11                | 11             |
| Mn <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )                        | 0,5               | 0,4            |
| Zn <sup>2+</sup> (mg dm <sup>-3</sup> )                        | 0,7               | 0,3            |
| Areia total (%)  | 89                | 84             |
| Areia grossa (%)   | 53                | 46             |
| Areia fina (%)   | 37                | 38             |
| Silte (%)  | 1                 | 1              |
| Argila (%)   | 10                | 15             |
| Grupamento textural  | Arenosa           | Franco Arenosa |

MOS: Matéria orgânica do solo. S.B: Soma de bases. CTC: Capacidade de roca de cátions. V: Saturação por bases. m: Saturação por alumínio.

A granulometria foi analisada de acordo com o manual de análises da Embrapa (2017), com a determinação pelo método do decímetro. Os atributos químicos foram determinados por métodos propostos pelo manual de análise da Embrapa (2009; 2017). O pH do solo foi determinado em água e solução de CaCl<sub>2</sub>. O P disponível foi extraído pelo método da resina trocadora de íons e determinado em espectrofotômetro UV-VIS. Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> foram extraídos em solução de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e em seguida determinados em espectrofotômetro de absorção atômica. K<sup>+</sup> extraído em solução de Mehlich-1 e determinado em fotômetro de chama.

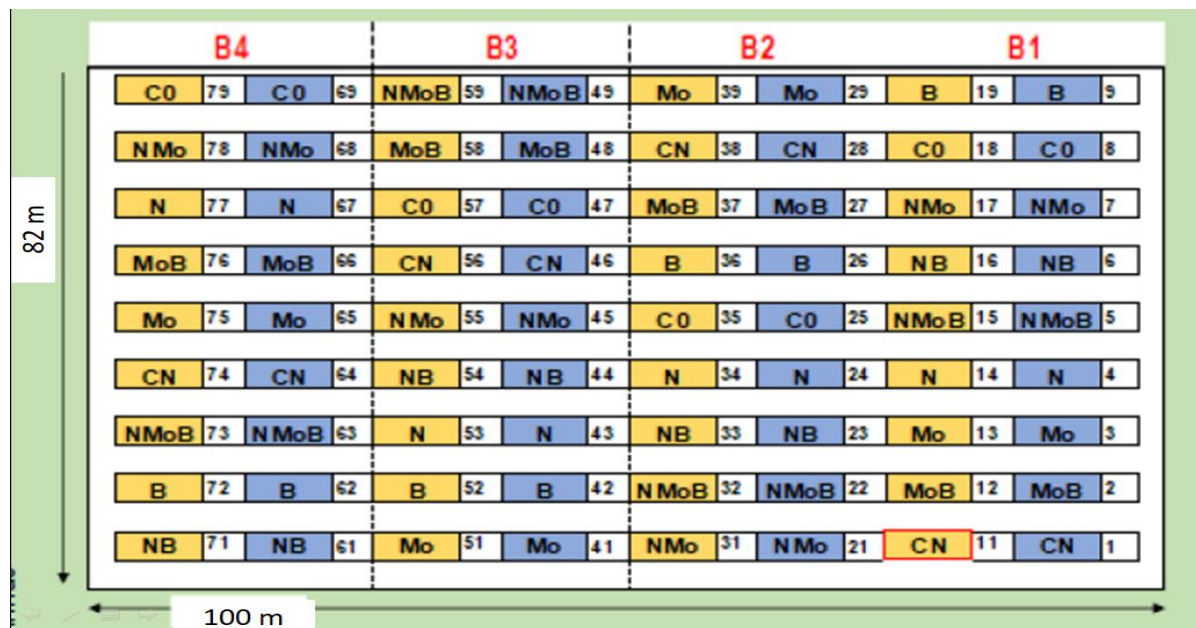
Os micronutrientes Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup> disponíveis foram extraídos em solução de Mehlich-1 e determinados em espectrômetro de absorção atômica. A MOS foi extraída em solução sulfocrômica e determinada em espectrofotometria. O carbono da matéria orgânica foi determinado por titulação em solução com sulfato ferroso amoniacal 0,05 mol L<sup>-1</sup>, após

extração em método volumétrico utilizando solução dicromato de potássio 0,2 mol L<sup>-1</sup>. A acidez potencial (H + Al) foi extraída em acetato de cálcio com pH 7,0 e determinado por titulação com solução NaOH 0,0025 mol L<sup>-1</sup>.

## 2.2 Implantação do experimento

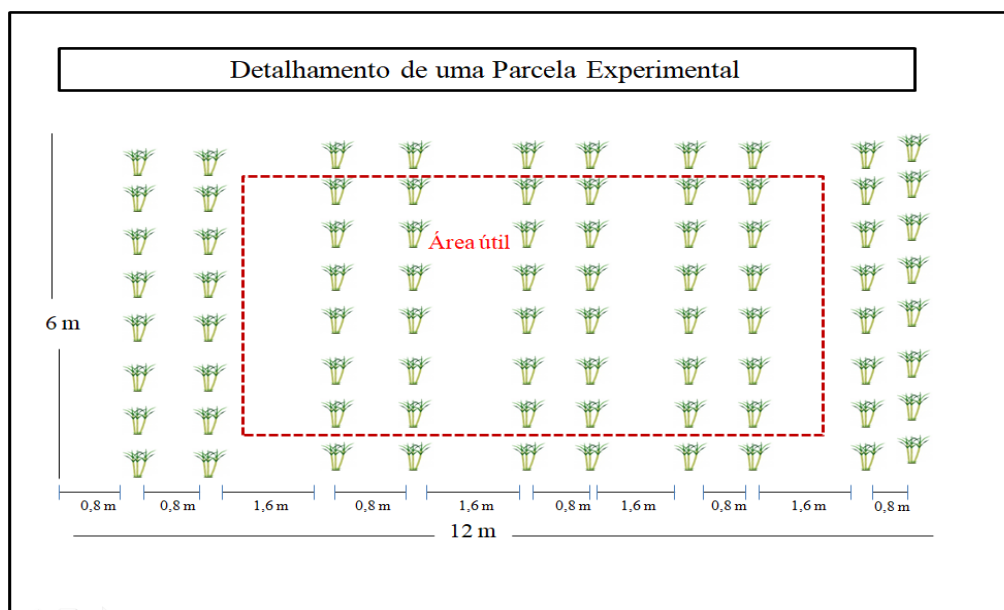
Os tratamentos consistiram em doses de nitrogênio (0 e 80 kg ha<sup>-1</sup>), doses de molibdênio (0 e 0,2 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação bacteriana (sem bactéria e com bactéria). Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial triplo (2x2x2), e delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 32 parcelas experimentais (Figura 2). Os tratamentos foram aplicados na primeira rebrota (primeira soca) das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579, constando de dois experimentos.

Os tratamentos foram distribuídos seguindo o mesmo croqui experimental do ciclo anterior (cana planta), em que as doses de nitrogênio (N) e molibdênio (Mo) foram de 60 kg ha<sup>-1</sup> e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> e a estirpe bacteriana foi *Stenotrophomonas* sp. As variedades RB867515 e RB92579 foram escolhidas por serem as mais utilizadas no sistema de cultivo agrícola em cana do Brasil e Nordeste e apresentarem resultados positivos quando inoculadas com bactérias diazotróficas (RIDESA, 2020; SCHULTZ et al, 2016; SANTOS et al., 2019b; SILVA, 2020).



**Figura 2-** Croqui da área experimental com a distribuição dos tratamentos para as variedades RB867515 (amarelo) e RB92579 (azul) nos respectivos blocos. C0: Controle absoluto; B: Inoculação. Fonte: Imagem adaptada de Lima, 2020.

Cada parcela possuiu 10 sulcos com 6 metros de comprimento, espaçados em 0,8 m x 1,6 m, totalizando 72 m<sup>2</sup> (Figura 3). Os dois sulcos das laterais esquerda e direita foram considerados bordaduras e os seis sulcos centrais compõem a área útil, descartando-se 1 m do final e do início da linha, totalizando 28,8 m<sup>2</sup>. Desta área foram destinados dois sulcos para amostragem destrutiva e quatro sulcos para amostragens não destrutivas.



**Figura 3** - Croqui da parcela experimental com 5 sulcos duplos

A adubação da cana soca foi realizada em duas etapas, de forma manual ao lado de cada linha de cultivo sem incorporação (OLIVEIRA, et al., 2013). Aos 20 DAC realizou-se a aplicação de fósforo (100%), potássio (1/3), nitrogênio (1/3) e molibdênio (100%). Aos 60 DAC foram aplicados nitrogênio (2/3), potássio (2/3) e micronutrientes (manganês, cobre, zinco e boro) (OLIVEIRA et al., 2013).

Na adubação foram aplicadas 50 e 150 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, respectivamente e os micronutrientes cobre (250 g ha<sup>-1</sup>), manganês (3,0 kg ha<sup>-1</sup>), zinco (1,0 kg ha<sup>-1</sup>) e boro (500 g ha<sup>-1</sup>), tendo como fonte sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de zinco e ácido bórico, para atender a produtividade de 100 TCH (toneladas de colmo por hectare) (OLIVEIRA et al., 2010). A fonte de N utilizada foi ureia e de Mo o ácido fosfomolibdico (SHULTZ et al., 2016). A escolha da dose molibdica (0,2 kg ha<sup>-1</sup>) foi baseada em estudo realizado por Santos, et al. (2019a). A dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N foi escolhida de acordo com Oliveira et al. (2010), em função da exigência para produtividade obtida no ciclo de cana planta.

### **2.3 Produção e aplicação do inoculante em cana soca**

A bactéria diazotrófica utilizada na inoculação foi a *Stenotrophomonas* sp. (UAFG 869), escolhida por apresentar capacidade de realizar fixação biológica de nitrogênio e estimular a produção de biomassa da cana-de-açúcar em estudos realizados por Silva (2016) e Lima et al. (2018), respectivamente. Esta bactéria foi isolada do tecido radicular da variedade RB867515 aos 120 dias após o plantio por Lima et al. (2018).

A bactéria *Stenotrophomonas* sp. foi adquirida da coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Bacteriana da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE). A bactéria foi repicada em placa de Petri em meio Tryptone Soya Agar 10% (TSA, pH 7,3).

Para produção do inoculante em laboratório, a bactéria foi multiplicada em meio líquido TSA (pH 7,3) e mantida em agitação constante (250 rpm) por 11 horas para atingir a concentração bacteriana  $10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC) mL<sup>-1</sup> (ARAÚJO et al., 2010), com base em curva de crescimento da estirpe realizada por Lima (2020).

No campo, o inoculante foi diluído em água na proporção 1:100 e aplicado na soqueira aos 20 e 60 DAC, utilizando pulverizador costal com jato direcionado a base da soqueira, aplicando de 15 mL m<sup>-1</sup> do inoculante (SHULTZ et al., 2012; 2016; OLIVEIRA; SIMÕES 2016).

### **2.4 Coleta e análise dos dados**

A primeira avaliação biométrica e de produção da biomassa de raiz e da parte aérea foi realizada aos 100 DAC. O período foi selecionado por ser identificado como o início do maior desenvolvimento da cana soca, conforme regime hídrico do local de cultivo (Figura 1). Aos 340 DAC foi realizada a avaliação biométrica e a produção de biomassa da parte aérea, bem como a determinação da atividade da redutase do nitrato. A produtividade de colmos e atributos tecnológicos da cana soca foram avaliados aos 390 DAC.

#### **2.4.1 Coleta e análise dos dados biométricos**

A determinação dos dados biométricos da cana-de-açúcar foi realizada em um ponto aleatório na área útil. As plantas presentes em um metro foram removidas realizando o corte rente ao solo. Foram medidas: altura da planta (com trena, da base do colmo até a inserção da folha +1), diâmetro do terço médio do colmo (utilizando paquímetro) e número de perfilhos em 1 metro linear (OLIVEIRA et al., 2016).

Para determinação da biomassa seca da parte aérea foram separados e pesados os componentes: colmo, folha +1, folhas secas, folhas verdes e ponteiro. Foram consideradas como ponteiro, cartucho e folha +1, folhas verdes foram às folhas verdes abaixo da folha +1, folhas secas consideradas as folhas secas ligadas a planta e foi considerado como colmo todo o material restante.

Cada componente foi processado separadamente em forrageira (exceto folha +1) e em seguida subamostras foram coletadas e pesadas para obtenção da massa úmida. As subamostras foram secas em estufa com ventilação forçada de ar a 65 °C, até a obtenção da massa constante, e posteriormente pesadas para obter a massa seca. A biomassa seca da parte aérea foi calculada a partir das pesagens descritas anteriormente e expressa em g por planta (OLIVEIRA et al., 2016).

Na área de amostragem não destrutiva foi realizada a contagem de colmos (perfilhos) (aos 224 DAC), descontando as falhas de brotação (falhas na linha sem planta maiores de 0,50 m) (STOLF, 2015). O perfilhamento médio foi expresso em colmos por metro.

No final do ciclo da cana soca (390 DAC) foi realizada a queima da palha e o corte manual dos colmos. Com o auxílio do dinamômetro digital foi pesado todos os colmos na parcela para estimativa da produtividade. Foram separados 10 colmos para serem encaminhados ao laboratório da Miriri Alimentos e Bioenergia S/A para determinação dos atributos de qualidade industrial e estimativa da produção de açúcar por hectare (TPH) segundo a fórmula  $TPH = (PC \times TCH)/100$ , proposta por De Lima Neto et al. (2013).

#### ***2.4.2 Estado nutricional***

As folhas +1 separadas durante a coleta dos dados biométricos, aos 100 DAC, foram postas para secar em estufa de circulação forçada de ar, a 65°C, até atingir peso constante, e em seguida trituradas em moinho de facas. O material seco foi utilizado para determinação dos teores totais de Mo. A análise dos teores de Mo foram realizados a partir da digestão em solução nítrico-perclórica, e o extrato submetido à reação iodeto de potássio + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na presença de BRIJ-35 20% (método catalítico) posteriormente determinados em espectrofotômetro no comprimento de onda 420 nm (Embrapa, 2009).

O nitrogênio acumulado foi determinado a partir do produto do teor de N e o material seco de colmo, folha seca, folha verde e ponteiro. As amostras foram digeridas em solução sulfúrica e destilada segundo o método de Kjeldahl e titulada em solução diluída de HCl, expressas em g planta<sup>-1</sup> (Embrapa, 2009).

### **2.4.3 Atividade da enzima redutase do nitrato**

A atividade da enzima redutase do nitrato (ARN) na cana-de-açúcar seguiu a metodologia *in vivo* proposta por Jaworski (1971) com adaptações propostas por Santos et al. (2014). Em campo foram coletadas oito folhas +1 dentro da área útil entre as 11:30 e as 13:30 horas. O terço médio das folhas foram embalados em papel alumínio e acondicionadas em caixa de isopor com gelo.

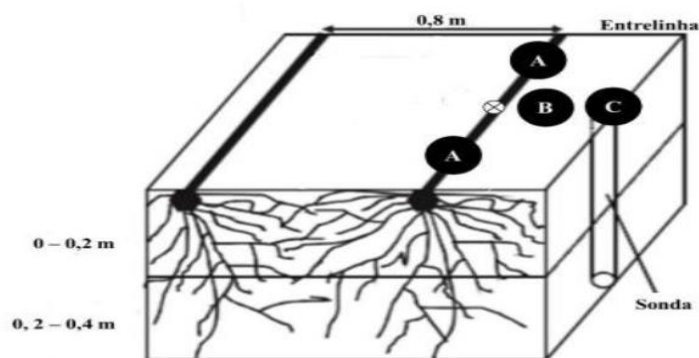
Após a coleta, o material foi conduzido para laboratório para subamostragem de 0,50 g de tecido foliar (excluindo a nervura central), que foi acondicionada em recipiente plástico preto para incubação ao abrigo da luz. Em cada recipiente foram adicionados 10 mL da solução de incubação (2,5 mL de tampão fosfato 285 mmol L<sup>-1</sup> com pH 7,3; 2,5 mL de KNO<sub>3</sub> 300 mmol L<sup>-1</sup>; 1 mL de Tween 20 a 0,6%; e 4,0 mL de água deionizada). A reação ocorreu em sala quente a 32°C durante 90 minutos.

Após incubação, a solução de leitura foi preparada utilizando 0,5 mL do extrato + 0,5 mL de dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina (0,02%) + 0,5 mL de solução de sulfanilamida (1%) diluída em HCl 3 mols L<sup>-1</sup> + 2,5 mL de água destilada. Após 20 minutos de reação, a solução foi lida em espectrofotômetro ajustado para 540 nm e a ARN foi estimada a partir de curva padrão e ARN foi expressa em  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1} \text{NO}_2^-$  (JAWORSKI, 1971).

### **2.4.4 Produção de biomassa radicular**

A biomassa radicular foi determinada seguindo a metodologia descrita por Otto et al. (2009), com adaptações para espaçamento duplo. Na área útil foram coletadas amostras de solo com sonda de 0,025 m de diâmetro interno nas profundidades 0 a 0,2 e 0,20 a 0,4 m, no entorno de uma planta. Na linha de plantio a coleta ocorreu a 0,15 m (A1 e A2), e na entrelinha a 0,30 m (B) e 0,60 m (C) de distância de uma touceira (Figura 4) escolhida aleatoriamente, totalizando oito amostras por parcela.

As raízes foram separadas do solo por meio de lavagem em água corrente sobre peneiras de 2 mm e 1 mm e conduzidas para estufa á 65°C, sob ventilação forçada de ar até atingir massa constante. Posteriormente as amostras foram pesadas para estimar a massa seca de raiz por volume de solo expressa em g dm<sup>-3</sup>.



**Figura 4** - Ilustração da amostragem de raiz. Representa à touceira e A1, A2, B e C representam os pontos de coleta. Fonte: Adaptado de Otto et al. (2009)

## 2.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados separadamente para cada variedade. Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade e, quando normais, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em fatorial triplo (N, Mo, inoculação). As médias, quando apresentaram diferença significativa, foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,10$ ).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Acúmulo de nitrogênio nas plantas

O acúmulo de N na parte aérea da cana soca foi influenciado pela adubação nitrogenada e pela inoculação da bactéria *Stenotrophomonas* sp. na RB867515. Com a adubação nitrogenada o acúmulo de N aumentou em 58%. Quando inoculada com a bactéria *Stenotrophomonas* sp. houve redução de 22% no acúmulo de N.

Na RB92579 o N acumulado na parte aérea aumentou com a aplicação de N (69%) e Mo (24%) isolados. A contribuição do Mo no acúmulo de N pode ter sido ocasionada pela maior assimilação do N, verificada pela maior atividade da enzima redutase do nitrato com a adubação molibídica (Tabela 2).

### 3.2 Teor de Molibdênio e Atividade da Redutase do Nitrato na folha +1

A interação entre o N, Mo e o inoculante, apresentou efeito no teor do Mo na folha +1 para RB867515 (Tabela 2). O teor de Mo na folha +1 aumentou com a inoculação com bactéria e não apresentou diferença para plantas adubadas com Mo. A interação entre N+Mo+Bac favoreceu o acúmulo de Mo na folha não diferindo da aplicação de Mo isolada. A



adubação molibídica isolada foi o único fator que elevou significativamente o teor de Mo nas folhas +1 na RB92579.

A atividade da redutase do nitrato (ARN) nas duas variedades analisadas foi baixa, o que pode ser justificado pelo período de realização da análise, aos 340 dias após a colheita, a atividade da enzima é reduzida (Tabela 2) (SANTOS et al., 2014). A atividade da enzima não apresentou significância para nenhum dos fatores analisados na RB867515, o que indica a baixa contribuição do nitrogênio, molibdênio e da inoculação na ARN no final do ciclo da cultura.

Na RB92579 a ARN apresentou efeito para aplicação isolada de N, Mo e inoculação bacteriana isolados, como também da interação do N+Bac. A adubação nitrogenada e molibídica elevaram a atividade da enzima em 40 e 22% em comparação ao controle absoluto. Quando aplicado a inoculação associado a adubação nitrogenada a atividade da enzima reduziu 33% quando comparado a aplicação com N isolado, indicando que o inculante reduziu a necessidade da N na planta.

**Tabela 2** – Nitrogênio (N) acumulado na cana soca, e teor de Molibdênio (Mo) e Atividade da enzima nitrato redutase (ARN) avaliados na folha índice (+1) do segundo ciclo da cana-de-açúcar (RB92579 e RB867515), aos 100 dias após a colheita para N e Mo e aos 340 dias após a colheita para ARN

|                 |              | N acumulado<br>g planta <sup>-1</sup> |        |              | Molibdênio<br>mg kg <sup>-1</sup> |         |              | ARN<br>μmol NO <sup>2-</sup> g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> |                   |              |
|-----------------|--------------|---------------------------------------|--------|--------------|-----------------------------------|---------|--------------|--|-------------------|--------------|
| <b>RB867515</b> |              |                                       |        |              |                                   |         |              |  |                   |              |
|                 |              | -Mo                                   | +Mo    | <b>Média</b> | -Mo                               | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo  | +Mo               | <b>Média</b> |
| -B              | -N           | 29,40                                 | 38,91  | 44,91A       | 1,64 Bb                           | 2,31 Aa | 1,89         | 0,18   | 0,21              | 0,19         |
|                 | +N           | 53,25                                 | 58,11  |              | 1,54 Bb                           | 2,07 Aa |              | 0,22   | 0,23              |              |
| +B              | -N           | 24,89                                 | 31,06  | 35,22B       | 2,17 Aa                           | 1,42 Bb | 1,95         | 0,16   | 0,18              | 0,21         |
|                 | +N           | 42,76                                 | 42,16  |              | 1,98 Aa                           | 2,22 Aa |              | 0,24   | 0,17              |              |
|                 | -N           | 27,14                                 | 34,98  | 31,06B       | 1,90                              | 1,86    | 1,88         | 0,17   | 0,19              | 0,18         |
|                 | +N           | 48,00                                 | 50,13  | 49,07A       | 1,76                              | 2,15    | 1,95         | 0,23   | 0,20              | 0,22         |
|                 | <b>Média</b> | 37,57                                 | 42,56  |              | 1,83                              | 2,00    |              | 0,20   | 0,20              |              |
| ANOVA           |              | F <sup>1</sup>                        |        |              | F                                 |         |              | F  |                   |              |
|                 | N            | 11.038***                             |        |              | 0.254 <sup>ns</sup>               |         |              | 2.483 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | Mo           | 1.000 <sup>ns</sup>                   |        |              | 1.507 <sup>ns</sup>               |         |              | 0.034 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | Bac          | 3.482*                                |        |              | 0.175 <sup>ns</sup>               |         |              | 1.301 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | N*Mo         | 0.424 <sup>ns</sup>                   |        |              | 2.316 <sup>ns</sup>               |         |              | 1.836 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | N*Bac        | 0.293 <sup>ns</sup>                   |        |              | 2.969*                            |         |              | 0.020 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | Mo*Bac       | 0.029 <sup>ns</sup>                   |        |              | 9.219***                          |         |              | 1.386 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | N*Mo*Bac     | 0.001 <sup>ns</sup>                   |        |              | 4.145*                            |         |              | 0.415 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | CV%          | 18,73                                 |        |              | 20,49                             |         |              | 28,96  |                   |              |
| <b>RB92579</b>  |              |                                       |        |              |                                   |         |              |  |                   |              |
|                 |              | -N                                    | +N     | <b>Média</b> | -N                                | +N      | <b>Média</b> | -N   | +N                | <b>Média</b> |
|                 | -Bac         | 22,35                                 | 37,30  | 29,83        | 1,72                              | 2,15    | 1,93         | 0,24 Ab  | 0,42 Aa           | 0,33         |
|                 | +Bac         | 22,17                                 | 37,90  | 30,04        | 1,76                              | 1,62    | 1,69         | 0,26 Aa  | 0,28 Ba           | 0,27         |
|                 | -Mo          | 17,85                                 | 35,67  | 26,76B       | 1,46                              | 1,37    | 1,41 B       | 0,24   | 0,31              | 0,27 B       |
|                 | +Mo          | 26,67                                 | 39,54  | 33,11A       | 2,02                              | 2,40    | 2,21 A       | 0,27   | 0,39              | 0,33 A       |
|                 | <b>Média</b> | 22,26B                                | 37,60A |              | 1,74                              | 1,89    |              | 0,25B  | 0,35 <sup>a</sup> |              |
| ANOVA           |              | F                                     |        |              | F                                 |         |              | F  |                   |              |
|                 | N            | 22.808***                             |        |              | 0.608 <sup>ns</sup>               |         |              | 11.502***  |                   |              |
|                 | Mo           | 3.905*                                |        |              | 17.794***                         |         |              | 3.491*   |                   |              |
|                 | Bac          | 0.004 <sup>ns</sup>                   |        |              | 1.659 <sup>ns</sup>               |         |              | 3.884*   |                   |              |
|                 | N*Mo         | 0.594 <sup>ns</sup>                   |        |              | 1.493 <sup>ns</sup>               |         |              | 0.803 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | N*Bac        | 0.015 <sup>ns</sup>                   |        |              | 2.307 <sup>ns</sup>               |         |              | 6.727**  |                   |              |
|                 | Mo*Bac       | 0.259 <sup>ns</sup>                   |        |              | 0.001 <sup>ns</sup>               |         |              | 0.001 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | N*Mo*Bac     | 0.068 <sup>ns</sup>                   |        |              | 0.702 <sup>ns</sup>               |         |              | 0.010 <sup>ns</sup>  |                   |              |
|                 | CV%          | 30,35                                 |        |              | 29,49                             |         |              | 27,56  |                   |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\* significativo a 1%, \*\* significativo a 5%, \* significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência de 0,5.

### 3.3 Parâmetros biométricos aos 100 e 340 DAC

O crescimento em altura na RB867515 foi comprometido pela inoculação bacteriana, reduzindo cerca de 10% o comprimento das plantas aos 100 dias após a colheita (DAC), principalmente quando associado à adubação molidbídica, inibindo o efeito do nutriente (Tabela 3). O mesmo foi observado no diâmetro do colmo para inoculação isolada, com redução de 3% na circunferência dos colmos.

A adubação nitrogenada e molidbídica promoveram efeitos semelhantes no crescimento das plantas, com contribuição de 11 e 10% na altura das plantas, não diferindo da aplicação conjunta (N+Mo), com contribuições independentes um do outro. Assim o Mo isolado induz o crescimento de forma semelhante ao N na fase inicial. No final do ciclo o efeito observado é apenas do N, indicando que a planta responde ao N na fase final de desenvolvimento.

No início do ciclo a circunferência do colmo apresentou efeito positivo da adubação nitrogenada, aumentando 6% o diâmetro dos colmos, não sendo observado efeito da adubação molidbídica. Aos 340 DAC não houve diferença no diâmetro dos colmos pela aplicação dos tratamentos. O efeito da interação tripla N+Mo+Bac foi identificada no perfilhamento das plantas aos 290 DAC, com as maiores contribuições advindas da inoculação bacteriana, não diferindo da aplicação com nitrogênio.

Para variedade RB92579 aos 100 DAC a inoculação com *Stenotrophomonas* sp. contribuiu com 7% no crescimento das plantas em altura (Tabela 4). Contudo, os maiores incrementos em altura foram ocasionados pela aplicação do N e Mo isolados ou associados, com incremento de 44% na altura das plantas pela interação N+Mo, não diferindo da aplicação de Mo isolado. Os benefícios da associação do N e Mo na fase inicial de desenvolvimento também foram observados no diâmetro dos colmos, que prevaleceu até os 340 DAC.

Aos 340 DAC o N e Mo isolados continuaram influenciando de forma positiva no comprimento das plantas, o que evidencia a importância da adubação nitrogenada e molidbídica na cana soca. A adubação nitrogenada também foi responsável pelo incremento no número de perfilhos aos 290 DAC, assim como a inoculação com bactéria diazotrófica, favorecendo o efeito significativo da interação tripla (N+Mo+Bac).

**Tabela 3** - Variáveis biométrica (altura e diâmetro) e perfilhamento avaliados na cana soca (RB867515) aos 100 e 340 dias após a colheita

|                |              | Altura              |          |              | Diâmetro            |      |              | Perfilho                |         |              |
|----------------|--------------|---------------------|----------|--------------|---------------------|------|--------------|-------------------------|---------|--------------|
|                |              | Cm                  |          |              | Cm                  |      |              | Plantas m <sup>-1</sup> |         |              |
| <b>100 DAC</b> |              |                     |          |              |                     |      |              |                         |         |              |
|                |              | -Mo                 | +Mo      | <b>Média</b> | -Mo                 | +Mo  | <b>Média</b> | -Mo                     | +Mo     | <b>Média</b> |
| -B             | -N           | 76,20               | 100,07   | 95,46        | 2,00                | 2,23 | 2,18A        | 8,00ABa                 | 8,00ABa | 8,20         |
|                | +N           | 97,24               | 108,32   |              | 2,25                | 2,23 |              | 8,00Bb                  | 8,75Aa  |              |
| +B             | -N           | 78,50               | 87,65    | 85,41        | 2,07                | 2,00 | 2,10B        | 8,50Aa                  | 8,50Aa  | 8,50         |
|                | +N           | 91,51               | 83,97    |              | 2,16                | 2,14 |              | 9,00Aa                  | 8,00Bb  |              |
|                | -N           | 77,35Bb             | 93,86Aa  | 85,61        | 2,04                | 2,11 | 2,07B        | 8,25                    | 8,25    | 8,25         |
|                | +N           | 94,38Aa             | 96,14Aa  | 95,26        | 2,21                | 2,19 | 2,20A        | 8,50                    | 8,37    | 8,44         |
|                | -Bac         | 86,71Ab             | 104,20Aa | 95,46        | 2,13                | 2,23 | 2,18A        | 8,00                    | 8,37    | 8,20         |
|                | +Bac         | 85,01Aa             | 85,81Ba  | 85,41        | 2,11                | 2,07 | 2,10B        | 8,75                    | 8,25    | 8,50         |
|                | <b>Média</b> | 85,97               | 95,00    |              | 2,12                | 2,15 |              | 8,37                    | 8,31    |              |
| ANOVA          |              | F                   |          |              | F                   |      |              | F <sup>1</sup>          |         |              |
|                | N            | 10.17***            |          |              | 6.76**              |      |              | 0.10 <sup>ns</sup>      |         |              |
|                | Mo           | 9.11***             |          |              | 0.41 <sup>ns</sup>  |      |              | 0.44 <sup>ns</sup>      |         |              |
|                | Bac          | 11.02***            |          |              | 3.48*               |      |              | 4.41**                  |         |              |
|                | N*Mo         | 5.93**              |          |              | 0.89 <sup>ns</sup>  |      |              | 0.31 <sup>ns</sup>      |         |              |
|                | N*Bac        | 2.72 <sup>ns</sup>  |          |              | 0.02 <sup>ns</sup>  |      |              | 0.19 <sup>ns</sup>      |         |              |
|                | Mo*Bac       | 7.59**              |          |              | 2.66 <sup>ns</sup>  |      |              | 6.92**                  |         |              |
|                | N*Mo*Bac     | 0.10 <sup>ns</sup>  |          |              | 2.82 <sup>ns</sup>  |      |              | 6.73**                  |         |              |
|                | CV%          | 9,47                |          |              | 6,23                |      |              | 3,20                    |         |              |
| <b>340 DAC</b> |              |                     |          |              |                     |      |              |                         |         |              |
|                |              | -Bac                | +Bac     | <b>Média</b> | -Bac                | +Bac | <b>Média</b> |                         |         |              |
|                | -N           | 269                 | 269      | 268 B        | 2,24                | 2,16 | 2,20         |                         |         |              |
|                | +N           | 292                 | 291      | 291 A        | 2,24                | 2,25 | 2,24         |                         |         |              |
|                | <b>Média</b> | 280                 | 279      |              | 2,24                | 2,20 |              |                         |         |              |
| ANOVA          |              | F                   |          |              | F                   |      |              |                         |         |              |
|                | N            | 4.581**             |          |              | 0.694 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | Mo           | 1.476 <sup>ns</sup> |          |              | 0.837 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | Bac          | 0.012 <sup>ns</sup> |          |              | 0.734 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | N*Mo         | 0.375 <sup>ns</sup> |          |              | 0.003 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | N*Bac        | 0.007 <sup>ns</sup> |          |              | 0.996 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | Mo*Bac       | 0.141 <sup>ns</sup> |          |              | 1.530 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | N*Mo*Bac     | 0.604 <sup>ns</sup> |          |              | 0.832 <sup>ns</sup> |      |              |                         |         |              |
|                | CV%          | 10,88               |          |              | 5,92                |      |              |                         |         |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\*significativo a 1%, \*\*significativo a 5%, \*significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência de 0,5. Altura medida da base do colmo à inserção da folha +1. Diâmetro medido no terço médio do colmo.

**Tabela 4** - Variáveis biométrica (altura e diâmetro) e perfilhamento avaliados na cana soca

(RB92579) aos 100 e 340 dias após a colheita

|                |              | Altura<br>Cm        |         |              | Diâmetro<br>Cm      |         |              | Perfilho<br>Plantas m <sup>-1</sup> |         |              |
|----------------|--------------|---------------------|---------|--------------|---------------------|---------|--------------|-------------------------------------|---------|--------------|
| <b>100 DAC</b> |              |                     |         |              |                     |         |              |                                     |         |              |
|                |              | -Mo                 | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo                 | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo                                 | +Mo     | <b>Média</b> |
| -Bac           | -N           | 55,11               | 72,38   | 70,60B       | 1,85                | 1,98    | 1,92         | 11,00Aa                             | 10,25Ba | 8,20         |
|                | +N           | 70,78               | 84,10   |              | 1,98                | 1,88    |              | 11,25Aa                             | 11,25Aa |              |
| +Bac           | -N           | 61,63               | 81,31   | 76,06A       | 1,88                | 2,08    | 2,01         | 11,00Aa                             | 11,25Aa | 8,50         |
|                | +N           | 77,31               | 83,98   |              | 2,02                | 2,02    |              | 12,00Aa                             | 11,25Aa |              |
|                | -N           | 58,37Bb             | 76,85Aa | 67,61        | 1,86 Ba             | 2,03 Aa | 1,95         | 11,00                               | 10,75   | 10,87        |
|                | +N           | 74,05Ab             | 84,04Aa | 79,04        | 2,01 Aa             | 1,95 Aa | 1,98         | 11,63                               | 11,25   | 11,44        |
|                | <b>Média</b> | 66,21               | 80,44   |              | 1,93                | 1,99    |              | 11,31                               | 11,00   |              |
| ANOVA          |              | F                   |         |              | F <sup>2</sup>      |         |              | F <sup>1</sup>                      |         |              |
|                | N            | 27.94***            |         |              | 0.09 <sup>ns</sup>  |         |              | 4.11*                               |         |              |
|                | Mo           | 43.30***            |         |              | 0.73 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.27 <sup>ns</sup>                  |         |              |
|                | Bactéria     | 6.39**              |         |              | 2.70 <sup>ns</sup>  |         |              | 3.93*                               |         |              |
|                | N*Mo         | 3.85*               |         |              | 2.99*               |         |              | 0.00 <sup>ns</sup>                  |         |              |
|                | N*Bac        | 1.09 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.01 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.17 <sup>ns</sup>                  |         |              |
|                | Mo*Bac       | 0.24 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.31 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.00 <sup>ns</sup>                  |         |              |
|                | N*Mo*Bac     | 1.10 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.06 <sup>ns</sup>  |         |              | 3.44*                               |         |              |
|                | CV%          | 8,35                |         |              | 19,47               |         |              | 3,62                                |         |              |
| <b>340 DAC</b> |              |                     |         |              |                     |         |              |                                     |         |              |
|                |              | -Mo                 | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo                 | +Mo     | <b>Média</b> |                                     |         |              |
|                | -N           | 249                 | 271     | 260 B        | 1,97Ab              | 2,09Aa  | 2,03         |                                     |         |              |
|                | +N           | 284                 | 289     | 287 A        | 2,07Aa              | 2,02Aa  | 2,05         |                                     |         |              |
|                | <b>Média</b> | 266 B               | 280 A   |              | 2,02                | 2,05    |              |                                     |         |              |
| ANOVA          |              | F                   |         |              | F                   |         |              |                                     |         |              |
|                | N            | 12.556***           |         |              | 0.096 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | Mo           | 3.139*              |         |              | 0.617 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | Bactéria     | 0.409 <sup>ns</sup> |         |              | 0.011 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | N*Mo         | 1.244 <sup>ns</sup> |         |              | 3.115*              |         |              |                                     |         |              |
|                | N*Bac        | 0.06 <sup>ns</sup>  |         |              | 0.005 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | Mo*Bac       | 0.022 <sup>ns</sup> |         |              | 0.796 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | N*Mo*Bac     | 0.119 <sup>ns</sup> |         |              | 0.035 <sup>ns</sup> |         |              |                                     |         |              |
|                | CV%          | 7,89                |         |              | 6,18                |         |              |                                     |         |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\*significativo a 1%, \*\*significativo a 5%, \*significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência de 0,5 e <sup>2</sup>potência de 2,5. Altura medida da base do colmo à inserção da folha +1. Diâmetro medido no terço médio do colmo.

### **3.4 Produção de biomassa da parte aérea aos 100 e 340 DAC**

Na RB867515 aos 100 DAC a inoculação bacteriana reduziu a produção de biomassa seca da parte aérea. A produção de massa seca de colmo e folhas foram comprometidas pela inoculação isolada e ao interagir com o N e Mo, inibindo os efeitos ocasionados pela aplicação dos mesmos. Os efeitos maléficos da inoculação associado ao N e Mo foram refletidos aos 340 DAC com redução na produção de biomassa seca de colmo e folha (Tabela 5), indicando que a associação planta-bactéria para esta variedade não foi eficiente para o desenvolvimento da parte aérea das plantas.

Na fase inicial do ciclo para variedade RB92579 a aplicação associada do N+Mo+Bac foi significativa para a produção de massa seca de folhas e total, não diferindo da aplicação do N e Mo associado, indicando que os efeitos positivos adviram do N e Mo. A produção de massa seca de colmo também foi beneficiada pela interação N+Mo em 81%, não diferindo da aplicação do N e Mo isolados (Tabela 6). Aos 340 DAC os únicos efeitos positivos que prevaleceram foram da aplicação do N e Mo isolados, aumentando a produção de biomassa seca de colmos e total.

**Tabela 5** - Biomassa seca da parte aérea da cana soca (RB867515), avaliada aos 100 e 340 dias após a colheita

|                | MS colmo<br>g planta <sup>-1</sup> |          |        | MS folhas<br>g planta <sup>-1</sup> |         |       | MS total<br>g planta <sup>-1</sup> |          |        |
|----------------|------------------------------------|----------|--------|-------------------------------------|---------|-------|------------------------------------|----------|--------|
|                | -Bac                               | +Bac     | Média  | -Bac                                | +Bac    | Média | -Bac                               | +Bac     | Média  |
| <b>100 DAC</b> |                                    |          |        |                                     |         |       |                                    |          |        |
| -N             | 20,04Ba                            | 22,15Aa  | 21,10  | 43,40Ba                             | 44,60Aa | 44,00 | 63,45Ba                            | 66,75Aa  | 65,10  |
| +N             | 31,05Aa                            | 20,74Ab  | 25,90  | 58,07Aa                             | 47,87Ab | 52,94 | 89,11Aa                            | 68,61Ab  | 78,86  |
| -Mo            | 21,67Ba                            | 21,24Aa  | 21,46  | 43,27Ba                             | 45,70Aa | 44,48 | 64,93Ba                            | 66,93Aa  | 65,93  |
| +Mo            | 29,42Aa                            | 21,65Ab  | 25,54  | 58,20Aa                             | 46,80Ab | 52,50 | 87,61Aa                            | 68,44Ab  | 78,03  |
| <b>Média</b>   | 25,54                              | 21,45    |        | 50,73                               | 46,24   |       | 76,28                              | 67,68    |        |
| ANOVA          | F <sup>1</sup>                     |          |        | F <sup>1</sup>                      |         |       | F                                  |          |        |
| N              | 5.76**                             |          |        | 13.15***                            |         |       | 13.83***                           |          |        |
| Mo             | 5.03**                             |          |        | 10.03***                            |         |       | 10.98***                           |          |        |
| Bac            | 4.05*                              |          |        | 2.44 <sup>ns</sup>                  |         |       | 4.72**                             |          |        |
| N*Mo           | 0.41 <sup>ns</sup>                 |          |        | 0.43 <sup>ns</sup>                  |         |       | 0.06 <sup>ns</sup>                 |          |        |
| N*Bac          | 10.81***                           |          |        | 5.72**                              |         |       | 10.69***                           |          |        |
| Mo*Bac         | 4.36**                             |          |        | 7.65**                              |         |       | 8.47***                            |          |        |
| N*Mo*Bac       | 0.02 <sup>ns</sup>                 |          |        | 0.01 <sup>ns</sup>                  |         |       | 0.00 <sup>ns</sup>                 |          |        |
| CV%            | 11,23                              |          |        | 3,55                                |         |       | 7,05                               |          |        |
| <b>340 DAC</b> |                                    |          |        |                                     |         |       |                                    |          |        |
| -N             | 366,12Ba                           | 385,53Aa | 375,83 | 74,02Aa                             | 73,67Aa | 73,84 | 440,13Ba                           | 459,20Aa | 449,67 |
| +N             | 458,27Aa                           | 362,60Ab | 410,43 | 82,44Aa                             | 62,49Ab | 72,46 | 540,71Aa                           | 425,10Ab | 482,90 |
| -Mo            | 377,28Aa                           | 400,11Aa | 388,70 | 78,49                               | 67,67   | 73,10 | 455,77Aa                           | 467,78Aa | 461,77 |
| +Mo            | 447,11Aa                           | 348,02Ab | 397,57 | 77,97                               | 68,49   | 73,23 | 525,07Aa                           | 416,50Ab | 470,79 |
| <b>Média</b>   | 412,20                             | 374,07   |        | 78,23                               | 68,10   |       | 490,42                             | 442,14   |        |
| ANOVA          | F                                  |          |        | F                                   |         |       | F                                  |          |        |
| N              | 1.329 <sup>ns</sup>                |          |        | 0.072 <sup>ns</sup>                 |         |       | 1.071 <sup>ns</sup>                |          |        |
| Mo             | 0.087 <sup>ns</sup>                |          |        | 0.001 <sup>ns</sup>                 |         |       | 0.079 <sup>ns</sup>                |          |        |
| Bactéria       | 1.613 <sup>ns</sup>                |          |        | 3.866*                              |         |       | 2.260 <sup>ns</sup>                |          |        |
| N*Mo           | 1.057 <sup>ns</sup>                |          |        | 0.437 <sup>ns</sup>                 |         |       | 1.140 <sup>ns</sup>                |          |        |
| N*Bac          | 3.673*                             |          |        | 3.608*                              |         |       | 4.397**                            |          |        |
| Mo*Bac         | 4.123*                             |          |        | 0.017 <sup>ns</sup>                 |         |       | 3.524*                             |          |        |
| N*Mo*Bac       | 0.002 <sup>ns</sup>                |          |        | 0.006 <sup>ns</sup>                 |         |       | 0.003 <sup>ns</sup>                |          |        |
| CV%            | 21,60                              |          |        | 19,96                               |         |       | 19,48                              |          |        |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\*significativo a 1%, \*\*significativo a 5%, \*significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência 0,5. MS: massa seca. MS folhas: folhas secas + folhas verdes + ponteiro. MS total: MS colmos + MS folhas.

**Tabela 6** - Biomassa seca da parte aérea da cana soca (RB92579), avaliada aos 100 e 340 dias após a colheita

|                |              | MS colmo<br>g planta <sup>-1</sup> |         |              | MS folhas<br>g planta <sup>-1</sup> |          |              | MS total<br>g planta <sup>-1</sup> |          |              |
|----------------|--------------|------------------------------------|---------|--------------|-------------------------------------|----------|--------------|------------------------------------|----------|--------------|
| <b>100 DAC</b> |              |                                    |         |              |                                     |          |              |                                    |          |              |
|                |              | -Mo                                | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo                                 | +Mo      | <b>Média</b> | -Mo                                | +Mo      | <b>Média</b> |
| -B             | -N           | 9,18                               | 14,08   |              | 32,59ABa                            | 33,82Ba  |              | 41,77Aa                            | 47,91Ba  | 48,57        |
|                | +N           | 13,15                              | 13,42   | 12,46        | 36,07ABa                            | 41,96ABa | 36,11        | 49,22Aa                            | 55,38Aa  |              |
| +B             | -N           | 7,92                               | 5,02    | 13,62        | 38,04Aa                             | 36,14Ba  | 37,52        | 45,96Aa                            | 51,16Ba  | 51,14        |
|                | +N           | 13,98                              | 17,57   |              | 30,63Bb                             | 45,27Aa  |              | 44,62Ab                            | 62,84 Aa |              |
|                | -N           | 8,55Bb                             | 14,55Aa | 11,55        | 35,31                               | 34,98    | 35,15        | 43,84                              | 49,53    | 46,70        |
|                | +N           | 13,57Aa                            | 15,50Aa | 14,53        | 33,35                               | 43,61    | 38,49        | 46,91                              | 59,11    | 53,01        |
|                | <b>Média</b> | 11,06                              | 15,02   |              | 34,33                               | 39,30    |              | 45,40                              | 54,32    |              |
| ANOVA          |              | F                                  |         |              | F                                   |          |              | F                                  |          |              |
|                | N            | 9.12***                            |         |              | 9.20***                             |          |              | 12.76***                           |          |              |
|                | Mo           | 16.17***                           |         |              | 20.38***                            |          |              | 25.53***                           |          |              |
|                | Bactéria     | 1.39 <sup>ns</sup>                 |         |              | 1.64 <sup>ns</sup>                  |          |              | 2.12 <sup>ns</sup>                 |          |              |
|                | N*Mo         | 4.27*                              |         |              | 23.21***                            |          |              | 3.41*                              |          |              |
|                | N*Bac        | 1.82 <sup>ns</sup>                 |         |              | 5.05**                              |          |              | 0.42 <sup>ns</sup>                 |          |              |
|                | Mo*Bac       | 1.97 <sup>ns</sup>                 |         |              | 1.62 <sup>ns</sup>                  |          |              | 2.48 <sup>ns</sup>                 |          |              |
|                | N*Mo*Bac     | 0.08 <sup>ns</sup>                 |         |              | 7.29**                              |          |              | 3.38*                              |          |              |
|                | CV%          | 21,39                              |         |              | 8,45                                |          |              | 10,03                              |          |              |
| <b>340 DAC</b> |              |                                    |         |              |                                     |          |              |                                    |          |              |
|                |              | -Mo                                | +Mo     | <b>Média</b> | -Mo                                 | +Mo      | <b>Média</b> | -Mo                                | +Mo      | <b>Média</b> |
|                | -N           | 285,49                             | 341,33  | 313,41 B     | 87,72                               | 97,40    | 92,56        | 373,21                             | 438,73   | 405,97 B     |
|                | +N           | 372,36                             | 393,16  | 382,80 A     | 95,53                               | 93,03    | 94,28        | 467,89                             | 486,19   | 477,04 A     |
|                | <b>Média</b> | 328,93B                            | 367,25A |              | 91,62                               | 95,22    |              | 420,55B                            | 462,46A  |              |
| ANOVA          |              | F                                  |         |              | F <sup>1</sup>                      |          |              | F                                  |          |              |
|                | N            | 10.831***                          |         |              | 0.081 <sup>ns</sup>                 |          |              | 9.994***                           |          |              |
|                | Mo           | 3.307*                             |         |              | 0.270 <sup>ns</sup>                 |          |              | 3.476*                             |          |              |
|                | Bactéria     | 0.231 <sup>ns</sup>                |         |              | 1.102 <sup>ns</sup>                 |          |              | 0.018 <sup>ns</sup>                |          |              |
|                | N*Mo         | 0.691 <sup>ns</sup>                |         |              | 0.676 <sup>ns</sup>                 |          |              | 1.103 <sup>ns</sup>                |          |              |
|                | N*Bac        | 1.655 <sup>ns</sup>                |         |              | 2.453 <sup>ns</sup>                 |          |              | 2.867 <sup>ns</sup>                |          |              |
|                | Mo*Bac       | 0.008 <sup>ns</sup>                |         |              | 0.002 <sup>ns</sup>                 |          |              | 0.014 <sup>ns</sup>                |          |              |
|                | N*Mo*Bac     | 0.019 <sup>ns</sup>                |         |              | 0.006 <sup>ns</sup>                 |          |              | 0.026 <sup>ns</sup>                |          |              |
|                | CV%          | 17,12                              |         |              | 7,00                                |          |              | 14,40                              |          |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\*significativo a 1%, \*\*significativo a 5%, \*significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>raiz cúbica. MS: massa seca. MS folhas: folhas secas + folhas verdes + ponteiro. MS total: MS colmos + MS folhas.



### 3.5 Produção de biomassa de raiz

O maior acúmulo de raízes se concentrou na camada 0-0,2 m, cerca de 56% na RB867515 e 62% na RB92579 (Tabela 7). Isso ocorreu devido na camada 0,2-0,4 m o solo está compactado (Tabela 1), identificado ao introduzir o amostrador de raízes no solo, dificultando a penetração do equipamento, o que inviabiliza a penetração das raízes em subsuperfície, favorecendo o desenvolvimento das raízes laterais em superfície.

Para RB867515 o incremento promovido pela interação N+Mo na produção de raízes da camada superficial do solo não diferiu do controle absoluto e foram superiores a aplicação do N e Mo isolados, ocasionado pela busca de reservas nutricionais nas plantas não adubadas. A inoculação também aumentou o crescimento radicular na camada superficial do solo em 30% (Tabela 7).

Em subsuperfície a aplicação do N+Mo e N+Bac aumentaram a produção de raízes, com os efeitos principais advindos da inoculação bacteriana com *Stenotrophomonas* sp. e do Mo, indicando ambos estimulam o crescimento radicular da planta. Na RB92579 em ambas as profundidades analisadas não foram identificados efeitos significativos dos tratamentos aplicados.

**Tabela 7** - Massa seca de raiz da cana soca (RB867515 e RB92579) nas profundidades 0-0,2 m (J1) e 0,2-0,4 m (J2), avaliada aos 100 dias após a colheita

|                 | 0-20 cm<br>g dm <sup>-3</sup> |        |              | 20-40 cm<br>g dm <sup>-3</sup> |        |              |
|-----------------|-------------------------------|--------|--------------|--------------------------------|--------|--------------|
| <b>RB867515</b> |                               |        |              |                                |        |              |
|                 | -N                            | +N     | <b>Média</b> | -N                             | +N     | <b>Média</b> |
| -Mo             | 1,00Aa                        | 0,62Bb | 0,81         | 0,51Aa                         | 0,36Ba | 0,43         |
| +Mo             | 0,68Bb                        | 1,00Aa | 0,83         | 0,53Aa                         | 0,77Aa | 0,65         |
| -Bac            | 0,77                          | 0,65   | 0,71B        | 0,54Aa                         | 0,40Ba | 0,47         |
| +Bac            | 0,90                          | 0,96   | 0,93A        | 0,50Aa                         | 0,73Aa | 0,62         |
| <b>Média</b>    | 0,84                          | 0,81   |              | 0,52                           | 0,56   |              |
| ANOVA           | F                             |        |              | F <sup>1</sup>                 |        |              |
| N               | 0.080 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.016 <sup>ns</sup>            |        |              |
| Mo              | 0.045 <sup>ns</sup>           |        |              | 4.495*                         |        |              |
| Bac             | 3.461*                        |        |              | 2.196 <sup>ns</sup>            |        |              |
| N*Mo            | 8.231**                       |        |              | 3.809*                         |        |              |
| N*Bac           | 0.565 <sup>ns</sup>           |        |              | 3.550*                         |        |              |
| Mo*Bac          | 0.128 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.483 <sup>ns</sup>            |        |              |
| N*Mo*Bac        | 0.009 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.097 <sup>ns</sup>            |        |              |
| CV%             | 35,02                         |        |              | 23,21                          |        |              |
| <b>RB92579</b>  |                               |        |              |                                |        |              |
|                 | -Mo                           | +Mo    | <b>Média</b> | -Mo                            | +Mo    | <b>Média</b> |
| -N              | 0,63                          | 0,67   | 0,65         | 0,37                           | 0,49   | 0,43         |
| +N              | 0,75                          | 0,79   | 0,77         | 0,47                           | 0,47   | 0,47         |
| <b>Média</b>    | 0,69                          | 0,73   |              | 0,42                           | 0,48   |              |
| ANOVA           | F <sup>1</sup>                |        |              | F <sup>1</sup>                 |        |              |
| N               | 0.620 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.070 <sup>ns</sup>            |        |              |
| Mo              | 0.251 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.457 <sup>ns</sup>            |        |              |
| Bac             | 0.033 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.344 <sup>ns</sup>            |        |              |
| N*Mo            | 0.000 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.291 <sup>ns</sup>            |        |              |
| N*Bac           | 0.146 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.511 <sup>ns</sup>            |        |              |
| Mo*Bac          | 0.046 <sup>ns</sup>           |        |              | 0.027 <sup>ns</sup>            |        |              |
| N*Mo*Bac        | 0.818 <sup>ns</sup>           |        |              | 2.223 <sup>ns</sup>            |        |              |
| CV%             | 23,67                         |        |              | 25,12                          |        |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\*significativo a 1%, \*\*significativo a 5%, \*significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência 0,5. J1: Profundidade 0-0,2 m. J2: Profundidade 0,2-0,4 m.

### 3.6 Produtividade e produção de açúcar

A produtividade da cana soca nas duas variedades foi favorecida pela adubação nitrogenada, com aumento de 14% e 10% na produção de colmos por hectare para as variedades RB92579 e RB867515, evidenciando a importância da adubação nitrogenada na socaria (Tabela 8). Apesar do aumento na produção de biomassa seca de colmos aos 340

DAC pela adubação molibídica na RB92579, os seus efeitos não foram refletidos na produtividade da socaria.

A adubação nitrogenada promoveu o aumento na produção de açúcar (TPH) em ambas as variedades. Na RB92579 além do efeito da adubação nitrogenada, foi identificado efeito da interação N+Bac, com o principal efeito da interação advindo da aplicação do N.

**Tabela 8** - Produção de colmos (TCH) e produção de açúcar (TPH) da cana soca (RB867515 e RB92579), avaliada aos 390 dias após a colheita

|                 | TCH<br>Mg ha <sup>-1</sup> |        |              | TPH<br>kg ha <sup>-1</sup> |         |              |
|-----------------|----------------------------|--------|--------------|----------------------------|---------|--------------|
| <b>RB867515</b> |                            |        |              |                            |         |              |
|                 | -Mo                        | +Mo    | <b>Média</b> | -Mo                        | +Mo     | <b>Média</b> |
| -N              | 87,60                      | 93,23  | 90,41B       | 13,22                      | 14,57   | 13,90B       |
| +N              | 100,18                     | 97,91  | 99,05A       | 15,36                      | 15,91   | 15,63A       |
| <b>Média</b>    | 93,89                      | 95,57  |              | 14,29                      | 15,24   |              |
| ANOVA           | F                          |        |              | F                          |         |              |
| N               | 7.475**                    |        |              | 6.617**                    |         |              |
| Mo              | 0.282 <sup>ns</sup>        |        |              | 1.972 <sup>ns</sup>        |         |              |
| Bac             | 1.819 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.872 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Mo            | 1.567 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.352 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Bac           | 0.036 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.256 <sup>ns</sup>        |         |              |
| Mo*Bac          | 2.459 <sup>ns</sup>        |        |              | 2.207 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Mo*Bac        | 0.020 <sup>ns</sup>        |        |              | 1.648 <sup>ns</sup>        |         |              |
| CV%             | 9,43                       |        |              | 12,94                      |         |              |
| <b>RB92579</b>  |                            |        |              |                            |         |              |
|                 | -Bac                       | +Bac   | <b>Média</b> | -Bac                       | +Bac    | <b>Média</b> |
| -N              | 98,38                      | 93,17  | 95,78B       | 17,13Ba                    | 15,65Bb | 16,39        |
| +N              | 107,95                     | 110,05 | 109,00A      | 18,55Aa                    | 19,11Aa | 18,83        |
| <b>Média</b>    | 103,17                     | 101,61 |              | 17,84                      | 17,38   |              |
| ANOVA           | F                          |        |              | F                          |         |              |
| N               | 21.687***                  |        |              | 17.540***                  |         |              |
| Mo              | 0.019 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.266 <sup>ns</sup>        |         |              |
| Bac             | 0.300 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.619 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Mo            | 0.357 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.162 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Bac           | 1.662 <sup>ns</sup>        |        |              | 3.078*                     |         |              |
| Mo*Bac          | 0.432 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.914 <sup>ns</sup>        |         |              |
| N*Mo*Bac        | 0.029 <sup>ns</sup>        |        |              | 0.125 <sup>ns</sup>        |         |              |
| CV%             | 7,84                       |        |              | 9,36                       |         |              |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, \*\*\* significativo a 1%, \*\* significativo a 5%, \* significativo a 10%. TCH: toneladas de colmo por hectare. TPH: toneladas de pol por hectare.

### 3.7 Atributos Agroindustriais

A adubação nitrogenada influenciou quatro variáveis dos atributos agroindustriais analisados na RB867515 (Tabela 9). O N aumentou a sacarose do caldo (POL) em 7%, o total de açúcar recuperado (ATR) em 10,8 kg Mg<sup>-1</sup>, a porcentagem de sacarose no colmo (PC) em 8% e o teor de sólidos solúveis (BRIX) em 5%. A interação do N+Bac apresentou efeito para o POL e açúcares redutores (A)R, com o efeito advindo da adubação nitrogenada, elevando a qualidade da cana-de-açúcar.

Na RB92579 o único fator dos atributos agroindustriais que apresentou significância para os tratamento em análise foi o teor de fibras, reduzido quando aplicado à adubação nitrogenada, ficando dentro de limite máximo desejado (13%) (Tabela 10).

**Tabela 9** - Atributos agroindustriais da cana soca (RB867515), avaliados aos 390 dias após a colheita.

|              | POL<br>----- % ----- |         |                       | AR     |        |                     | ATR<br>kg Mg <sup>-1</sup> |        |                     | Fibra<br>----- % ----- |       |                     | PC    |       |                     | Brix<br>°Brix |       |                    |
|--------------|----------------------|---------|-----------------------|--------|--------|---------------------|----------------------------|--------|---------------------|------------------------|-------|---------------------|-------|-------|---------------------|---------------|-------|--------------------|
| RB867515     |                      |         |                       |        |        |                     |                            |        |                     |                        |       |                     |       |       |                     |               |       |                    |
|              | -Bac                 | +Bac    | Média                 | -Bac   | +Bac   | Média               | -Bac                       | +Bac   | Média               | -Bac                   | +Bac  | Média               | -Bac  | +Bac  | Média               | -Bac          | +Bac  | Média              |
| -N           | 17,27Ba              | 18,46Aa | 17,87                 | 0,62Ba | 0,76Aa | 0,89                | 137,26                     | 145,98 | 141,62B             | 13,00                  | 13,40 | 13,20               | 14,38 | 15,29 | 14,84B              | 17,22         | 17,53 | 17,38B             |
| +N           | 19,46Aa              | 18,61Aa | 19,03                 | 1,01Aa | 0,85Aa | 0,73                | 155,20                     | 149,77 | 152,49A             | 12,61                  | 12,47 | 12,54               | 16,30 | 15,64 | 15,97A              | 18,26         | 18,25 | 18,25 <sup>a</sup> |
| <b>Média</b> | 18,36                | 18,54   |                       | 0,81   | 0,80   |                     | 146,23                     | 147,88 |                     | 12,81                  | 12,93 |                     | 15,34 | 15,47 |                     | 17,74         | 17,89 |                    |
| ANAVA        | F <sup>1</sup>       |         | F <sup>2</sup>        |        |        | F <sup>3</sup>      |                            |        | F <sup>4</sup>      |                        |       | F <sup>5</sup>      |       |       | F                   |               |       |                    |
| N            | 4.613 <sup>**</sup>  |         | 1.547 <sup>ns</sup>   |        |        | 4.274 <sup>*</sup>  |                            |        | 1.766 <sup>ns</sup> |                        |       | 4.687 <sup>**</sup> |       |       | 5.059 <sup>**</sup> |               |       |                    |
| Mo           | 2.119 <sup>ns</sup>  |         | 2.853 <sup>ns</sup>   |        |        | 1.988 <sup>ns</sup> |                            |        | 0.058 <sup>ns</sup> |                        |       | 1.977 <sup>ns</sup> |       |       | 0.511 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| Bac          | 0.031 <sup>ns</sup>  |         | 0.002 <sup>ns</sup>   |        |        | 0.066 <sup>ns</sup> |                            |        | 0.014 <sup>ns</sup> |                        |       | 0.052 <sup>ns</sup> |       |       | 0.153 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| N*Mo         | 0.526 <sup>ns</sup>  |         | 2.157 <sup>v ns</sup> |        |        | 0.504 <sup>ns</sup> |                            |        | 0.111 <sup>ns</sup> |                        |       | 0.725 <sup>ns</sup> |       |       | 0.051 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| N*Bac        | 3.315 <sup>*</sup>   |         | 4.729 <sup>**</sup>   |        |        | 1.699 <sup>ns</sup> |                            |        | 0.161 <sup>ns</sup> |                        |       | 2.238 <sup>ns</sup> |       |       | 0.161 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| Mo*Bac       | 0.061 <sup>ns</sup>  |         | 0.860 <sup>ns</sup>   |        |        | 0.477 <sup>ns</sup> |                            |        | 1.162 <sup>ns</sup> |                        |       | 0.276 <sup>ns</sup> |       |       | 2.633 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| N*Mo*Bac     | 0.024 <sup>ns</sup>  |         | 0.803 <sup>ns</sup>   |        |        | 0.036 <sup>ns</sup> |                            |        | 1.218 <sup>ns</sup> |                        |       | 0.085 <sup>ns</sup> |       |       | 1.551 <sup>ns</sup> |               |       |                    |
| CV%          | 22,84                |         | 8,92                  |        |        | 22,85               |                            |        | 15,02 <sup>ns</sup> |                        |       | 14,03               |       |       | 6,21                |               |       |                    |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, <sup>\*\*\*</sup>significativo a 1%, <sup>\*\*</sup>significativo a 5%, <sup>\*</sup>significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência de 3,0; <sup>2</sup>N\_X\_1\_potência de 0,0; <sup>3</sup>potência 2,5; <sup>4</sup>potência de 1,5NEG; <sup>5</sup>potência de 1,5. POL: porcentagem de sacarose aparente no caldo. AR: porcentagem de açúcares redutores. ATR: açúcar teórico recuperável. PC: porcentagem de sacarose no colmo. BRIX: teor de sólidos solúveis.

**Tabela 10** - Atributos agroindustriais da cana soca (RB92579), avaliados aos 390 dias após a colheita.

|                |              | POL                 |       |       | AR                  |      |       | ATR                 |        |        | Fibra               |          |        | PC                  |       |       | Brix                |       |       |
|----------------|--------------|---------------------|-------|-------|---------------------|------|-------|---------------------|--------|--------|---------------------|----------|--------|---------------------|-------|-------|---------------------|-------|-------|
|                |              | ----- % -----       |       |       |                     |      |       | kg Mg <sup>-1</sup> |        |        | ----- % -----       |          |        | °Brix               |       |       |                     |       |       |
| <b>RB92579</b> |              |                     |       |       |                     |      |       |                     |        |        |                     |          |        |                     |       |       |                     |       |       |
|                |              | -Bac                | +Bac  | Média | -Bac                | +Bac | Média | -Bac                | +Bac   | Média  | -Bac                | +Bac     | Média  | -Bac                | +Bac  | Média | -Bac                | +Bac  | Média |
| -Mo            | -N           | 19,60               | 19,79 | 19,97 | 0,48                | 0,48 | 0,50  | 158,74              | 159,18 | 161,59 | 11,46Aba            | 11,86Aa  | 11,55  | 16,75               | 16,80 | 17,05 | 18,31               | 18,36 | 18,67 |
|                | +N           | 20,60               | 19,90 |       | 0,47                | 0,54 |       | 165,78              | 162,64 |        | 11,76Ba             | 11,12Ba  |        | 17,52               | 17,11 |       | 19,12               | 18,90 |       |
| +Mo            | -N           | 20,49               | 19,59 | 20,05 | 0,47                | 0,70 | 0,57  | 163,91              | 158,04 | 162,32 | 12,11Aa             | 11,67ABa | 11,55  | 17,32               | 16,68 | 17,11 | 18,91               | 18,92 | 18,98 |
|                | +N           | 19,89               | 20,24 |       | 0,57                | 0,57 |       | 162,75              | 164,60 |        | 11,09Ba             | 11,34Ba  |        | 17,10               | 17,34 |       | 18,99               | 19,10 |       |
|                | -N           | 20,04               | 19,69 | 19,97 | 0,48                | 0,59 | 0,53  | 161,33              | 158,61 | 159,97 | 11,78               | 11,77    | 11,78A | 17,73               | 16,74 | 16,88 | 18,61               | 18,64 | 18,63 |
|                | +N           | 20,25               | 20,07 | 20,16 | 0,52                | 0,54 | 0,53  | 164,26              | 163,62 | 163,94 | 11,43               | 11,23    | 11,33B | 17,31               | 17,23 | 17,27 | 19,05               | 19,00 | 19,03 |
|                | <b>Média</b> | 19,88               | 20,14 |       | 0,50                | 0,56 |       | 162,80              | 161,11 |        | 11,61               | 11,50    |        | 17,17               | 16,98 |       | 18,83               | 18,82 |       |
| ANAVA          |              | F <sup>1</sup>      |       |       | F <sup>2</sup>      |      |       | F <sup>3</sup>      |        |        | F                   |          |        | F <sup>4</sup>      |       |       | F                   |       |       |
|                | N            | 0.518 <sup>ns</sup> |       |       | 0.064 <sup>ns</sup> |      |       | 1.526 <sup>ns</sup> |        |        | 4.871 <sup>**</sup> |          |        | 1.166 <sup>ns</sup> |       |       | 1.896 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | Mo           | 0.039 <sup>ns</sup> |       |       | 1.263 <sup>ns</sup> |      |       | 0.053 <sup>ns</sup> |        |        | 0.000 <sup>ns</sup> |          |        | 0.031 <sup>ns</sup> |       |       | 1.149 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | Bac          | 0.191 <sup>ns</sup> |       |       | 0.911 <sup>ns</sup> |      |       | 0.228 <sup>ns</sup> |        |        | 0.284 <sup>ns</sup> |          |        | 0.190 <sup>ns</sup> |       |       | 0.002 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | N*Mo         | 0.504 <sup>ns</sup> |       |       | 0.051 <sup>ns</sup> |      |       | 0.164 <sup>ns</sup> |        |        | 1.262 <sup>ns</sup> |          |        | 0.211 <sup>ns</sup> |       |       | 0.873 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | N*Bac        | 0.043 <sup>ns</sup> |       |       | 0.357 <sup>ns</sup> |      |       | 0.101 <sup>ns</sup> |        |        | 0.199 <sup>ns</sup> |          |        | 0.084 <sup>ns</sup> |       |       | 0.021 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | Mo*Bac       | 0.000 <sup>ns</sup> |       |       | 0.117 <sup>ns</sup> |      |       | 0.010 <sup>ns</sup> |        |        | 0.002 <sup>ns</sup> |          |        | 0.001 <sup>ns</sup> |       |       | 0.065 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | N*Mo*Bac     | 1.755 <sup>ns</sup> |       |       | 2.108 <sup>ns</sup> |      |       | 0.771 <sup>ns</sup> |        |        | 4.576 <sup>**</sup> |          |        | 0.865 <sup>ns</sup> |       |       | 0.102 <sup>ns</sup> |       |       |
|                | CV%          | 19,32               |       |       | 11,94               |      |       | 8,39                |        |        | 4,97                |          |        | 11,78               |       |       | 4,37                |       |       |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 10%. <sup>ns</sup>não significativo, <sup>\*\*\*</sup>significativo a 1%, <sup>\*\*</sup>significativo a 5%, <sup>\*</sup>significativo a 10%. Teste F realizado com dados transformados em <sup>1</sup>potência de 3,5; <sup>2</sup>potência de 2,5NEG; <sup>3</sup>potência de 1,5; <sup>4</sup>potência de 2,0. POL: porcentagem de sacarose aparente no caldo. AR: porcentagem de açúcares redutores. ATR: açúcar teórico recuperável. PC: porcentagem de sacarose no colmo. BRIX: teor de sólidos solúveis.

#### 4 DISCUSSÃO

Os tratamentos atuaram de forma diferente entre as variedades de cana soca refletindo o comportamento varietal da cana-de-açúcar (ZHAO et al., 2020), com semelhança apenas para aplicação de N, elevando o desenvolvimento e produtividade da cultura em ambas as variedades.

Nas duas variedades o acúmulo de N foi favorecido pela adubação nitrogenada, o que enfatiza a eficiência da aplicação do fertilizante no presente ciclo pelos baixos níveis de N no solo e baixa contribuição da matéria orgânica (Tabela 1), que corrobora a pesquisa realizada por Franco et al. (2011).

A área experimental foi escolhida pelo baixo teor de matéria orgânica do solo (MOS), com o intuito de propiciar maior resposta dos tratamentos aplicados. Como a contribuição dos micro-organismos diazotróficos naturais do solo na fixação biológica de N nas socarias é limitada e insuficiente para atender a demanda da cultura a resposta à adubação nitrogenada em doses adequadas é favorecida (OTTO et al., 2013; REIS et al., 2016).

O elevado acúmulo de N pela adubação nitrogenada promoveu incrementos no perfilhamento aos 290 DAC e nos parâmetros biométricos e na biomassa seca da parte aérea aos 100 e 340 DAC (Tabelas 3 a 6), resultando em incrementos na produtividade da cultura para RB867515 (8,64 Mg ha<sup>-1</sup>) e RB92579 (13,22 Mg ha<sup>-1</sup>) (Tabelas 9 e 10). O N atua no processo fotossintético da planta, como fonte de energia, convertendo em biomassa, acarretando no aumento da produtividade da cultura (FORTES et al., 2013).

Na RB867515 a interação N+Mo responsável pelo crescimento vegetal inicial, não diferindo da aplicação desses fatores isolados (Tabela 2), e na maior produção de biomassa radicular com o efeito advindo da adubação molíbdica (Tabela 7), o que evidencia a importância do Mo na fase inicial de desenvolvimento da cana soca.

A atuação do Mo na planta é através da ativação de enzimas no metabolismo da planta, como na nitrogenase, redutase do nitrato e produção de hormônios vegetais (GUHA; PHUKAN, 2011; KAISER et al., 2005; FERREIRA et al., 2017). O Mo está presente na rota de produção do hormônio vegetal ácido 3-indol-acético (AIA), responsável pela ramificação das raízes, principalmente quando associada às bactérias naturais do solo (GÍRIO et al., 2015; PEREIRA et al., 2013), o que explica o aumento na biomassa seca de raiz (Tabela 7).

O maior desenvolvimento radicular abrange a área percorrida pelas raízes e por consequência a reserva nutricional e hídrica do solo (FARONI; TRIVELIN, 2006; TAIZ et al., 2017). A área experimental apresenta solo compactado em subsuperfície, o que impediu o desenvolvimento radicular em profundidade quando associado ao N, favorecendo o

crescimento das raízes laterais. Resultados semelhantes foram identificados por Cury, De Maria e Bolonhezi (2014) no ciclo de cana soca em área com histórico de colheita mecanizada.

O Mo atua no metabolismo do N e disponibiliza nas formas de nitrato e amônio, fazendo com que a contribuição do Mo no início do ciclo da cana soca se assemelhe à adubação nitrogenada (GLASS et al., 2012), como identificado no presente estudo. No final do ciclo não foi identificado resposta positiva à aplicação do Mo isolado ou associado aos demais tratamentos, isso pode ser justificado pela dose aplicado não atender a demanda da cultura para esta variedade, sendo necessário a reaplicação do nutriente para manter os efeitos positivos até o final do ciclo da cana soca (SANTOS et al. 2014; 2019b).

Na RB92579 a aplicação do Mo aumentou o desenvolvimento das plantas ao atuar na biometria e produção de biomassa seca da parte aérea aos 100 DAC, não diferindo da aplicação associada ao N e ao N+Bac. Aos 340 DAC o molibdênio continuou atuando no metabolismo das plantas contribuindo para maior produção de biomassa seca de colmo e total da parte aérea, assim como no diâmetro do colmo (Tabelas 3 e 6). Esse fato evidencia a importância da adubação molibídica no ciclo de cana soca para esta variedade.

A elevada resposta ao adubo molibídico nesta variedade está associada ao melhor aproveitamento do N do solo e/ou fertilizante, devido à aplicação da dose de Mo ( $0,2 \text{ kg ha}^{-1}$ ), identificada por Oliveira (2012) como a dose adequada para elevar a eficiência da nutrição nitrogenada. O Mo atua na assimilação do N por meio da enzima redutase do nitrato, reduzindo o  $\text{N-NO}_3^-$  a  $\text{N-NO}_2^-$ , etapa crucial para que o nitrogênio seja incorporado às moléculas fornecendo energia à planta (KAISER et al., 2005).

Contudo, os resultados positivos do Mo isolado e ao interagir com N não foram refletidos na produtividade da cultura (Tabela 10), em oposição aos trabalhos de Santos et al. (2019b) e Oliveira (2012). A redução no efeito positivo pode ter ocorrido pelas características do solo, limitando o desenvolvimento das plantas.

Na produção de massa seca de raiz em superfície foi identificado que ao aplicar o N e Mo associados o crescimento radicular foi semelhante ao controle absoluto, resultando em incrementos semelhantes na produção de raiz para ambos os tratamentos na variedade RB867515 (Tabela 7). Quando a planta apresenta deficiência de N, as reservas nutricionais são destinadas a produção de raiz em profundidade em busca de aporte nutricional e hídrico, porém como o solo experimental apresenta caráter adensado (Tabela 1) às raízes crescem para lateral, como identificado no presente estudo (LIMA, 2020). Ao associar o N ao Mo a produção de raiz é intensificada, devido o N estimular o crescimento das raízes laterais e o



Mo a ramificação das raízes pela maior assimilação do nitrato (BOUGUYON; GOJON; NACRY, 2012; SANTOS et al., 2019a). Sendo assim, os fatores que promoveram as maiores produções de raízes no controle e N+Mo foram diferentes, o que resultou em baixa produção de massa seca na parte aérea para o controle e alta para N+Mo.

Na RB867515 a interação planta – bactéria resultou no aumento na produção de massa seca de raiz, perfilhamento das plantas e aumento no teor de Mo (Tabelas 2, 3 e 7). A interação tripla apresentou efeito na RB867515 para o teor de Mo na folha +1, com os feitos advindos do Mo da inoculação com *Stenotrophomonas* sp. (Tabela 2). No ciclo anterior (cana planta) foi aplicado fosfato natural reativo em todas as parcelas (LIMA, 2020) e no presente ciclo foi aplicado superfosfato triplo como complementação da adubação fosfatada. Esses fertilizantes apresentam Mo na sua composição e as algumas bactérias diazotróficas em meio deficiente em N apresentam o potencial de solubilizar o Mo presente no solo, o que favorece a absorção pela planta (BARRON et al., 2008; LIERMANN et al., 2005; KRAEMER et al., 2015).

A *Stenotrophomonas* sp. possui a capacidade de produzir AIA, hormônio regulador de crescimento, que tem o Mo como co-fator enzimático (LIMA et al., 2018; ANTUNES et al., 2017). Em condições limitantes de nitrogênio as BPCP promovem a produção de AIA nas raízes com o intuito de elevar o crescimento de pelos radiculares e do comprimento das raízes laterais e primária, que facilitam a absorção de nutrientes e água no solo, potencializada pela disponibilidade de Mo nas raízes (MALHOTRA; SRIVASTAVA, 2008; MALHOTRA; SRIVASTAVA, 2009).

A relação ideal da parte aérea/raiz é um fator limitante no desenvolvimento das plantas. Quando a planta destina seus recursos para produzir raiz os gastos metabólicos são altos, que compromete o desenvolvimento da parte aérea, reduzindo a produção da cultura (SMITH; INMAN-BAMBER; THORBURN, 2005; GOMATHI et al., 2015).

Essa relação parte aérea/raiz é evidenciada em nosso estudo, identificando a redução do desenvolvimento vegetativo da parte aérea da cana soca quando inoculado com *Stenotrophomonas* sp., principalmente quando associado ao N e/ou Mo, inibindo os efeitos dos fertilizantes nitrogenado e molíbdico (Tabelas 2 e 4).

Quando o N foi fornecido via fertilizante na cana soca inoculada com *Stenotrophomonas* sp., a assimilação do N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi reduzindo, indicando que a demanda por N na planta diminuiu. Possivelmente pelo processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e/ou pelo estímulo da bactéria no crescimento da planta (SILVA, 2020). Ao reduzir a assimilação do N na planta a fotossíntese é reduzida, acarretando na menor produção de

biomassa da parte aérea aos 100 e 340 DAC ao associar o N a inoculação bacteriana. Para associação Mo+Bac esse problema fica mais evidente, pois a principal fonte de N é via FBN, que segundo Lima (2020) a inoculação com *Stenotrophomonas* sp. não contribui com o aporte de N pela fixação biológica de nitrogênio para RB867515, acarretando na redução da produção de biomassa da parte aérea no decorrer do ciclo.

O N na planta é responsável pelo desenvolvimento vegetativo, que converte o N em energia metabólica para produção de biomassa, e a escassez do nutriente limita essas atividades (SOUZA; FERNANDES, 2018; VALE; PRADO; HOJO, 2011). Como o conteúdo de N é limitado, o desenvolvimento das plantas é comprometido, o que reduz a produção de biomassa da parte aérea na RB867515 (MEGDA et al., 2012; FORTES et al., 2013).

Apesar do baixo desenvolvimento da RB867515 promovido pela inoculação bacteriana isolada e/ou associada à adubação nitrogenada e molíbdica durante o ciclo da cana soca, os seus efeitos não são refletidos na produtividade da cultura (Tabela 8), possivelmente pela contribuição dos fatores nos 50 dias que antecederam a colheita, que reduziu a diferença da N+Bac e Mo+Bac dos demais tratamentos. Isso indica que a escolha da bactéria *Stenotrophomonas* sp. para variedade RB867515 em condições de campo no ciclo de cana soca não é adequada.

Na RB92579 a interação planta – bactéria promoveu efeitos diferentes da RB867515, que destaca o comportamento varietal das espécies e a escolha do inoculante adequado. A inoculação bacteriana na RB92579 promoveu incrementos no crescimento em altura aos 100 DAC e no perfilhamento das plantas e reduziu a ARN aos 340 DAC (Tabelas 2 e 4). A inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) possibilitam o fornecimento de N na forma amoniacal principalmente pela FNB, incorporada nas atividades metabólicas das plantas, o que reduz a assimilação do nitrato na planta, reduzindo o teor  $N-NO_3^-$  nas folhas sem comprometer o desenvolvimento inicial da cana soca (GAVA, et al., 2019; SCHULTZ et al., 2016), explicando a redução da assimilação de nitrato e o aumento no crescimento das plantas pela inoculação. Aos 340 DAC os efeitos positivos da inoculação não são mais evidentes, que pode ter ocorrido pelas condições físicas do solo, limitando o desenvolvimento radicular em busca de reservas nutricionais.

Nas duas variedades a produtividade e produção de açúcar (TPH) foram favorecidas pela adubação nitrogenada, assim como o teor de fibras na RB92579. Na RB867515 a adubação nitrogenada aumentou a sacarose aparente do caldo (POL), o açúcar recuperável, a porcentagem de sacarose do colmo e o teor de sólidos solúveis, destacando a importância da adubação nitrogenada no ciclo de cana soca para as duas variedades (FORTES et al., 2013).

A interação N+Bac apresentou significância para produção de açúcar na RB92579, e para POL e açúcares redutores (AR) na RB867515, com os principais feitos advindos da adubação nitrogenada, atribuindo qualidade a cana-de-açúcar pela aplicação do N (OLIVER; SILVA, 2018).

Os efeitos positivos do Mo isolados e ao interagir com o N em ambas as variedades não foram refletidos na produtividade da cana soca e nos atributos agroindustriais, possivelmente pela redução de resposta do Mo no final do ciclo. A reaplicação do Mo na fase final de desenvolvimento seria uma alternativa de prolongar o efeito do molibdênio.

Na RB92579 a inoculação favoreceu o desenvolvimento inicial, não havendo resposta no final do ciclo. A ree inoculação seria uma alternativa de manter os feitos positivos da bactéria *Stenotrophomonas* sp. no final do ciclo.

Apesar do inoculate promover o desenvolvimento radicular das plantas e a solubilização do Mo do solo na RB867515, o mesmo reduziu o desenvolvimento da parte aérea da cana soca, principalmente quando associado ao N e Mo, minimizando os efeitos desses nutrientes no crescimento vegetal, indicando que a interação planta – bactéria não foi eficiente para esta variedade.

## 5 CONCLUSÕES

A inoculação com *Stenotrophomonas* sp. associada a aplicação de nitrogênio e molibdênio não influenciou no desenvolvimento e produtividade da cana soca em condições de campo para ambas as variedades.

Nas duas variedades a adubação nitrogenada aumentou o acúmulo de N na planta, a altura, diâmetro e a produção de biomassa seca aos 100 e 340 DAC, resultando no aumento da produtividade e produção de açúcar na qualidade dos atributos agroindustriais (POL, AR, ATR, PC e BRIX).

A interação N+Mo elevou o crescimento e produção de biomassa das variedades aos 100 DAC, não diferindo do N e Mo isolados, indicando que na fase inicial de desenvolvimento a aplicação de 0,2 kg ha<sup>-1</sup> de Mo equivale aos benefícios de aplicar 90 kg ha<sup>-1</sup> de N. Aos 340 DAC os benefícios do Mo continuaram sendo expressos na RB92579, indicando que a variedade é mais responsiva ao molibdênio. No entanto, esses benefícios não foram refletidos na produtividade e atributos agroindustriais da cana soca, com respostas apenas para o N. Além disso, na RB867515 o Mo aumentou a produção de biomassa de raiz, o que evidencia a importância da aplicação do Mo no desenvolvimento radicular da cultura.

A inoculação na RB92579 contribuiu no crescimento em altura das plantas na fase inicial de desenvolvimento e perfilhamento. Na RB867515 a inoculação promoveu maior produção de biomassa de raiz, perfilhamento e aumento nos teores de Mo na folha +1. Contudo, reduziu o desenvolvimento da parte aérea da cana soca no decorrer do experimento e o acúmulo de N, não sendo eficiente a associação planta-bactéria para esta variedade.

## REFERÊNCIAS

- AAMER, M.; AHMAD, R.; ANJUM, S. A.; HASSAN, M. U.; RASUL, F.; QAING, W. Z.; QASIM, H. Z. U.; CHAUDHARY, F. A.; GUOQIN, H. Production Potential of Ratoon Crop of Sugarcane Planted under Varying Planting Dimensions. **Academia Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 3, p. 736-741, 2017. <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173384929>>.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n 6, p 711-728, 2013. <<https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>>.
- ANTUNES, J. E. L.; LYRA, M. C. C. P.; OLLERO, F. J.; FREITAS, A. D. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO M. V. B. Diversity of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Genetics and Molecular Research**. Ribeirão Preto, v. 16, n. 2, 2017. <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2017/vol16-2/pdf/gmr-16-02-gmr.16029662.pdf#:~:text=Different%20genera%20of%20PGPB%2C%20such,new%20speci es%20for%20agricultural%20use.>>>.
- ARAÚJO, W. L. de.; LACAVA, P. T.; MARCO, J.; LIMA, A. O. de S.; SOBRAL, J. K.; AZEVEDO, J. L. de; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. **Guia prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: Calo, p. 167, 2010.
- BARRON, A. R.; WURZBURGER, N.; BELLENGER, J. P.; WRIGHT, S. J.; KRAEPIEL, A. M. L.; HEDIN, L. O. Molybdenum limitation of asymbiotic nitrogen fixation in tropical forest soils. **Nature Geoscience**, v.2, p. 42-45, 2008. <<https://doi.org/10.1038/ngeo366>>.
- BOUGUYON, E.; GOJON, A.; NACRY, P. Nitrate sensing and signaling in plants. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 23, p. 648-654, 2012. <<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2012.01.004>>.
- CURY, T. N.; DE MARIA, I. C.; BOLONHEZI, D. Biomassa radicular da cultura de cana-de-açúcar em sistema convencional e plantio direto com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1929-1938, 2014. <<https://doi.org/10.1590/s0100-06832014000600027>>.
- EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes**. ed. téc. Silva, F. C. da. Embrapa Informação Tecnológica. ed. 2, p. 627 Brasília, DF, 2009.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. eds. téc. TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Embrapa Informação Tecnológica. ed. 3, p. 573, Brasília, DF, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. ed. téc. Humberto Gonçalves dos Santos. 5ª ed. revista e ampliada - Embrapa Informação Tecnológica. 532 p. Brasília, DF: 2018.

FARONI, C. E.; TRIVELIN, P. C. O. Quantificação de raízes metabolicamente ativas na cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 1007-1013, 2006. <<https://doi.org/10.1590/s0100-204x2006000600017>>.

FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane Water Stress Tolerance Mechanisms and Its Implications on Developing Biotechnology Solutions. **Frontiers Plant Science**, v. 8, p. 1077, 2017. <[doi: 10.3389 / fpls.2017.01077](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01077)>.

FORTES, C.; OCHEUZE TRIVELIN, P. C.; VITTI, A. C.; OTTO, R.; JUNQUEIRA FRANCO, H. C.; FARONI, C. E. Stalk and sucrose yield in response to nitrogen fertilization of sugarcane under reduced tillage. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 88–96, 2013. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v48n1/12.pdf>>.

FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A. de; TRIVELIN, P. C. O.; Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**. v. 121, n. 1, p. 29-41, 2011 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378429010002947>>.

GAVA, G. J. DE. C.; SCARPARE, F. V.; CANTARELLA, H.; KÖLLN, O. T.; RUIZ-CORRÊA, S. T.; ARLANCH, A. B.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen source contribution in sugarcane-inoculated plants with diazotrophic bacteria under urea-N fertigation management. **Sugar Tech**, v. 21, n. 3, p. 462-470, 2019. <<https://doi.org/10.1007/s12355-018-0614-2>>.

GÍRIO, L. A. da 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**. Brasília, v.50, n.1, p. 33-43, 2015. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v50n1/0100-204X-pab-50-01-00033.pdf>>.

GLASS, J. B.; AXLER, R. P.; CHANDRA, S.; GOLDMAN, C. R. Molybdenum limitation of microbial nitrogen assimilation in aquatic ecosystems and pure cultures. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. 331, 2012. <<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00331>>.

GOMATHI, R.; RAO, P. N. G.; CHANDRAN, K.; SELVI, A. Adaptive responses of sugarcane waterlogging stress: an over view. **Sugar Tech**, v. 17, n. 4, p. 325-339, 2015. <<https://doi.org/10.1007/s12355-014-0319-0>>.

GUHA, A. K.; PHUKAN, A. K. Why vanadium complexes perform poorly in comparison to related molybdenum complexes in the catalytic reduction of dinitrogen to ammonia (Schrock cycle): A theoretical study. **Inorganic Chemistry**, v. 50, n. 18, p. 8826-8833, 2011. <<https://doi.org/10.1021/ic200765s>>.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 43, p. 1274-1279, 1971. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5106073/>>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades e Estados. Rio Tinto - PB. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pb/rio-tinto.html>> Acesso: dezembro, 2020.

KAISER, B. N.; GRIDLEY, K. L.; BRADY, J. N.; PHILLIPS, T.; TYERMAN, S. D. The role of molybdenum in agricultural plant production. **Annals of Botany**, v. 96, n. 5, p. 745-754, 2005. <<https://doi.org/10.1093/aob/mci226>>.

KRAEMER, S. M.; DUCKWORTH, O. W.; HARRINGTON, J. M.; SCHENKEVELD, W. D. C. Metallophores and trace metal biogeochemistry. **Aquatic Geochemistry**, v. 21, p. 159-195, 2015. <<https://doi.org/10.1007/s10498-014-9246-7>>.

LIERMANN, L. J.; GUYNN, R. L.; ANBAR, A.; BRANTLEY, S. L. Production of a molybdophore during metal-targeted dissolution of silicates by soil bacteria. **Chemical Geology**, v. 200, n. 3-4, p. 285-302, 2005. <<https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2005.04.013>>.

LIMA, D. R. M. DE; SANTOS, I. B. dos; OLIVEIRA, J. T. C.; BARBOSA, J. G.; DINIZ, W. P. da S.; FARIAS, A. R. B. de; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Tolerance of potentially diazotrophic bacteria to adverse environmental conditions and plant growth-promotion in sugarcane. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 64, n. 11, p. 1534-1548, 2018. <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03650340.2018.1443212>>.

LIMA, A. M. S. de. **Adubação nitrogenada e molíbdica em cana planta inoculada com bactéria promotora de crescimento**. 2020. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.

MALHOTRA, M.; SRIVASTAVA, S. An ipdC gene knock-out of *Azospirillum brasilense* strain SM and its implications on indole-3-acetic acid biosynthesis and plant growth promotion. **International Journal of General and Molecular Microbiology**, Antonie van Leeuwenhoek, v. 93, n. 4, p. 425-433, 2008. <doi: 10.1007 / s10482-007-9207-x>.

MALHOTRA, M.; SRIVASTAVA, S. Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 73-80, 2009. <<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.05.006>>.

MEGDA, MICHELE XAVIER VIEIRA; TRIVELIN, PAULO CESAR OCHEUZE; FRANCO, HENRIQUE COUTINHO JUNQUEIRA; OTTO, RAFAEL; VITTI, ANDRÉ CÉSAR. 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. <<https://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012001200002>>.

OLIVER, R.; SILVA, A. de M. Interaction between diazotrophic bacteria and N-fertilizer doses on sugarcane crop. **Journal of Plant Nutrition**, v. 41, n. 6, p. 722–736, 2018. <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01904167.2018.1425436>>.

OLIVEIRA, A. C. de. **Interação da adubação nitrogenada e molíbdica em cana-de-açúcar**. 2012. 96f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

OLIVEIRA, E. C. A.; GAVA, C. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; OTTO, R.; FRANCO, H. C. J. Determining a critical nitrogen dilution curve for sugarcane. **JOURNAL OF PLANT NUTRITION AND SOIL SCIENCE**, v. 176, p. 712-723, 2013. <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jpln.201200133>>.

OLIVEIRA, R. I.; MEDEIROS, M. F. R.; A.; FREIRE, F. J.; OLIVEIRA, E. C. A. Nutrient partitioning and nutritional requirement in sugarcane. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10,n.1, p. 69-75, 2016. <[https://www.cropj.com/freire\\_10\\_1\\_2016\\_69\\_75.pdf](https://www.cropj.com/freire_10_1_2016_69_75.pdf)>.

OLIVEIRA, A. R. de; SIMÕES, W. L. Cultivares de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas em condições irrigadas no semiárido brasileiro. **Revista Energia na Agricultura**. Botucatu, vol. 31, n. 2, p. 154-161, 2016. <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147058/1/Energ.-Agric.2016.pdf>>.

OLIVEIRA, E. C. A. de; FREIRE, J. F.; OLIVEIRA, R. I.; FREIRE, M. B. G. dos S.; SIMÕES NETO, D. E.; SILVA, S. A. M. da. Extração e exportação de nutrientes por variedades de cana-de-açúcar cultivadas sob irrigação plena. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1343-1352, 2010. <<https://doi.org/10.1590/s0100-06832010000400031>>.

OTTO, R.; FRANCO, H. C. J.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; TRIVELIN, P. C. O. Fitomassa de raízes e da parte aérea da cana-de-açúcar relacionada à adubação nitrogenada de plantio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 44, n. 4, p. 398-405, 2009. <<https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/947/5693>>.

OTTO, R.; MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; TRIVELIN, P. C. O. Quantifying soil nitrogen mineralization to improve fertilizer nitrogen management of sugarcane. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 893–904, 2013. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-013-0787-5>>.

PEREIRA, W. ; LEITE, J. M.; HIPÓLITO, G. de S.; SANTOS, C. L. R. dos; REIS, V. M. Acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. **Revista Ciência Agronômica**. Ceará, v. 44, n. 2, p. 363-370, 2013. <<https://www.scielo.br/pdf/rca/v44n2/v44n2a20.pdf>>.

REIS, S.; BEKUNDA, M.; HOWARD, C.; KARANJA, N.; WINIWARTER, W.; YAN, X.; BLEEKER, A.; SUTTON, M. A. Synthesis and review: Tackling the nitrogen management challenge: from global to local scales. **Environmental Research Letters**, v. 11, p. 1-13, 2016. <<https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/12/120205>>.

RIDESA - Rede Interuniversitária para o desenvolvimento do Setor Sucroenergético. Censo varietal Brasil 2017/18. Disponível em: <<https://www.ridesa.com.br/censo-varietal>>. Acesso em: janeiro de 2020.

SANTOS, I. B. dos; LIMA, D. R. M. de; BARBOSA, J. G.; OLIVEIRA, J. T. C.; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRAL, J. Bactérias diazotróficas associadas a raízes de cana-de-açúcar: solubilização de fosfato inorgânico e tolerância à salinidade. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, Supplement 1, p. 142-149, 2012. <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13254>>.

SANTOS, C. L. R.; CAZETTA, J. O.; SARAN, L. M.; SANCHES, A. Otimização da análise da atividade da redutase do nitrato e sua caracterização em folhas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 384-394, 2014. <<https://doi.org/10.1590/s0100-204x2014000500008>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; FREIRE, M. B. G. dos S.; WEST, J. B.; BARBOSA, J. de A.; MOURA, M. J. A. de; BEZERRA, P. da C. Nitrate Reductase Activity and Nitrogen and Biomass Accumulation in Sugarcane under Molybdenum and Nitrogen Fertilization. **REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO**, v. 43, p. 1-19, 2019a. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v43/1806-9657-rbcs-43-e0180171.pdf>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O.; FREIRE, M. B. G. dos S.; BEZERRA, P. da C.; OLIVEIRA, R. I. de; SANTOS, M. B. da C. Changes in Biological Nitrogen Fixation and Natural-Abundance N Isotopes of Sugarcane Under Molybdenum Fertilization. **SUGAR TECH**, v. 21, p. 1-11, 2019b. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12355-019-00717-w>>.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F. de; SILVA, J. A. da; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J. de B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 2, p. 261-268, 2012. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v47n2/v47n2a15.pdf>>.

SCHULTZ, N.; SILVA, J. A. da; SOUSA, J. S.; MONTEIRO, R. C.; OLIVEIRA, R. P.; CHAVES, V. A.; PEREIRA, W.; SILVA, P. M. F. da; 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. 38, p. 407-414, 2014. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v38n2/05.pdf>>.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. S. Produtividade e diluição isotópica de <sup>15</sup>N em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 51, n. 9, p. 1594-1601, 2016. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v51n9/0100-204X-pab-51-09-1594.pdf>>.

SILVA, M. A. da. **Bactérias diazotróficas e adubação molíbdica na contribuição da fixação biológica de N<sub>2</sub> em cana planta**. 2016. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.



SILVA, M. A. da. **Adubação molíbdica e Bactérias promotoras de crescimento na nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar**. 2020. 232f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife, 2020.

SMITH, D. M.; INMAN-BAMBER, N. G.; THORBURN, P. J. Growth and function of the sugarcane root system. **Fields Crop Research**, v. 92, n. 1-2, p. 169-183, 2005. <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.01.017>>.

SOUZA, S. R. de; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R. de; SANTOS, L. A. (eds). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, ed. 2 p. 310-375, 2018.

STOLF, R. Metodologia de avaliação de falhas nas linhas de cana-de-açúcar. STAB, Piracicaba, v. 4, n. 6, p. 22-36, 1986. Reimpressão comemorativa dos 30 anos. STAB, Piracicaba, v. 34, n. 1, p. 44-53, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª ed. Artmed: Porto Alegre, 2017.

TALUÉ, C.; MAREQUE, C.; BARLOCCO, C.; HACKEMBRUCH, F.; REIS, V. M.; SICARDI, M.; BATTISTONI, F. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, p. 35-49, 2012. <<https://doi.org/10.1007/s11104-011-1023-4>>.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F. de; BATISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA e SÁ, J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S. de; ALVES, B. J. R.; ROBERT M. BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and <sup>15</sup>N natural abundance data for the contribution of biological N<sub>2</sub> fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**. v. 356, n. 1-2, p. 5–21, 2012. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-011-1016-3>>.

VALE, D. W; PRADO, R. M.; HOJO, R. H. Omissão de macronutrientes na nutrição e no crescimento da cana-de-açúcar cultivada em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v. 6, n. 2, p. 189-196, 2011. <[http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria\\_v6i2a550](http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria_v6i2a550)>

ZHAO, LIPING, YANG, KUN, ZHAO, PEIFANG, QIN, WEI, ZHAO, YONG, ZHU, JIANRONG, ZAN, FENGGANG, ZHAO, JUN, LU, XIN, WU, CAIWEN, BURNER, DAVID M., CHEN, XUEKUAN, & LIU, JIAYONG. Distribuição e crescimento das raízes da cana-de-açúcar em função do genótipo e do ciclo da cultura. **Bragantia**, v. 79, n. 2, p. 192-202, 2020. <<https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190407>>.

---

**CAPÍTULO II – PROTEOMA DA CANA SOCA INOCULADA COM BACTÉRIA  
PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA E ADUBADA COM  
NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO**

---

## CAPÍTULO II – PROTEOMA DA CANA SOCA INOCULADA COM BACTÉRIA PROMOTORA DE CRESCIMENTO DE PLANTA E ADUBADA COM NITROGÊNIO E MOLIBDÊNIO

### RESUMO

O objetivo do trabalho foi identificar as proteínas diferencialmente acumuladas na cana soca submetida à adubação com molibdênio e nitrogênio, e inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP). O experimento foi conduzido em condições de campo e os tratamentos foram aplicados nas variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579 na primeira soca e consistiram em doses de N (0 e 80 kg ha<sup>-1</sup>), Mo (0 e 0,2 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação (sem e com) bactéria *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869. Cada variedade se tratou de um experimento, em que os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial triplo (2x2x2), e delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos avaliados tiveram como base os resultados da produção de biomassa da parte aérea da cana soca aos 100 dias após o corte (DAC). Na RB92579 foi utilizado os tratamentos com N (80 kg ha<sup>-1</sup>) e sua associação ao Mo (80 kg ha<sup>-1</sup> N + 0,2 kg ha<sup>-1</sup> Mo). Na RB867515 os tratamentos foram a aplicação de N (80 kg ha<sup>-1</sup>) e sua associação à inoculação bacteriana (80 kg ha<sup>-1</sup> N + *Stenotrophomonas* sp.). Na RB92579 o tratamento com N+Mo foi selecionado devido a elevada produção de biomassa da parte aérea da cana soca aos 100 DAC. Para a RB867515 o tratamento N+Bac foi selecionado pela redução na biomassa da parte aérea aos 100 DAC. Em ambas as variedades, o tratamento adubação nitrogenada foi selecionado por apresentar diferença significativa na produção de biomassa da parte aérea. As amostras foram analisadas por espectrometria de massas em larga escala (*SHOTGUN*). Nas duas variedades as plantas adubadas apenas com N resultaram no acúmulo diferencial de proteínas ligadas ao processo fotossintético, metabolismo do carbono, síntese de proteínas e mecanismo de defesa da planta, acarretando no maior crescimento da parte aérea das plantas. Na primeira soca da RB92579 a aplicação de N e Mo elevou a eficiência fotossintética, a produção de hormônios vegetais auxinas e ácido abscísico, a assimilação de nitrogênio e controle a estresses bióticos e abióticos, promovendo maior desenvolvimento da parte aérea e radicular. Para RB867515 a aplicação de N mais a inoculação promoveu o maior gasto de energia na planta pela respiração e inibiu as proteínas relacionadas à fotossíntese. O desequilíbrio na relação fotossíntese/respiração ocasionou a redução no desenvolvimento da parte aérea da cana soca. Em resposta a esse estresse, a variedade RB867515 promoveu a produção de hormônios vegetais direcionados as raízes, que acarretou no maior crescimento radicular e solubilização de fosfato inorgânico.

Palavras-chave: Proteoma da cana-de-açúcar. *Stenotrophomonas* sp. Inoculação bacteriana

## CHAPTER II – PROTEOME OF SUGARCANE RATOON INOCULATED WITH PLANT GROWTH-PROMOTION BACTERIUM AND FERTILIZED WITH NITRGEN AND MOLUBDENUM

### ABSTRACT

The objective was to identify proteins differentially accumulated in sugarcane ratoon fertilized with molybdenum (Mo), nitrogen (N) and inoculated with plant growth-promoting bacteria (PGPB). The experiment was conducted under field conditions and the treatments were applied in RB867515 e RB92579 sugarcane varieties at the first ratoon cycle and consisted on doses of N (0 and 80 kg ha<sup>-1</sup>), Mo (0 and 0.2 kg ha<sup>-1</sup>) and bacterium inoculation (without and with) of *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869. It was carried on one experimente filed for each variety, in which the treatments were distributed in a triple factorial arrangement (2x2x2), and randomized blocks design, with four replications. The treatments were selected based on the results of areal biomass production of sugarcane ratoon at 100 days after harvest (DAH). In RB92579 the treatments with N (80 kg ha<sup>-1</sup>) and N associated with Mo (80 kg ha<sup>-1</sup> N + 0.2 kg ha<sup>-1</sup> Mo) were used. In RB867515 the treatments were N (80 kg ha<sup>-1</sup>) and N associated with bacterium inoculation (80 kg ha<sup>-1</sup> N + *Stenotrophomonas* sp. UAGC 869). In RB92579 the treatment with N+Mo was selected due to the high aerial biomass production of ratoon sugarcane at 100 DAH. For RB867515, treatment N+Bac was selected by the reduction in shoot biomass at 100 DAH. In both varieties, the nitrogen fertilization treatment was selected for presenting a significant difference in the production of aerial biomass. The samples was analyzed by large scale mass spectrometry (*SHOTGUN*). In both varieties, the plants fertilized only with N shown differential accumulation of proteins linked to the photosynthetic process, carbon metabolism, protein synthesis and plant defense mechanism, resulting in greater plant aerial growth. In the RB92579 first ratoon, N and Mo fertilization increased photosynthetic efficiency, production of plant hormones auxin and absisic acid, nitrogen assimilation and control of biotic and abiotic stresses, which promoted greater aerial and root development. For RB867515, the application of N plus the inoculation promoted the greatest energy expenditure in the plant by respiration and inhibited the proteins related to photosynthesis. The imbalance in the photosynthesis/respiration ratio caused reduction in the development of the aerial part of the sugarcane ratoon. In response to this stress, there was directioning of plant hormones to roots the RB867515 variety, which resulted in greater root growth and solubilization of inorganic phosphate.

Palavras-chave: Sugarcane proteome. *Stenotrophomonas* sp. Bacterium inoculation.

## 1 INTRODUÇÃO

O Nitrogênio (N) é responsável pelo crescimento vegetal, atuando na atividade metabólica da planta ao incorporar as moléculas vegetais, sendo o segundo nutriente mais requerido pela cana-de-açúcar, promovendo incrementos na produtividade (GAVA et al., 2019). Compõe o ATP, NADH e NADPH fornecendo energia para o mecanismo fotossintético, síntese da clorofila, aminoácido e carboidratos (PRADO JÚNIOR, 2008; CACEFO et al., 2019).

Na fase inicial de desenvolvimento da planta há maior demanda de N para atender o crescimento vegetal, que pode ser prolongado de acordo com o metabolismo da planta (OLIVEIRA et al., 2016, LIMA, 2020). O genótipo da planta é um dos principais fatores que afetam o metabolismo do N na cana-de-açúcar pela preferência e exigência nutricional, o que reflete o comportamento varietal (SANTOS et al., 2019a; OLIVEIRA et al., 2016).

O fornecimento de N nos canaviais ocorre principalmente pela adubação nitrogenada, o que contribuiu para aumentar em 2019 a importação de fertilizantes nitrogenados no Brasil (9,2 milhões/ton), 5% maior que em 2018 (GLOBAL FERT, 2020). No entanto, o aproveitamento dos fertilizantes nitrogenadas pela cana planta e soca são baixos, acarretando na aplicação de doses altas de N para suprir a demanda da planta (FRANCO et al., 2011).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, responsável por 12% das áreas agrícolas plantadas no país em 2019 (OUTLOOK GLOBAL FERT, 2020), em que mais de 50% é representado pela socaria (AAMER et al., 2017). A identificação de alternativas que possibilitem o maior aproveitamento do N-fertilizante e estimulem o crescimento da cana soca, devem ser inseridas no sistema de produção da cana-de-açúcar.

Entre as alternativas, a adubação molidbídica aumenta o aproveitamento do N na cana-de-açúcar ao atuar no metabolismo do N na planta como co-fator nas enzimas redutase do nitrato e nitrogenase (KAISER et al., 2005). Além disso, o Mo atua na rota da síntese de hormônios vegetais, como ácido 3-indol-acético (AIA) e ácido abscísico (ABA), que promovem o crescimento vegetal (MENDEL; LEIMKUEHLER, 2015). De acordo com os autores, mais de 50 enzimas contendo o Mo já foram identificadas atuando no metabolismo de plantas, bactérias e humanos. Santos et al. (2019a) identificaram maior atividade da enzima redutase do nitrato quando aplicado o Mo na cana planta.

A interação planta – bactéria *Stenotrophomonas* sp. é outra alternativa utilizada para elevação da eficiência do N na planta e a produtividade da cultura. As bactérias promotoras de crescimento de planta (BPCP) são micro-organismos diazotróficos que promovem a fixação

biológica de N e disponibilizam para a planta, assim como outros mecanismos de promoção de crescimento (FAN et al., 2011). Na cana-de-açúcar as BPCP também atuam na produção de hormônios vegetais e solubilização de macro e micronutrientes, contribuindo no maior crescimento aéreo e radicular da cultura (LI et al., 2016; TALUÉ et al., 2012).

As funções do Mo e das BPCP são relatadas na literatura, no entanto identificar outros efeitos benéficos expressos na planta poderia explicar como atuam nos mecanismos fisiológicos de crescimento vegetal. A análise proteômica, que envolve a avaliação em larga escala de proteínas incluindo suas interações, localizações, funções e possíveis modificações, surge como um viés na compreensão desses mecanismos (KOMATSU, 2019) uma vez que o acúmulo diferencial de proteínas quando submetidas a condições diferentes num dado momento são essenciais para melhor adaptação às condições ambientais (KOMATSU, 2019; EMIDIO et al., 2015).

Em função da sua posição no fluxo da informação genética, a análise proteômica destaca-se dentre as análises de expressão gênica, uma vez que nem sempre a análise quantitativa de transcritos reflete a abundância de proteínas, devido às modificações pós-transcricionais e pós-tradicionais, e conseqüentemente pode não ser tão conclusiva sobre o papel dos produtos destes transcritos na condição avaliada (GREENBAUM et al., 2003; VOGEL; MARCOTTE, 2012; AEBERSOLD; MANN, 2016).

De acordo com Salvato et al. (2017) ao avaliar o proteoma de duas variedades de cana-de-açúcar submetido a fertilização nitrogenada identificaram proteínas ligadas ao metabolismo de carbono, metabolismo de aminoácidos e estresse oxidativo, que promoveram o aumento de sacarose e açúcares redutores no genótipo IACSP04-065.

Quando as plantas de cana-de-açúcar foram inoculada com a BPCP *Stenotrophomonas* sp., Silva (2020) identificou maior acúmulo de proteínas da biossíntese e assimilação de N e proteínas relacionadas ao desenvolvimento da planta, divisão celular e estresse. Quando as BPCP foram associadas ao Mo houve aumento na quantidade de proteínas relacionadas à síntese e ao transporte de hormônios, crescimento da planta e armazenamento de fotossintatos, o que promoveu maior crescimento vegetal, como reposta.

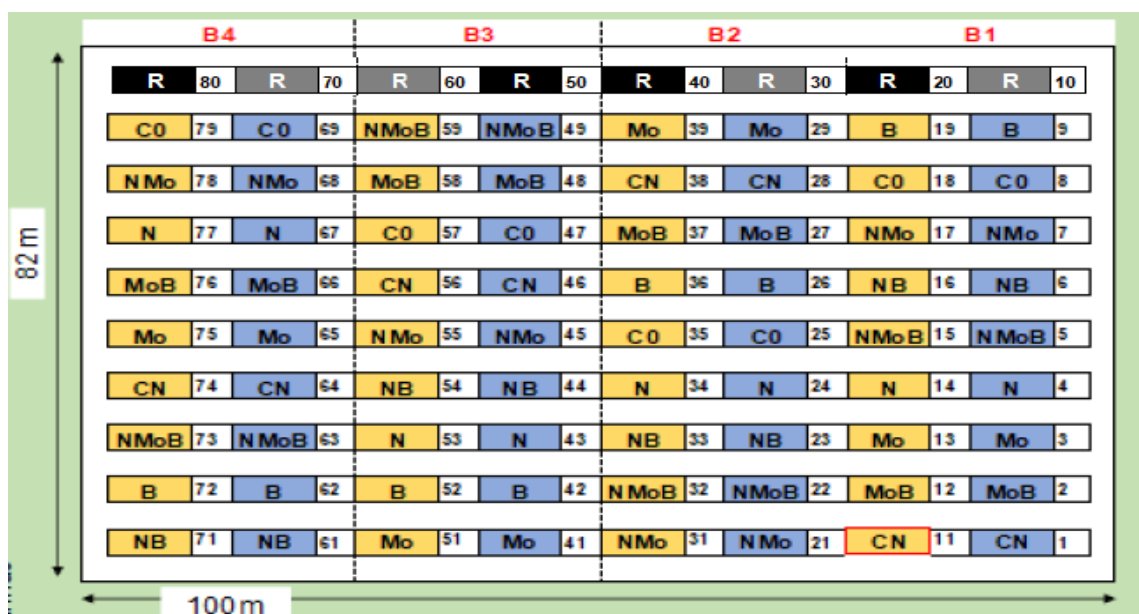
Assim, a partir da análise do proteoma de tecidos vegetais da cana-de-açúcar teremos uma visão holística da atuação do molibdênio e das BPCP no metabolismo da planta em nível celular quando associados à adubação nitrogenada. O objetivo do trabalho foi identificar em quais mecanismos fisiológicos o molibdênio e as bactérias promotoras de crescimento de plantas atuam, quando associados à aplicação de N-fertilizante, sendo avaliado por proteínas diferencialmente acumuladas nos tecidos da folha da cana soca.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Implantação do experimento

O estudo foi realizado em campo e na mesma área experimental descrita no capítulo anterior. Os tratamentos consistiram em doses de nitrogênio (N) (0 e 80 kg ha<sup>-1</sup>), doses de molibdênio (Mo) (0 e 0,2 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação bacteriana (sem bactéria e com bactéria). Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial triplo (2x2x2), e delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições, totalizando 36 parcelas experimentais (Figura 1). Os tratamentos foram aplicados na primeira rebrota (primeira soca) das variedades de cana-de-açúcar RB867515 e RB92579.

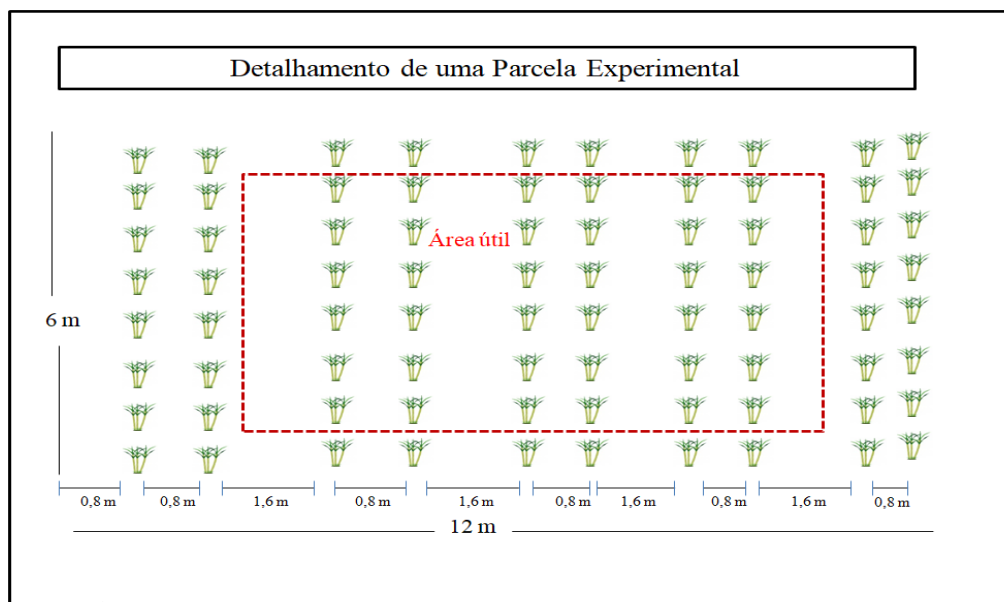
Os tratamentos foram distribuídos seguindo o mesmo croqui experimental do ciclo anterior (cana planta), que as doses de N e Mo foram de 60 kg ha<sup>-1</sup> e 0,4 kg ha<sup>-1</sup> e a estirpe bacteriana foi *Stenotrophomonas* sp. As variedades RB867515 e RB92579 foram escolhidas por serem as mais utilizadas no sistema de cultivo agrícola em cana do Brasil e Nordeste e apresentarem resultados positivos quando inoculadas com a bactéria em estudo (RIDESA, 2020; SCHULTZ et al, 2016; SANTOS et al., 1019b).



**Figura 1-** Croqui da área experimental com a distribuição dos tratamentos para as variedades RB867515 (amarelo) e RB92579 (azul) nos respectivos blocos. R: Plantas referências; C0: Controle absoluto; B: Inoculação. Fonte: Imagem adaptada de Lima, 2020.

Cada parcela possuiu 10 sulcos com 6 metros de comprimento, espaçados em 0,8 m x 1,6 m, totalizando 72 m<sup>2</sup> (Figura 2). Os quatro sulcos das laterais esquerda e direita foram

considerados bordaduras e seis sulcos centrais compõem a área útil, descartando-se 1 m do final e do início da linha, totalizando 28,8 m<sup>2</sup>. Desta área foram destinados dois sulcos para amostragem destrutiva e quatro sulcos para amostragens não destrutivas.



**Figura 2** - Croqui da parcela experimental com 5 sulcos duplos.

A adubação da cana soca foi realizada em duas etapas, de forma manual ao lado de cada linha de cultivo sem incorporação (OLIVEIRA, et al., 2013). Aos 20 DAC realizou-se a aplicação de fósforo (100%), potássio (1/3), nitrogênio (1/3) e molibdênio (100%). Aos 60 DAC foram aplicados nitrogênio (2/3), potássio (2/3) e micronutrientes (manganês, cobre, zinco e boro) (OLIVEIRA, et al., 2013).

Na adubação foram aplicadas 50 e 150 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O, respectivamente e a os micronutrientes cobre (250 g ha<sup>-1</sup>), manganês (3,0 kg ha<sup>-1</sup>), zinco (1,0 kg ha<sup>-1</sup>) e (500 g ha<sup>-1</sup>) boro, tendo como fonte sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato de zinco e ácido bórico, para atender a produtividade de 100 TCH (toneladas de colmo por hectare) (OLIVEIRA et al., 2010). A fonte de N utilizada foi uréia e de Mo o ácido fosfomolibdico (SHULTZ, et al., 2016). A escolha da dose molíbdica (0,2 kg ha<sup>-1</sup>) foi baseada em estudo realizado por Santos, et al. (2019a). A dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N foi escolhida de acordo com Oliveira et al. (2010), em função da exigência para produtividade obtida no ciclo de cana planta.



## 2.2 Produção e aplicação do inoculante em cana soca

A bactéria diazotrófica utilizada na inoculação foi a *Stenotrophomonas* sp. (UAFG 869), escolhida por apresentar capacidade de realizar fixação biológica de nitrogênio e estimular a produção de biomassa da cana-de-açúcar em estudos realizados por Silva (2016) e Lima et al. (2018) respectivamente. Esta bactéria foi isolada do tecido radicular da variedade RB867515 aos 120 dias após o plantio por Lima et al. (2018).

A bactéria *Stenotrophomonas* sp. foi adquirida da coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Bacteriana da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE). A bactéria foi repicada em placa de Petri em meio Tryptone Soya Agar 10% (TSA, pH 7,3).

Para produção do inoculante em laboratório, a bactéria foi multiplicada em meio líquido TSA (pH 7,3) e mantida em agitação constante (250 rpm) por 11 horas para atingir a concentração bacteriana  $10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC) mL<sup>-1</sup> (ARAÚJO et al., 2010), com base em curva de crescimento da estirpe realizada por Lima (2020).

No campo, o inoculante foi diluído em água na proporção 1:100 e aplicado na soqueira aos 20 e 60 DAC, utilizando pulverizador costal com jato direcionado a base da soqueira, aplicando de 15 mL m<sup>-1</sup> do inoculante (SHULTZ et al., 2012; 2016; OLIVEIRA; SIMÕES 2016).

Para a análise do proteoma foram selecionados os tratamentos que apresentarem efeitos significativos na produção de biomassa da parte aérea e raiz da cana soca aos 100 DAC. Na variedade RB92579 foi utilizado o tratamento com adubação nitrogenada (80 kg ha<sup>-1</sup> N) sua associação com a adubação molíbdica (80 kg ha<sup>-1</sup> N + 0,2 kg ha<sup>-1</sup> Mo). Na variedade RB867515 os tratamentos selecionados foram a aplicação da adubação nitrogenada (80 kg ha<sup>-1</sup> N) e sua associação à inoculação bacteriana (80 kg ha<sup>-1</sup> N + *Stenotrophomonas* sp.) (Tabela 2).

Na variedade RB92579 o tratamento com N + Mo foi selecionado devido ao elevado desenvolvimento da parte aérea e radicular da cana soca. Para a variedade RB867515 o tratamento N + inoculação foi selecionado pelo menor desenvolvimento da parte aérea e elevado desenvolvimento radicular. Em ambas as variedades o tratamento adubação nitrogenada foi selecionado por apresentar diferença significativa no desenvolvimento da parte aérea, o que servirá como comparação dos efeitos fisiológicos encontrados para os demais tratamentos selecionados.

Na área útil da parcela experimental foi coletado o terço médio da folha +1 de três perfilhos viáveis, com três réplicas para cada tratamento, totalizando 9 amostras por

tratamento e por variedade. As amostras coletadas foram envolvidas com papel alumínio identificado e imediatamente imersas em nitrogênio líquido, para que não ocorresse a degradação das proteínas. Após o término da coleta, as amostras vegetais foram armazenadas em ultrafreezer à -80 °C.

### **2.3 Coleta de material vegetal e extração de proteínas solúveis totais**

A extração total das proteínas da cana-de-açúcar foi realizada pelos métodos ADP e *Sodium Dodecil Sulfate* (SDS) segundo a metodologia proposta por Wang et al. (2003) com modificações por Pirovani et al. (2008). Para cada amostra foram pesadas 200 mg de material vegetal, macerado em almofariz em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Em seguida, foram adicionados 2,5 ml de solução de extração de proteínas (TCA 10% em acetona P.A. gelada contendo 0,07% de  $\beta$ -mercaptoetanol), homogeneizado e incubado no freezer a -20 °C durante 18 horas (overnight). Após esse período a solução foi centrifugada a 14.000 rpm por 10 min. a 4 °C e em seguida descartado o sobrenadante.

O precipitado (pellet) foi lavado com acetona P.A. gelada contendo 0,07% de  $\beta$ -mercaptoetanol, homogeneizado e centrifugado a 14.000 rpm por 10 min. a 4 °C e descartado o sobrenadante, repetindo esse processo por três vezes, com o intuito de despigmentar toda a amostra e retirar todas as impurezas. Em seguida a amostra foi seca em câmara de fluxo laminar sobre o gelo por 1 hora e 30 minutos. Após esse período foi adicionado ao pellet 2,5 ml de tampão SDS denso, homogeneizado e colocado em agitador por 30 min. Adicionando em seguida 2,5 ml de fenol tamponado a pH 7-8 e homogeneizado mais uma vez em agitador, posteriormente centrifugado a 14.000 rpm por 20 min. a 4 °C e transferida a fase fenólica para um novo tubo.

Ao novo tubo contendo a fase fenólica foi adicionado 5 vezes o volume de 0,1 M de acetato de amônio em metanol P.A. gelado e incubado no freezer a -20 °C por 18 horas (overnight), com o intuito de precipitar as proteínas e eliminar as impurezas. Após esse período o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado com 1 ml de acetato de amônio em metanol P.A. gelado, vortexado, centrifugado a 14.000 rpm por 20 min. a 4 °C e descartado o sobrenadante, repetindo esse processo três vezes.

Posteriormente o pellet foi lavado com 1 ml de acetona a 80% gelada, duas vezes e por último lavado com etanol a 70% gelada. Após o descarte do sobrenadante a amostra foi seca em câmara de fluxo laminar sobre o gelo por 1:00 hora, em seguida suspenso em 50  $\mu$ l de tampão de ureia/tioureia e estocado em freezer a -80 °C.

Após a extração das proteínas ocorreu a sonicação das proteínas com o intuito de separar as proteínas que estão ligadas uma às outras por meio de ondas eletromagnéticas. Em seguida foi realizada a quantificação das proteínas segundo a metodologia proposta por Bradford (1976), com o intuito de nivelar a mesma proporção de proteínas que serão inseridas no gel 1D SDS - PAGE.

#### **2.4 Eletroforese unidimensional (SDS - PAGE)**

Os extratos proteicos de folhas de cana-de-açúcar foram submetidos à eletroforese em gel unidimensional de poliacrilamida SDS - PAGE, no tamanho 10 x 10 cm, com o intuito de separar as proteínas por massa molar e avaliar a qualidade da extração de proteínas solúveis totais.

Para o preparo do gel e aplicação das amostras as placas de vidro e os outros materiais que ficaram em contato com o gel foram limpas com etanol 70%. As placas de vidros foram suspensas alinhadas no suporte, preenchendo o espaço entre as placas com solução de gel. O gel é composto por gel de corrida, que fica na parte inferior, e o gel de empilhamento, parte superior do gel. Os géis de corrida e empilhamento foram preparados utilizando as soluções acrilamida estoque (33/0,9%), Tris-HCl 2,5 M à pH 8,8, SDS 10%, persulfato de amônio 10%, TEMED, APS e Água Milli-Q, porém em concentrações diferentes para cada gel. Entre os géis foi aplicado etanol absoluto para evitar bolhas de ar e para garantir a polimerização uniforme do gel, descartando o etanol após a polimerização.

No gel de empilhamento foi encaixado o pente e retirado após a polimerização para formação os poços. Em seguida o suporte com o gel foi colocado na cuba de eletroforese e preenchido com tampão de corrida SDS – PAGE (Tris-base 25 mM, glicina 192 mM, SDS 0,1%) dentro do suporte até transbordar e na cuba até a metade.

Para o preparo da amostra foi adicionado num eppendorf o volume de extrato proteico estabelecido na quantificação das proteínas, correspondente ao volume de 20 µg, mais 10 µl de tampão de amostra (Tris – HCl 1 M á pH 6,8 40 mM, SDS 1%, beta-mercaptoetanol (14,7 M) 2,5%, glicerol 6% e azul de bromofenol 0,005%), e o volume completado com água Milli-Q até 20 µl. Posteriormente, aquecido em thermomixer a 95 °C por 5 min. a 1000 rpm e centrifugado por 30 segundos para eliminar as bolhas de ar.

Foram preparados dois géis de poliacrilamida, sendo aplicada em cada gel uma variedade de cana soca e seus respectivos tratamentos. As amostras proteicas foram aplicadas nos poços e assim iniciada a corrida dos géis de poliacrilamida, num período de 40 min., quando o extrato passou do gel de empilhamento para o de corrida.

Após esse período, os géis foram retirados do suporte e realizado o processo de fixação das proteínas durante 20 min. em solução contendo 10% de ácido acético, 40% de etanol e 50% de água destilada. Posteriormente, corados com Azul de Coomassie 0,1% por 20 min. Em seguida, decorado overnight com solução de descoloração de Azul de Coomassie (Metanol 30%, ácido acético 10% e água destilada 60%). Após o descarte do descorante os géis foram lavados 5 vezes com água destilada, e realizado o corte das bandas contendo as amostras em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de um bisturi. Cada banda amostral foi inserida em eppendorf de 1,5 ml com água Milli-Q, devidamente identificados.

## **2.5 Análise por espectrometria de massas em larga escala (*Shotgun*)**

As amostras foram encaminhadas à Fiocruz-PR (Núcleo de Inovação Tecnológica do Instituto Carlos Chagas (Fiocruz Paraná) – NIT-ICC), onde foi realizado o preparo das amostras proteicas empregando o protocolo de digestão seca *in gel* seguido de purificação e concentração dos peptídeos em membrana de C18. Em seguida os peptídeos extraídos foram ressuspensos em 0,1% (v / v) de ácido fórmico em água e realizada análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) no sistema LTQ Orbitrap XL ETD / Easy nLC 1000, e os espectros de massa foram adquiridos ao longo de um tempo de método total de 120 min.

## **2.6 Identificação das proteínas**

A identificação foi realizada na plataforma MaxQuant1.5.1.2.43 com a ferramenta de busca Andromeda. Foi utilizado o banco de dados Poales do NCBI, já que o genoma completo da cana-de-açúcar não foi concluído. Os parâmetros de pesquisa utilizados foram: oxidação da metionina foi permitida como modificação variável e a carbamidometilação da cisteína como modificação estática; enzima: tripsina; número de clivagens permitidas: 2; faixa de massa: 200-2000; tolerância de peptídeo: 10 ppm; tolerância a íons de fragmento: 1 Da; mínimo um peptídeo único por proteína. A tolerância de massa do precursor da pesquisa principal foi fixada em 30 ppm no MaxQuant. As identificações foram filtradas pela taxa de descoberta falsa de 1% (FDR) em nível de proteína usando um banco de dados reverso.

As proteínas são consideradas como uma identificação válida se forem detectadas em pelo menos uma das duplicatas biológicas de pelo menos um grupo (controle ou tratado), e cada amostra foi analisada três vezes. Proteínas identificadas por pelo menos um peptídeo único foram necessárias para a definição de um grupo de proteínas.

O pacote Perseus (disponível em <http://www.maxquant.org/>) foi usado para a detecção de proteínas diferencialmente acumuladas usando Studentt test ( $p < 0,05$ ) e Significance B (Utilizado para amostras em duplicatas). Para o presente trabalho foram realizadas duas comparações: Comparação 1 (RB92579: Nitrogênio x Nitrogênio + Molibdênio) e Comparação 2 (RB867515: Nitrogênio x Nitrogênio + Bactéria). A comparação 1 foi selecionada para avaliar a influência da aplicação do Molibdênio no proteoma da variedade RB92579, enquanto na Comparação 2 tem como objetivo identificar alterações no proteoma de RB867515 em resposta a inoculação com a bactéria *Stenotrophomonas* sp. As proteínas identificadas em apenas um grupo da comparação par a par foram denominadas “exclusivas”. Isso significa que foram aquelas proteínas exclusivas que foram detectadas em pelo menos duas réplicas de um grupo e ao mesmo tempo não detectadas em nenhuma réplica do outro grupo.

## 2.7 Classificação funcional

A análise do interatoma (PPI- interações proteína-proteína) baseado em dados proteômicos foi baseado em redes de proteínas ortólogas prospectadas no proteoma de *Arabidopsis thaliana* com o auxílio do software STRING 10.5 (SNEL et al., 2000). As redes de interatoma obtidas foram unidas no software Cytoscape 3.6.1, com a ferramenta Advanced Merge Network, e a identificação de módulos/clusters (regiões densamente conectadas) realizadas com a ferramenta Molecular Complex Detection (MCODE), sendo possível observar complexos de proteínas funcionais.

As sequências em formato FASTA das proteínas anotadas foram recuperadas do UniProt através da ferramenta Retrieve ID e submetidas à análise de distribuição de ontologia gênica (GO) por processo biológico, função molecular e localização subcelular no programa OmicsBox/Blast2GO (<https://www.biobam.com/omicsbox/>), utilizando as ferramentas Blastp, InterProScan e GO-Slim (MITCHELL et al., 2019). A distribuição de termos GO, ou categorias funcionais, do conjunto das DAPs de cada tratamento foram utilizadas em todas as comparações.

## 3 RESULTADOS

A comparação com as plantas que receberam o N+Mo na variedade RB92579 resultou na obtenção de 1362 proteínas as quais foram analisados no software Perseus e se observou que não havia necessidade de normalização dos dados. Os dados foram filtrados com base nos

valores válidos (pelo menos 1 proteína em todos os tratamentos) resultando em 816 proteínas válidas. Após a análise estatística foram consideradas significativas 56 proteínas, sendo 7 comuns aos dois tratamentos, 26 exclusivas do tratamento apenas com N e 23 exclusivas do tratamento com N+Mo.

A comparação com o as plantas que receberam o N associado ao inoculante na variedade RB867515 resultou na obtenção de 1317 proteínas as quais foram inicialmente analisados no software Perseus e observou-se a que não havia necessidade de normalização dos dados. Os dados foram filtrados com base nos valores válidos (pelo menos 1 proteína em todos os tratamentos) resultando em 1027 proteínas válidas. Após a análise estatística foram consideradas significativas 56, sendo 18 comuns aos dois tratamentos, 46 exclusivas do tratamento apenas com N e 31 exclusivas do tratamento com N+Bac.

Na comparação N+Mo as proteínas comuns foram avaliadas quanto ao seu acúmulo em ambos os tratamentos onde foi possível observar que 3 e 4 proteínas foram reprimidas e induzidas, respectivamente, no tratamento N+Mo. A aplicação do molibdênio associado á adubação nitrogenada induziu o acúmulo diferencial das proteínas ribossomal L6 50S (envolvida na tradução), actin-97-like (responsável pela divisão celular), proteína M9 nm à clorofila a-b (envolvida na fotossíntese, ligação proteína-cromóforo) e a desidrogenase (quitona) semelhante a FQR1 (Processo de óxido-redução) (Tabela 1).

As para proteínas anidrase carbônica, isomórfica X1 semelhante ao cloroplástico (Metabolismo do carbono), proteína de ligação ao cloroplasto Ptr ToxA (Fotossíntese, montagem do fotossistema II) e uma não caracterizada (ligada a tradução, montagem do RNA.) foram reprimidas pela interação N+Mo no acúmulo diferencial (Tabela 1).

Na comparação N+Bac as proteínas comuns foram avaliadas quanto ao seu acúmulo em ambos os tratamentos onde foi possível observar que 11 e 7 proteínas foram reprimidas e induzidas, respectivamente, no tratamento N+Bac. A inoculação com *Stenotrophomonas* sp. associado á adubação nitrogenada induziu o acúmulo diferencial das proteínas contendo domínio PABS (produção de poliaminas), proteína de ligação 8 á clorofila ab, proteína ligada á subunidade fotossintética NDH de localização luminal 1 (ligadas a fotossíntese), proteína 2-metil-fitol-1,4-hidroquinona metiltransferase 2 (metiltransferase), porina 1 da proteína da membrana mitocondrial externa (transporte transmembranar de ânions), proteína aminometiltransferase mitocondrial, proteína NADH-quinona oxireductase subunidade 1, proteína piruvato aconitato hidrolase (ligadas a respiração) e proteína fosfoglicolato fosfatase 1B (ligada a fotorrespiração e solubilização de fosfato inorgânico) (Tabela 2).

As proteínas ligadas a fotossíntese (peptidil cis-trans isomerasase CYP37, proteína 6 contendo domínio PsbP e plastocianina), síntese de proteínas (ribossômica 40S e ribossomal 2 30S), transporte de elétrons e mecanismos de defesa da planta contra o ataque de patógenos (3-isopropilmalato desidrogenase) e espécies reativas de oxigênio (L-ascobato peroxidase 2) foram reprimidas pela interação N+Bac (Tabela 2).

**Tabela 1** – Ontologia gênica das proteínas diferencialmente acumuladas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio. Seta vermelha para baixo significa que a proteína foi reprimida com N+Mo e induzida com N. Seta verde para cima significa que a proteína induzida com N+Mo e reprimida com N

| Nome  | Uniprot ID | Peso mol. [kDa] | Score  | Diferença T-teste Student's (N/N_Mo) | GO Processo biológico                      | Adição do molibdênio |
|---|------------|-----------------|--------|--------------------------------------|--|----------------------|
| Anidrase carbônica, isoforma X1 semelhante ao cloroplástico             | A0A059Q285 | 49.67           | 323.31 | 0.363519                             | Metabolismo do carbono                     | ↓                    |
| Proteína de ligação a cloroplasto Ptr ToxA                              | J9QE43     | 31.923          | 194.71 | 0.345639                             | Fotossíntese (Montagem do fotossistema II) | ↓                    |
| Proteína não caracterizada LOC8085722 [Sorghum bicolor]                 | C5X0W2     | 22.578          | 35.933 | 0.29993                              | Tradução (Montagem RNA)                    | ↓                    |
| Proteína ribossomal L6 50S, cloroplástica [Sorghum bicolor]             | C5WZQ4     | 24.845          | 77.521 | -0.29197                             | Tradução                                   | ↑                    |
| Actin-97-like [Sorghum bicolor]   | Q5XPX5     | 41.725          | 188.98 | -0.37527                             | Divisão celular                            | ↑                    |
| Proteína M9 de ligação à clorofila a-b, cloroplástica [Sorghum bicolor] | QHD26886.1 | 28.039          | 85.306 | -0.61544                             | Fotossíntese (ligação proteína-cromóforo)  | ↑                    |
| Desidrogenase (quinona) semelhante a FQR1 [Sorghum bicolor]             | A0A1B6Q6I7 | 21.593          | 121.56 | -1.05214                             | Processo de óxido-redução                  | ↑                    |

Diferença T-teste Student's com sinal negativo: Reprimidas em N e induzidas com N associada ao Mo.  
Diferença T-teste Student's sem sinal: Inibidas em N e reprimidas com N associada ao Mo.

**Tabela 2** – Ontologia gênica das proteínas diferencialmente acumuladas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculada com Bactéria *Stenotrophomonas* sp. Seta vermelha para baixo significa que a proteína foi reprimida com N+Bac e induzida com N. Seta verde para cima significa que a proteína induzida com N+Bac e reprimida com N

| Nome  | Unipro<br>t ID | Mol.<br>weight<br>[kDa] | Score  | Diferença T-<br>teste<br>Student's<br>N_N_Bac | GO<br>Processo<br>biológico                           | Adição do<br>inoculante |
|---|----------------|-------------------------|--------|---|---|-------------------------|
| Peptidil-prolil cis-trans isomerase CYP37, cloroplástico [Sorghum bicolor]  | C5XB<br>M3     | 47.109                  | 99.7   | 0.7531147                                     | Sinalização intracelular, transcrição e apoptose.     | ↓                       |
| 3-isopropilmalato desidrogenase 2 [Zea mays]  | B6THR<br>9     | 43.491                  | 92.935 | 0.683312416                                   | Metabolismo de aminoácidos (Biossíntese de L-leucina) | ↓                       |
| Proteína 6 contendo domínio PsbP, cloroplástico [Sorghum bicolor]   | A0A1B<br>6Q6M2 | 29.052                  | 64.868 | 0.573321342                                   | Fotossíntese  | ↓                       |
| L-ascorbato peroxidase 2, cytosolic [Sorghum bicolor]   | C5X6H<br>6     | 27.159                  | 202.79 | 0.535866737                                   | Resposta ao estresse oxidativo                        | ↓                       |
| Plastocianina, cloroplástico [Sorghum bicolor]  | C5Z21<br>6     | 15.674                  | 78.068 | 0.426571846                                   | Ligação ao íon cobre                                  | ↓                       |
| Proteína ribossômica 40S semelhante a SA [Zea mays]   | B4G19<br>4     | 33.489                  | 128.79 | 0.373911858                                   | Tradução  | ↓                       |
| Proteína ribossomal 2 30S, cloroplástico [Sorghum bicolor]  | C5X86<br>1     | 26.173                  | 107.99 | 0.313504219                                   | Não caracterizada                                     | ↑                       |
| 2-metil-6-fitil-1,4-hidroquinona metiltransferase 2, cloroplástico [Sorghum bicolor] (Proteína contendo domínio SAM_MPBQ_MSBQ_MT) | C5YS1<br>9     | 38.661                  | 147.75 | -0.208147049                                  | Metilação   | ↑                       |
| Putativo aconitato hidratase, citoplasmático [Sorghum bicolor]  | Q1KSB<br>0     | 106.98                  | 309.6  | -0.263319969                                  | Metabolismo do citrato (Ciclo do ácido tricarbóxico)  | ↑                       |



|   |            |        |        |              |  |   |
|---|------------|--------|--------|--------------|--|---|
| Proteína de ligação 8 de clorofila a-b, cloroplástico [Sorghum bicolor]                 | A0A194YK39 | 35.698 | 204.64 | -0.310704231 | Fotossíntese   | ↑ |
| NADH-plastoquinona oxidoreductase subunidade J (cloroplasto) [Triplidium spp.]          | A0A3P3YQW6 | 18.669 | 280.4  | -0.369421959 | Transporte   | ↑ |
| Proteína contendo domínio PABS [Sorghum bicolor]  | A0A1B6QAK5 | 36.061 | 186.11 | -0.412387848 | Biossíntese de Poliamina (Atividade espermidina sintase) | ↑ |
| subunidade fotossintética NDH de localização luminal 1, cloroplástico [Sorghum bicolor] | A0A1B6QP29 | 25.508 | 86.25  | -0.46713829  | Fotossíntese   | ↑ |
| Porina 1 da proteína da membrana mitocondrial externa [Sorghum bicolor]                 | A0A3L6TDG6 | 29.403 | 23.489 | -0.514188766 | Transporte transmembrana                                 | ↑ |
| Semelhante à adenosina quinase 2 [Sorghum bicolor]                                      | A0A194YR04 | 37.049 | 204.51 | -0.580029488 | Recuperação de purina                                    | ↑ |
| Aminometiltransferase e mitocondrial [Sorghum bicolor]                                  | C5YG66     | 44.016 | 121.16 | -0.583096504 | Sistema de clivagem de glicina                           | ↑ |
| Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase A [Zea mays]                                      | A0A1D6IJ76 | 22.798 | 29.494 | -0.714304924 | Resposta a estresses ambientais                          | ↑ |
| Fosfoglicolato fosfatase 1B, cloroplástico [Sorghum bicolor]                            | B4FPG9     | 38.52  | 99.813 | -0.993219376 | Atividade fosfatase                                      | ↑ |

Diferença T-teste Student's com sinal negativo: Reprimidas em N e induzidas com N associada a Bac. Diferença T-teste Student's sem sinal: Inibidas em N e reprimidas com N associada a Bac.

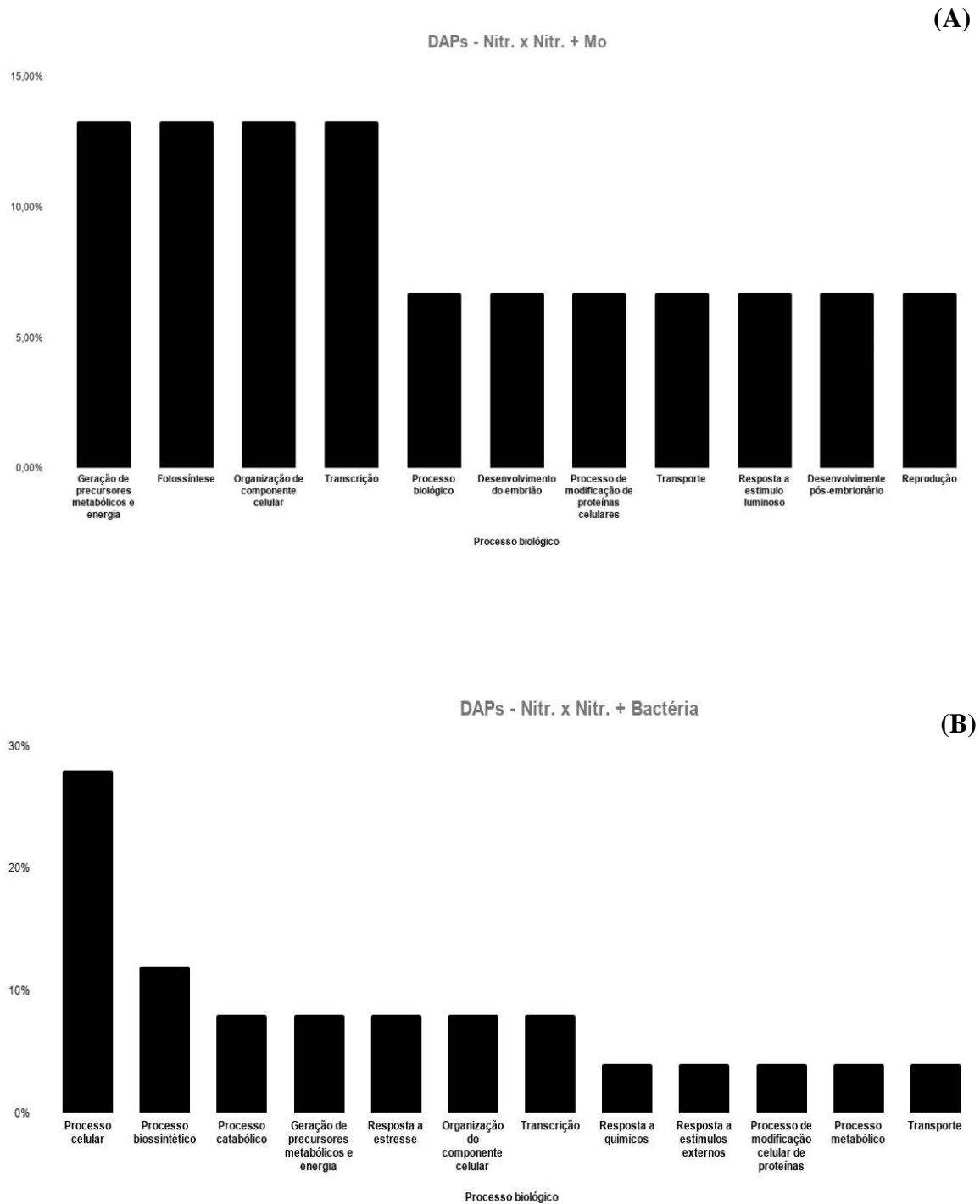
As proteínas diferencialmente acumuladas (DA) em ambos os tratamentos analisados na comparação N+Mo estão ligadas principalmente aos processos biológicos de geração de metabólitos de precursores e energia, fotossíntese, organização do componente celular e tradução (Figura 3A).

As proteínas exclusivamente acumuladas no tratamento com adição de Nitrogênio na RB92579 estiveram envolvidas principalmente com o processo e ciclo celular e no processo biossintético. Aquelas exclusivamente acumuladas no tratamento com adição de Nitrogênio e

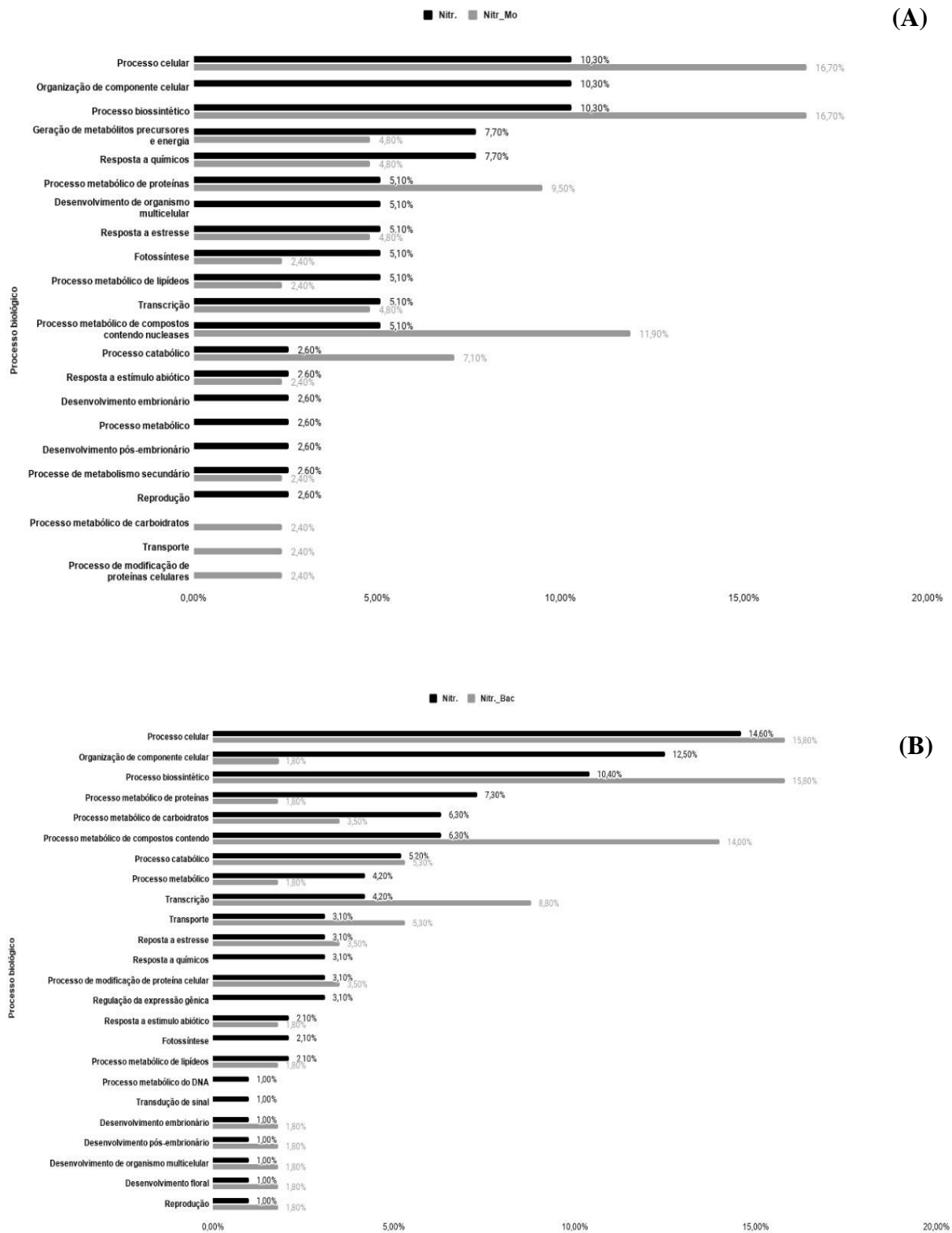
Molibdênio resultou em proteínas envolvidas com processo celular, processo biossintético e catabolismo (nucleobase e processo catabólico (Figura 4A).

Na RB867515 as proteínas DA em ambos os tratamentos analisados estão ligadas principalmente aos processos biológicos, celular e biossintético (Figura 3B). As proteínas exclusivamente acumuladas no tratamento com adição de Nitrogênio estiveram envolvidas principalmente com o processo metabólico de carboidratos, organização do componente celular e processo metabólico de proteínas. Aquelas exclusivamente acumuladas no tratamento com adição de Nitrogênio e inoculação com bactéria promotora de crescimento resultou em proteínas envolvidas com processo celular, processo biossintético e catabolismo (nucleobase e processo catabólico (Figura 4B).

Em ambas variedades houve grande quantidade de proteínas não caracterizadas, que é um viés da análise proteômica devido a bancos de dados de Poales com poucas espécies sequenciadas. Estudos adicionais são necessários para realizar a caracterização e anotação desses dados (ANEXO A e B).



**Figura 3** – Categorização ontológica de proteínas diferencialmente acumuladas por processo biológico. A: Na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Nitrogênio + Molibdênio. B: Na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculadas com Bactéria *Stenotrophomonas* sp



**Figura 4** – Categorização ontológica de proteínas exclusivas nas variedades de cana-de-açúcar. A: Processo celular na RB92579 suplementadas com Nitrogênio (Preto) e Nitrogênio + Molibdênio (Cinza). B: Processo celular na RB867515 suplementadas com Nitrogênio (Preto) e inoculada com Bactéria *Stenotrophomonas* sp. (Cinza)

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Comparação N+Mo – Variedade RB92579

As atividades metabólicas da planta são dependentes da biossíntese de monômeros e macromoléculas. Os monômeros são aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos e açúcares, que por sua vez constituem as macromoléculas (proteínas, RNA, DNA, fosfolipídeos e polissacarídeos), que são incorporados às atividades metabólicas da planta favorecendo o crescimento vegetal (KELLY, 2018; PERCHLIK; TEGEDER, 2018).

Esses compostos dependem dos átomos de nitrogênio (N) e carbono inorgânico (CO<sub>2</sub>) para realização da fase biossintética dos monômeros e macromoléculas. Em ambientes de baixa fertilidade o N é o elemento que mais limita o crescimento das plantas, pôr constituir o carbono fotossintético, ao atuar na síntese das proteínas utilizadas na assimilação do carbono. Ou seja, o fornecimento do N favorece a assimilação do CO<sub>2</sub>, que por sua vez aumenta a produção de clorofila, enzimas e ácidos nucleicos e a taxa fotossintética, promovendo maior crescimento da planta (KELLY, 2018; FRANCO et al., 2011).

Isso foi identificado em nosso trabalho ao analisar o proteoma de tecido foliar de cana soca, na variedade RB92579, ao constatar que a adubação nitrogenada favoreceu o acúmulo diferencial das proteínas ligadas ao metabolismo do carbono (anidrase carbônica X1 semelhante ao cloroplástico), processo fotossintético na montagem do fotossistema II (proteína de ligação a cloroplasto Ptr ToxA) e na tradução relacionada a montagem do RNA (Proteína não identificada) (Tabela 1).

A interação N+Mo na RB92579 resultou na repressão dessas proteínas (anidrase carbônica X1 semelhante ao cloroplástico, proteína de ligação a cloroplasto Ptr ToxA e uma proteína não identificada relacionada a montagem do RNA) e na indução do acúmulo diferencial das proteínas ribossomal L6 50S, actin-97-like, proteína de ligação ab e da proteína desidrogenase (quinona) semelhante a FQR1, ligadas respectivamente aos processos biológicos de tradução, divisão celular, fotossíntese (ligação proteína-cromóforo) e processo de óxido redução (Tabela 1).

De acordo com Yu, Hu e Wang (2006), o molibdênio (Mo) atua na biossíntese da clorofila ao evitar o bloqueio da conversão de ácido levulínico em uroporfirinogênio III, elevando o teor de clorofila na planta na presença do Mo. O que pode ter ocasionado o acúmulo diferencial da proteína de ligação ab (Tabela 1), que está ligada a clorofila. Essa proteína tem a função de captar a luz e fornecer energia de excitação aos fotossistemas (WANG et al., 2018). Como a clorofila está ligada ao processo fotossintético das plantas, a

presença de Mo eleva a eficiência da fotossíntese na cana-de-açúcar, que é convertida em biomassa (CACEFO et al., 2019; PENG et al., 2019).

A fotossíntese é um processo natural na planta que demanda muita energia metabólica da planta, e com o aumento da eficiência desse processo o aparelho fotossintético não precisa está tão ativo, demandando menos energia da planta (CACEFO et al., 2019; FERREIRA JUNIOR et al., 2012). Isso é identificado na redução da abundância das proteínas envolvidas na fotossíntese quando adubadas apenas com N, como a proteína de ligação a cloroplasto Ptr ToxA, a proteína anidrase carbônica X1 semelhante ao cloroplástico e uma proteína não caracterizada que atua tradução relacionada a montagem do RNA.

A proteína anidrase carbônica X1 semelhante ao cloroplástico atua no transporte e metabolização de fontes alternativas de CO<sub>2</sub> quando as fontes primárias de carbono esgotam, e como a atividade do aparelho fotossintético foi reduzida, a atividade das proteínas na fixação de carbono foi minimizada (LUDWIG, 2016).

A aplicação de Mo associado ao N resultou no acúmulo diferencial de proteínas ribossomal L6 50S, que é responsável pela formação de novas proteínas. No ribossomo a genética do RNA mensageiro é traduzida e a síntese das proteínas é realizada (PENG et al., 2019). A L6 é essencial nesse processo pôr participar do estágio final da montagem de subunidades 50S funcionais (SHIGERO; UCHIUMI; NOMURA, 2016).

A análise do proteoma do tecido vegetal fornece informações moleculares que estão ocorrendo na planta num momento específico em resposta as condições submetidas (KOMATSU, 2019). Foi observado no dia da coleta que os compartimentos da cana soca em toda área experimental apresesntava manchas vermelhas, sintomas típicos da presença do fungo ferrugem (fungo que promove a morte das células), nessas condições a planta está submetida a estresse, que quando adubadas com N+Mo, a planta promoveu como resposta o acúmulo diferencial das proteínas desidrogenase (quinona) semelhante a FQR1 e actin-97-like (Tabela 1). As proteínas desidrogenase (quinona) semelhante a FQR1 atuam em condições de estresse, para promover a sobrevivência das células vegetais. Ligadas aos mononucleotídeos de flavina é promovido o processo de oxido redução, pela redução de um ou dois elétrons como forma de desintoxicação (RYAN et al., 2014; HEYNO; ALKAN; FLUHR, 2013).

As proteínas actin-97-like são componentes essenciais do citoesqueleto celular, ligadas a adesonina trifosfato (ATP) e aos nucleotídeos promovem a divisão e formação das células, substituindo as células mortas e promovendo o crescimento das plantas (LEE; DOMINGUEZ, 2010).

A interação entre o nitrogênio e molibdênio resultou no acúmulo diferencial de proteínas ligadas aos processos celular, biossintético e ao catabolismo (Figura 4A). As proteínas diferencialmente acumuladas no processo celular estavam ligadas principalmente aos papéis de antioxidativos aos níveis elevados de  $H_2O_2$ , metilação das proteínas, metabolismo do carbono e do nitrogênio (Anexo A).

Quando os teores de  $H_2O_2$  estão altos no sistema metabólico da planta, pelos processos fotossintéticos, fotorrespiratórios e produção de auxinas, as enzimas ou proteínas peroxidase são sintetizadas e atuam na remoção do  $H_2O_2$  com o intuito de evitar a morte celular. (BARBOSA et al., 2014; ALMULAIKY, 2020). Além disso, as proteínas peroxidase apresentam potencial de biomarcadores moleculares, e atuam na formação de lignina, cicatrização de fissuras, proteção contra fatores bióticos e abióticos (KURT; UCKAYA; DURMUS, 2017; ZEYADI; ALMULAIKY, 2020). A indução das proteínas peroxidase está ligada a atividade da enzima xantina desidrogenas/oxidase, enzima que apresenta o Mo como cofator, que produz radicais de peróxidos em resposta a estresses bióticos e abióticos (KAISER et al., 2005).

Na metilação as proteínas O-metiltransferase ZRP4 promovem a ligação covalente de um grupo de metil á uma molécula pertencente aos compostos fenólicos, ésteres de cafeoil-CoA, ácidos hidroxicinâmicos, fenóis simples, ácidos carboxílicos, flavonóides e alcalóides, favorecendo a germinação das plantas, o desenvolvimento radicular e aéreo. O maior acúmulo dessas proteínas ocorre nas raízes, localizados principalmente na endordeme, com menor acúmulo nas folhas e colmos (LIU, et al., 2019; LIU, et al., 2020; HELD et al., 1993).

No metabolismo do carbono as proteínas diferencialmente acumuladas no processo celular atuaram na via de inter-converção do tetrahidrofatato, elemento essencial no metabolismo das plantas ao atuar na síntese de ácidos nucleicos, aminoácidos, pantotenato e reações de metilação, através da doação de unidades de carbono (GORELOVA et al., 2019).

As proteínas peroxidase e metilenotetrahidrofolato redutase, presentes no processo celular, estão ligadas aos grupos proteicos HEME e FAD. O HEME faz parte constituinte do NADH junto a dois grupos proteicos e o complexo de molibdênio, que se ligam ao FAD e promovem a redução do  $NO_3^-$  á  $NO_2^-$ , posteriormente convertido a  $NH_4^+$ . Ou seja, a ação dessas proteínas estão ligadas ao metabolismo do N na planta, que foi potencializada com a aplicação do Mo.

No processo biossintético foram identificados o acúmulo diferencial de proteínas relacionadas à síntese hormonal, responsiva a seca, metilação das proteínas, metabolismo do carbono e do nitrogênio (Figura 4A). Nos processos de metilação das proteínas, metabolismo

do carbono e do nitrogênio as proteínas identificadas desempenharam papéis semelhantes às identificadas no processo celular.

O acúmulo diferencial de proteínas ligadas a DNA MNB1B na cana soca quando adubadas com N+Mo são responsáveis pela síntese hormonal das auxinas e ácido absícico e no controle do déficit hídrico. Essas proteínas atuam na regulação de transcrição, modelada pelo DNA, e que faz parte da proteína B3, responsável na planta pela resposta hormonal das auxinas e ácido absícico (YAMASAKI et al., 2013). Além disso, as proteínas ligadas a DNA MNB1B interagem com outras proteínas responsivas a seca e atuam no controle do déficit hídrico (SAHID et al., 2020).

No catabolismo da cana-de-açúcar quando aplicado N e Mo associados foram identificadas o acúmulo diferencial de proteínas ligadas á síntese hormonal, controle do déficit hídrico e síntese do piruvato (Figura 4A). As proteínas ligadas a DNA MNB1B foram diferencialmente acumulada com a adição do Mo, correlacionado no sistema metabólico da planta com a síntese das auxinas e ácidos absícicos e em resposta ao déficit hídrico (YAMASAKI et al., 2013; SAHID et al., 2020).

A proteína piruvato quinone, diferencialmente acumulada na interação N+Mo, está ligada ao processo de degradação da glicose e produção de energia na atividade metabólica da planta. A glicose é composta por duas moléculas de piruvato que contém três carbonos cada, e na etapa inicial da degradação da glicose (glicólise) a proteína piruvate quinone está envolvida quinta etapa da sub-via que síntese o piruvate a aprtir do D-gliceraldeído 3-fosfato. O produto final da glicólise é duas moléculas de piruvato, NADH e ATP (WULFERT; SCHILASKY; KRUEGER, 2020).

O molibdênio é um microelemento presente no sítio ativo de enzimas nas plantas, como redutase do nitrato, aldeído oxidase e xantina desidrogenase ao constituir um composto de peptrina denominado Moco (cofator de molibdênio) (NOVOTNY; PETERSON, 2018; TEJADA-JIMENEZ et al., 2018). Isso é confirmado ao identificar o acúmulo diferencial de proteínas envolvidas nesses e demais processos no metabolismo da cana soca, que promoveu maior produção de hormônios vegetais, eficiência fotossintética e controle a estresses bióticos e abióticos, acarretando em ganhos no crescimento vegetal da variedade RB92579 aos 100 dias após a colheita quando aplicado o Mo associado ao N.

#### **4.2 Comparação N+Bac – Variedade RB867515**

A aplicação do nitrogênio resultou no acúmulo diferencial de proteínas ligadas a fotossíntese, síntese de proteínas, transporte de elétrons e mecanismos de defesa da planta



contra o ataque de patógenos e espécies reativas de oxigênio (Tabela 2). A fotossíntese apresenta relação direta com a disponibilidade de N na cana soca, evidenciado ao acumular as proteínas peptidil cis-trans isomerasase CYP37, proteína 6 contendo domínio PsbP e plastocianina.

A proteína CYP37 está envolvida na montagem dos fotossistemas I e II através da ligação das proteínas (SANTOS; PARK, 2019). A transferência de elétrons nos fotossistemas são mediadas pelas proteínas 6 contendo domínio PsbP e plastocianina, envolvidas respectivamente na transferência de elétrons dentro da membrana do tilacóide e entre os dois fotossistemas (LI et al., 2020; HOHNER et al., 2020), elevando a eficiência fotossintética das plantas, o que favorece o desenvolvimento da cultura.

Sob condições de estresse bióticos e/ou abióticos as plantas utilizam suas reservas nutricionais para desenvolver mecanismos de defesa que minimizem os danos causados, isso pode ser evidenciado em nosso estudo pelo acúmulo diferencial das proteínas 3-isopropilmalato desidrogenase, que sob ataque de herbívoros atua na biossíntese de L-leucina, que produz glucosinolatos, enzima que libera toxinas voláteis proporcionando odor e gosto adstringente contra o ataque de patógenos (SIKDAR; KIM, 2011).

Quando a planta está submetida a estresse á produção de espécies reativas de oxigênio causando danos oxidativos pelos níveis altos de  $H_2O_2$ , diante disso a planta produz ascorbato peroxidase com o intuito de reduzir os níveis de  $H_2O_2$  no metabolismo da planta, evidenciado no presente estudo pelo acúmulo das proteínas L-ascorbato peroxidase 2 (HONG et al., 2018).

O acúmulo diferencial de proteínas ribossômicas na atividade metabólica da cana-de-açúcar quando adubadas com N possibilita a síntese de novas proteínas ligadas a divisão celular e ao desenvolvimento das células contribuindo para heterose celular (HAN et al., 2016). É evidente a importância dessas proteínas no metabolismo da cana soca na fase inicial de desenvolvimento, assim como da adubação nitrogenada, acarretando no maior crescimento das plantas. Contudo, ao associar a adubação nitrogenada á inoculação de BPCP essas proteínas foram reprimidas e o acúmulo de novas proteínas foram induzidas (Tabela 2).

As proteínas diferencialmente acumuladas pela interação N+Bac estão ligadas aos processos fotossintético e respiratório, solubilização e transporte de nutrientes, estresse ambiental, produção de poliaminas e produção de nucleotídeos (Tabela 2).

A inoculação bacteriana promoveu a produção do bioestimulante vegetal poliaminas, por meio do acúmulo diferencial de proteínas contendo domínio PABS. Esse bioestimulante é responsável principalmente pela maturação e desenvolvimento do fruto e no desenvolvimento da flor, podendo atuar em resposta a estresses bióticos e abióticos (CHEN et al., 2019).

No processo fotossintético as proteínas diferencialmente acumuladas atuam na clorofila, através da captura de luz (proteína de ligação 8 á clorofila ab), e na produção de ATP (proteína ligada á subunidade fotossintética NDH de localização luminal 1 – NDH-1L). Na NDH-1L é produzido ATP no fotossistema II com o intuito de atender a demanda energética da planta, por meio do fluxo de elétrons cíclicos. Contudo, o ATP produzido não é o suficiente para equilibrar a relação ATP/NADPH, necessárias para assimilação de CO<sub>2</sub> durante o ciclo de Calvin, tendo em vista que nesse processo não é produzido NADPH, acarretando numa menor eficiência fotossintética (PAN et al., 2020).

Na cadeia respiratória as proteínas diferencialmente acumuladas atuam no processo metabólico do citrato, produção de CO<sub>2</sub>, produção e transporte de NADH. A proteína aminometiltransferase mitocondrial promove a redução de moléculas de NAD<sup>+</sup> a NADH e a proteína NADH-quinona oxiredutase subunidade 1 atua no transporte do NADH via flavina mononucleotídeos e centros de ferro-enzofre para quinonas na cadeia respiratória (WITTMIB et al., 2020; OHNISHI; OHNISHI, SALERNO, 2018).

No processo metabólico do citrato a proteína piruvato aconitato hidrolase atua no ciclo do ácido tricarboxílico, componente essencial no metabolismo respiratório (ARAÚJO et al., 2012). A proteína fosfoglicolato fosfatase 1B é responsável pela produção de CO<sub>2</sub>, principal produto gerado da cadeia respiratória. Essa proteína também é responsável pela solubilização de fosfato inorgânico, através da catalise da hidrolise de monoésteres (FLUGEL et al., 2017).

Outras proteínas diferencialmente acumuladas estão relacionadas à atividade da metiltransferase (proteína 2-metil-fitol-1,4-hidroquinona metiltransferase 2), transporte transmembranar de ânions (Porina 1 da proteína da membrana mitocondrial externa) e controle á estresse biótico e abiótico, favorecendo o desenvolvimento da cana soca (ZENG et al., 2016).

A interação N+Bac resultou no estímulo de proteínas ligadas aos mesmos processos biológicos citados na comparação N+Mo na cana soca (processos celular, biossintético e ao catabolismo), porém as proteínas diferencialmente acumuladas foram diferentes, o que resultou em estímulos diferentes no desenvolvimento da cultura (Figura 4B). Nesses processos as proteínas estimuladas estavam ligadas a papéis importantes na planta, como respiração, solubilização e transporte de fosfato inorgânico, transporte transmebranar de íons de potássio, produção de hormônios vegetais, síntese da ureia e transporte de proteínas.

A nutrição fosfatada é essencial para o desenvolvimento das plantas, atuando em processos decisivos no crescimento das plantas, como fotorrespiração, fotossíntese e compondo moléculas de nucleotídeos, RNA e DNA (KALAYU, 2019). Em solos agrícolas a

maior parte do fósforo aplicado é retido no solo, que fica indisponível as plantas limitando suas atividades metabólicas (SHARMA et al., 2013). E a inoculação com *Stenotrophomonas* sp. associada a adubação nitrogenada propiciou a solubilização do fosfato inorgânico do solo, identificado pelo acúmulo diferencial de proteínas responsáveis pela hidrólise de moésteres fosfóricos, nos processos celular e no catabolismo (Figura 4B). O mesmo foi evidenciado por Talué et al. (2012) ao identificar que 22% dos 103 isolados de BPCP apresentavam a capacidade de solubilizar fosfato.

A maioria das proteínas diferencialmente acumuladas nos processos celular, biossintético e no catabolismo apresentam o fósforo na sua composição, como por exemplo, as proteínas ribulose-fosfato pirofosfoquinase 4, frutose-bifosfato aldolase e alanina-glioxalato aminotransferase (ANEXO B), que atuam na biossíntese de nucleotídeos, fotossíntese e fotorrespiração (KOSLOWSK et al., 2008; CAI et al., 2016; MODDE et al., 2017). O que evidencia a importância desses micro-organismos na solubilização do fósforo e nas atividades metabólicas da planta.

A inoculação bacteriana proporcionou o acúmulo diferencial das proteínas ribulose-fosfato pirofosfoquinase 4 e S-metil-5-tioribulose quinase que atuam na síntese do triptofato e biossintese da metionina, precursores dos hormônios vegetais auxina e etileno (YU et al., 2017). A interação entre auxina e etileno promove alterações no arranjo das raízes no solo pelo crescimento das raízes e pêlos laterais, que possibilita o maior desenvolvimento radicular (MUDAY; RAHMAN; BINDER, 2012).

Os benefícios no desenvolvimento radicular na cana soca são observados pelo acúmulo diferencial das proteínas frutose-bifosfato aldolase no presente estudo (ANEXO B), expressa em condições de estresse biótico ou abiótico, atuando na regulação do crescimento da planta. Fato evidenciado por Lv et al. (2017) nas raízes de trigo, em que a maioria dos genes de frutose-bifosfato aldolase se expressaram nas raízes, promovendo o maior crescimento radicular.

De acordo com Konishi et al. (2005) o acúmulo dessa proteína impulsiona o aumento na biomassa radicular, especialmente quando associado a geberelina favorecendo o desenvolvimento das raízes, evidenciado em nosso estudo com o aumento na produção de biomassa radicular da cana soca adubadas com N e BPCP.

No processo celular e biossintético o acúmulo diferencial das proteínas de domínio M20\_dimer, nas plantas inoculadas com a *Stenotrophomonas* sp., que atuam na biossíntese da ortina influenciou de forma positiva no ciclo da ureia ao aplicar N e BPCP associadas. A ureia é formada naturalmente no metabolismo da planta, durante o metabolismo do N, mesmo sem

condições de estresse. A planta atua na síntese da ureia formando  $\text{NH}_3$  e  $\text{CO}_2$  com o intuito de reduzir os níveis de ureia no interior da planta. Em seguida, a  $\text{NH}_3$  se associa a glutamina sintetase e glutamato sintetase e é incorporada ao metabolismo da planta para suas atividades metabólicas, e o  $\text{CO}_2$  é utilizado no processo fotossintético (HUSSEIN et al., 2019; MAJUMDAR et al., 2013).

A introdução do inoculante bacteriano á plantas de cana-de-açúcar adubadas com N resultou na maior expressão de proteínas ligadas ao processo respiratório da planta, como por exemplo, a proteína alanina-glioxilato aminotransferase, uma importante proteína na respiração (XU et al., 2017).

A respiração é um processo crucial no metabolismo da planta, ocorre de forma inversa á fotossíntese, nele ocorre a conversão do 2-fosfoglicolato em 3-fosfoglicerato, liberando  $\text{NH}_3$  e  $\text{CO}_2$ . Ou seja, nesse processo dois carbonos são convertidos á três carbonos, que é compatível ao ciclo de Calvin. Na respiração é consumido  $\text{O}_2$  e açúcares produzidos na fotossíntese e gerados  $\text{CO}_2$  que é fornecido à fotossíntese, uma relação de benefício mútuo (XU et al., 2017; MODDE et al., 2017).

Esses dois processos devem estar em equilíbrio na planta para favorecer o desenvolvimento da cultura ou com maior expressão do processo fotossintético, o que favorece o acúmulo de energia na planta (CACEFO et al., 2019). É identificado com a aplicação de N e BPCP a maior expressão de proteínas relacionadas ao processo respiratório, indicando que o gasto de energia na fase inicial de desenvolvimento da planta está sendo alto.

No entanto, é identificado que a maioria das proteínas relacionadas à fotossíntese foram reprimidas pelo inoculante e que as proteínas expressas sob a interação N+Bac não foram suficientes para atender a demanda da cultura, mesmo ocorrendo a metabolização da ureia na planta. Isso ocorre provavelmente pela redução nas atividades metabólicas do nitrogênio na planta, causado pela inibição de proteínas ligadas a FAD no processo metabólico dos carboidratos, proteínas e organização do componente celular (Figura 4B), que é um cofator das enzimas oxidoredutores, como a atividade da reductase do nitrato. Ainda foi identificado nestes processos que a associação entre o N e as BPCP inibiram a síntese de proteínas responsáveis pela produção de carboidratos, açúcares e biosíntese do amido (KOTE et al., 2020; ISHII et al., 2016).

## 5 CONCLUSÕES

Na variedade RB92579 de cana soca a aplicação do molibdênio associado à adubação nitrogenada elevou a eficiência fotossintética, a produção de hormônios vegetais, a assimilação de nitrogênio e controle a estresses bióticos e abióticos acarretando no maior desenvolvimento da parte aérea e radicular da cana soca quando comparado a adubação nitrogenada isolada.

Para RB867515 a inoculação associado á adubação nitrogenada promoveu o maior gasto de energia na planta pela respiração e reprimiu as proteínas relacionadas à fotossíntese, havendo um desequilíbrio na relação fotossíntese/respiração que por consequência ocasionou a redução no desenvolvimento da parte aérea da cana soca. Em resposta ao estresse submetido promoveu a produção de hormônios vegetais direcionados as raízes, que acarretou no maior crescimento radicular, assim como na solubilização de fosfato inorgânico.

Nas duas variedades as plantas adubadas apenas com N resultaram no acúmulo diferencial de proteínas ligadas ao processo fotossintético, metabolismo do carbono, na síntese de proteínas e nos mecanismo de defesa da planta, acarretando no maior crescimento vegetal da parte aérea da cana soca.

## REFERÊNCIAS

AAMER, M.; AHMAD, R.; ANJUM, S. A.; HASSAN, M. U.; RASUL, F.; QAING, W. Z.; QASIM, H. Z. U.; CHAUDHARY, F. A.; GUOQIN, H. Production Potential of Ratoon Crop of Sugarcane Planted under Varying Planting Dimensions. **Academia Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 3, p. 736-741, 2017. <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173384929>>.

AEBERSOLD, R.; MANN, M. Mass spectrometry-based proteomics. **Nature**, v. 422, n. 6928, p. 198-207, 2003. <<https://www.nature.com/articles/nature01511.pdf>>.

AGÊNCIA EXECUTIVA DE GESTÃO DE ÁGUAS. GOVERNO DA PARAÍBA. GEO AESA. Disponível em <<http://www.siegrh.aesa.pb.gov.br>> Acesso: janeiro, 2020.

ALMULAIKY, Y. Q. Peroxidase From *Coleus Forskohlii*: Purification and Biochemical Characterization. **International Journal of Nutrition**, v. 5, n.1, p. 1-9, 2020. <DOI: 10.14302/issn.2379-7835.ijn-19-3139>.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n 6, p 711-728, 2013. <<https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>>.

ANTUNES, J. E. L.; LYRA, M. C. C. P.; OLLERO, F. J.; FREITAS, A. D. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO M. V. B. Diversity of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Genetics and Molecular Research**. Ribeirão Preto, v. 16, n. 2, 2017. <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2017/vol16-2/pdf/gmr-16-02-gmr.16029662.pdf#:~:text=Different%20genera%20of%20PGPB%2C%20such,new%20species%20for%20agricultural%20use.>>>.

ARAÚJO, W. L.; NUNES-NEZI, A.; NIKOLOSKI, Z.; SWEETLOVE, L. J.; FERNIE, A. R. Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues. **Plant Cell Environ**, v. 35, n. 1, p. 1-21, 2012. <doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02332.x>.

ARAÚJO, W. L. de.; LACAVA, P. T.; MARCO, J.; LIMA, A. O. de S.; SOBRAL, J. K.; AZEVEDO, J. L. de; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. **Guia prático: Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos**. Piracicaba: Calo, p. 167, 2010.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. DE A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Cienc. Rural**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014. <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>>.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/942051/>>.

CACEFO, V.; RIBAS, A. F.; ZILLIANI, R. R.; NERIS, D. M.; DOMINGUES, D. S.; MORO, A. L.; VIEIRA, L. G. E. Decarboxylation mechanisms of C4 photosynthesis in *Saccharum* spp.: Increased PEPCK activity under water-limiting conditions. **BMC Plant Biology**, v. 19, n. 1, p. 1-14, 2019. <<https://doi.org/10.1186/s12870-019-1745-7>>.

CAI, B.; LI, Q.; XU, Y.; YANG, L.; BI, H.; AI, X. Genome-wide analysis of the fructose 1,6-bisphosphate aldolase (FBA) gene family and functional characterization of FBA7 in tomato. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 108, p. 251-265, 2016. <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.019>>.

CHEN, D.; SHAO, Q.; YIN, L.; YOUNIS, A.; ZHENG, B. Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses. **Front. Plant Sci.**, v. 9, n. 1945, 2019. <doi: 10.3389/fpls.2018.01945>.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes**. ed. téc. Silva, F. C. da. Embrapa Informação Tecnológica. ed. 2, p. 627, Brasília, DF, 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. eds. téc. TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. Embrapa Informação Tecnológica. ed. 3, p. 573, Brasília, DF, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. ed. téc. Humberto Gonçalves dos Santos. 5ª ed. revista e ampliada – Embrapa Informação Tecnológica. 532 p. Brasília, DF: 2018.

EMIDIO, N. B.; CARPANEZ, A. G.; QUELLIS, L. R.; FARANI, P. S.; VASCONCELOS, E. G.; FARIA-PINTO, P. Proteômica: uma introdução aos métodos e aplicações. **Revista HU**. Juiz de Fora, v. 41, n. 3 e 4, 2016. <<https://periodicos.ufjf.br/index.php/hurevista/article/view/2482>>.

FERREIRA JUNIOR, R. A.; SOUZA, J. L. DE.; LYRA, G. B.; TEODORO, I.; SANTOS, M. A. DOS.; PORFIRIO, A. C. S. Crescimento e fotossíntese de cana-de-açúcar em função de variáveis biométricas e meteorológicas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 11, p. 1229-1236, 2012. <<https://doi.org/10.1590/s1415-43662012001100012>>.

FLUGEL, F.; TIMM, S.; ARRIVAVULT, S.; FLORIAN, A.; STITT, M.; FERNIE, A. R.; BAUWE, H. The Photorespiratory Metabolite 2-Phosphoglycolate Regulates Photosynthesis and Starch Accumulation in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 29, n. 10, p. 2537-2551, 2017. <<http://www.plantcell.org/content/29/10/2537>>.

FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A. de; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**. v. 121, n. 1, p. 29-41, 2011. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378429010002947>>.

GAVA, G. J. DE. C.; SCARPARE, F. V.; CANTARELLA, H.; KÖLLN, O. T.; RUIZ-CORRÊA, S. T.; ARLANCH, A. B.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen source contribution in sugarcane-inoculated plants with diazotrophic bacteria under urea-N fertigation management. **Sugar Tech**, v. 21, n. 3, p. 462-470, 2019. <<https://doi.org/10.1007/s12355-018-0614-2>>.

GORELOVA, V.; BASTIEN, O.; DE CLERCK, O.; LESPINATS, S.; RÉBEILLÉ, F.; STRAETEN, D. V. D. Evolution of folate biosynthesis and metabolism across algae and land plant lineages. **Scientific Reports**, n. 9, n. 5731, 2019. <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42146-5>>.

GREENBAUM, D.; COLANGELO, C.; WILLIAMS, K.; GERSTEIN, M. Comparing protein abundance and mRNA expression levels on a genomic scale. **Genome biology**, v. 4, n. 9, p. 1-8, 2003. <<https://genomebiology.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/gb-2003-4-9-117.pdf>>.

HAN, P.; LU, X.; MI, F.; DONG, J.; XUE, C.; LI, J.; HAN, B.; ZHANG, X. Proteomic analysis of heterosis in the leaves of sorghum–sudangrass hybrids. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 48, n. 2, p. 161–173, 2016. <<https://doi.org/10.1093/abbs/gmv126>>.

HELD, B. M.; WANG, H.; JOHN, I.; WURTELE, E. S.; COLBERT, J. T. An mRNA Putatively Coding for an O-Methyltransferase Accumulates Preferentially in Maize Roots and Is Located Predominantly in the Region of the Endodermis. **Plant Physio**, v. 102, p. 1001-1008, 1993. <<https://doi.org/10.1104/pp.102.3.1001>>.

HONG, S. H.; TRIPATHI, B. N.; CHUNG, M. S.; CHO, C.; LEE, S.; KIM, J.; BAI, H.; BAE, H.; CHO, J.; CHUNG, B. Y.; LEE, S. S. Functional switching of ascorbate peroxidase 2 of rice (OsAPX2) between peroxidase and molecular chaperone. **Sci Rep**, v. 8, n. 9171, 2018. <<https://doi.org/10.1038/s41598-018-27459-1>>.

HUSSEIN, H. A.; MEKKI, B. B.; EL-SADEK, M. E. A.; LATEEF, E. E. E. Effect of L-Ornithine application on improving drought tolerance in sugar beet plants. **Research Article**, v. 5, n. 10, p. 1-8, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02631>>.

HEYNO, E.; ALKAN, N.; FLUHR, R. A dual role for plant quinone reductases in host–fungus interaction. **Physiologia Plantarum**, v. 149, p. 340–353, 2013. <[doi:10.1111/pp1.12042](https://doi.org/10.1111/pp1.12042)>.

HÖHNER, R.; PRIBIL, M.; HERBSTOVÁ, M.; LOPEZ, L. S.; KUNZ, H.; MENG LI, M.; WOOD, M.; SVOBODA, V.; PUTHIYAVEETIL, S.; LEISTER, D.; KIRCHHOFF, H. Plastocyanin is the long-range electron carrier between photosystem II and photosystem I in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 26, p. 15354-15362, 2020. <[DOI: 10.1073/pnas.2005832117](https://doi.org/10.1073/pnas.2005832117)>.

KAISER, B. N.; GRIDLEY, K. L.; BRADY, J. N.; PHILLIPS, T.; TYERMAN, S. D. The role of molybdenum in agricultural plant production. **Annals of Botany**, v. 96, n. 5, p. 745-754, 2005. <<https://doi.org/10.1093/aob/mci226>>.

KALAYU, G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, vol. 2019, p. 1-7, 2019. <<https://doi.org/10.1155/2019/4917256>>.

KELLY, S. The Amount of Nitrogen Used for Photosynthesis Modulates Molecular Evolution in Plants. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 7, p. 1616–1625, 2018. <<https://doi.org/10.1093/molbev/msy043>>.

KOSLOWSKY, S.; RIEGLER, H.; BERGMÜLLER, E.; ZRENNER, R. Higher biomass accumulation by increasing phosphoribosylpyrophosphate synthetase activity in *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum*. **Plant Biotechnol J.**, v. 6, n. 3, p. 281-94, 2008. <[doi: 10.1111/j.1467-7652.2007.00314.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2007.00314.x)>.

KOMATSU, S. Plant Proteomic Research 2.0: Trends and Perspectives. **Jornal internacional de ciências moleculares**, vol. 20, n.10, p. 2495, 2019. <[doi: 10.3390 / ijms20102495](https://doi.org/10.3390/ijms20102495)>.

KONISHI, H.; YAMANE, H.; MAESHIMA, M.; KOMATSU, S. Characterization of fructose-bisphosphate aldolase regulated by gibberellin in roots of rice seedling. **Plant Mol Biol**, v. 56, n. 6, p. 839-48, 2005. <[doi: 10.1007/s11103-004-5920-2](https://doi.org/10.1007/s11103-004-5920-2)>.

KOTE, N.; MANJULA, A. C.; VISHWANATHA, T.; PATIL, A. G. G. Produção de alto rendimento e caracterização bioquímica de  $\alpha$ -galactosidase produzida a partir de *Penicillium sp.* Localmente isolado. **Bull Natl Res Cent**, v. 44, n. 168, 2020. <<https://doi.org/10.1186/s42269-020-00420-x>>.

KURT, B. Z.; UCKAYA, F.; DURMUS Z. Chitosan and carboxymethyl cellulose based magnetic nanocomposites for application of peroxidase purification. **Int J Biol Macromol**, v. 96, p. 149-160, 2017. <[doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.042](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.042)>.



- ISHII, J.; OKAZAKI, F.; DJOHAN, A. C.; HARA, K. Y.; ASAI-NAKASHIMA, N.; TERAMURA, H.; ANDRIANI, A.; TOMINAGA, M.; WAKAI, S.; KAHAR, P.; YOPI; PRASETYA, B.; OGINO, C.; KONDO, A. De manano a bioetanol: co-exibição na superfície celular de  $\beta$ -mananase e  $\beta$ -manosidase na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnol Biofuels**, v. 9, n. 188, 2016. <<https://doi.org/10.1186/s13068-016-0600-4>>.
- LEE, S. H.; DOMINGUEZ, R. Regulation of actin cytoskeleton dynamics in cells. **Molecules and Cells**, v, 29, p. 311–325, 2010. <<https://doi.org/10.1007/s10059-010-0053-8>>.
- LI, C.; NONG, Q.; SOLANKI, M. K.; LIANG, Q.; XIE, J.; LIU, X.; LI, Y.; WANG, W.; YANG, L.; LI, Y. Differential expression profiles and pathways of genes in sugarcane leaf at elongation stage in response to drought stress. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 25698, 2016. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4864372/>>.
- LI, H.; LI, Y.; KE, Q.; KWAK, S.-S.; ZHANG, S.; DENG, X. Physiological and Differential Proteomic Analyses of Imitation Drought Stress Response in Sorghum bicolor Root at the Seedling Stage. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 23, p. 2-26, 2020. <<https://doi.org/10.3390/ijms21239174>>.
- LIMA, D. R. M. DE; SANTOS, I. B. dos; OLIVEIRA, J. T. C.; BARBOSA, J. G.; DINIZ, W. P da S.; FARIAS, A. R. B. de; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Tolerance of potentially diazotrophic bacteria to adverse environmental conditions and plant growth-promotion in sugarcane. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 64, n. 11, p. 1534-1548, 2018. <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03650340.2018.1443212>>.
- LIMA, A. M. S. de. **Adubação nitrogenada e molíbdica em cana planta inoculada com bactéria promotora de crescimento**. 2020. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020.
- LIU, Z.; FAN, F.; LI, C.; XU, J. Dynamic gene amplification and function diversification of grass-specific O-methyltransferase gene family. **Genomics**, v. 111, n. 4, p. 687-695, 2019. <<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.04.005>>.
- LIU, X.; WANG, Y.; CHEN, Y.; XU, S.; GONG, Q.; ZHAO, C.; CAO, J.; SUN, C. Characterization of a Flavonoid 3’/5’/7-O-Methyltransferase from *Citrus reticulata* and Evaluation of the In Vitro Cytotoxicity of Its Methylated Products. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 1-15, 2020. <<https://doi.org/10.3390/molecules25040858>>.
- LUDWIG M. Evolution of carbonic anhydrase in C4 plants. **Curr Opin Plant Biol**, v. 31, p.16-22, 2016. <doi: 10.1016/j.pbi.2016.03.003>.
- LV, G.; GUO, X.; XIE, L.; XIE, C.; ZHANG, X.; YANG, Y.; XIAO, L.; TANG, Y.; PAN, X.; GUO, A.; XU, H. Molecular Characterization, Gene Evolution, and Expression Analysis of the Fructose-1, 6-bisphosphate Aldolase (FBA) Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Front. Plant Sci.**, v. 8, n. 1030, 2017. <doi: 10.3389/fpls.2017.01030>.
- MAJUMDAR, R.; SHAO, L.; MINOCHA, R.; LONG, S.; MINOCHA, S. C. Ornithine: the overlooked molecule in the regulation of polyamine metabolism. **Plant Cell Physiol**, v. 54, n. 6, p. 990-1004, 2013. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23574701/>>.

MENDEL, R. R.; LEIMKÜHLER, S. The biosynthesis of the molybdenum cofactors. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 20, n. 337-347, 2015. <<https://doi.org/10.1007/s00775-014-1173-y>>.

MODDE, K.; TIMM, S.; FLORIAN, A.; MICHL, K.; FERNIE, A. R.; BAUWE, H. High serine:glyoxylate aminotransferase activity lowers leaf daytime serine levels, inducing the phosphoserine pathway in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 3, p. 643–656, 2017. <<https://doi.org/10.1093/jxb/erw467>>.

MITCHELL, A. L.; ATTWOOD, T. K.; BABBITT, P. C.; BLUM, M.; BORK, P.; BRIDGE, A.; SHOSHANA D BROWN, S. D.; CHANG, H.; EL-GEBALI, S.; FRASER, M. I.; GOUGH, J.; HAFT, D. R.; HUANG, H.; LETUNIC, I.; LOPEZ, R.; LUCIANI, A.; MADEIRA, F.; MARCHLER-BAUER, A.; MI, H.; NATALE, D. A.; NECCI, M.; NUKA, G.; ORENCO, C.; PANDURANGAN, A. P.; PAYSAN-LAFOSSE, T.; PESSEAT, S.; POTTER, S. C.; QURESHI, M. A.; RAWLINGS, N. D.; REDASCHI, N.; RICHARDSON, L. J.; RIVOIRE, C.; SALAZAR, G. A.; SANGRADOR-VEGAS, A.; SIGRIST, C. J. A.; SILLITOE, I.; SUTTON, G. G.; THANKI, N.; THOMAS, P. D.; TOSATTO, S. C. E.; YONG, S.; FINN, R. D. InterPro in 2019: improving coverage, classification and access to protein sequence annotations. *Nucleic acids research*, v. 47, n. D1, p. D351-D360, 2019. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30398656/>>.

MUDAY, G. K.; RAHMAN, A.; BINDER, B. M. Auxin and ethylene: collaborators or competitors? **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 4, p. 181-195, 2012. <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.001>>.

NOVOTNY, J. A.; PETERSON, C.A. Molybdenum. **Advances in Nutrition**, v. 9, n. 3, p. 272-273, 2018. <<https://doi.org/10.1093/advances/nmx001>>.

OLIVEIRA, E. C. A.; GAVA, C. J. C.; TRIVELIN, P. C. O. ; OTTO, R. ; FRANCO, H. C. J. Determining a critical nitrogen dilution curve for sugarcane. **JOURNAL OF PLANT NUTRITION AND SOIL SCIENCE**, v. 176, p. 712-723, 2013.

OLIVEIRA, A. R. de; SIMÕES, W. L. Cultivares de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas em condições irrigadas no semiárido brasileiro. **Revista Energia na Agricultura**. Botucatu, vol. 31, n. 2, p. 154-161, 2016. <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/147058/1/Energ.-Agric.2016.pdf>>.

OLIVEIRA, R. I.; MEDEIROS, M. F. R.; A.; FREIRE, F. J.; OLIVEIRA, E. C. A. Nutrient partitioning and nutritional requirement in sugarcane. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 1, p. 69-75, 2016. <[https://www.cropj.com/freire\\_10\\_1\\_2016\\_69\\_75.pdf](https://www.cropj.com/freire_10_1_2016_69_75.pdf)>.

OHNISHI, T.; OHNISHI, S. T.; SALERNO, J. C. Five decades of research on mitochondrial NADH-quinone oxidoreductase (complex I). **Biological Chemistry**, v. 399, n. 11, p. 1249-1264, 2018. <<https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0164>>.

OUTLOOK GLOBAL FERT. In: **1º Reporte anual do mercado de fertilizantes – 2020**. Tecnologia e inovações em cana, p. 25-34, 2020. <<https://globalfert.com.br/pdf/outlook-globalfert-2020.pdf>>.

PAN, X.; CAO, D.; XIE, F.; XU, F.; SU1, X.; MI, H.; ZHANG, X.; MEI LI, M. Structural basis for electron transport mechanism of complex I-like photosynthetic NAD(P)H dehydrogenase. **Nat Commun**, v. 11, n. 610, 2020. <<https://doi.org/10.1038/s41467-020-14456-0>>.

PENG, X.; YU, D.; YAN, J.; ZHANG, N.; LIN, J.; WANG, J. Physiological and Proteomic Analyses Reveal Adaptive Mechanisms of Ryegrass (Annual vs. Perennial) Seedlings to Salt Stress. **Agronomy**, v. 9, p. 843, 2019. <<https://doi.org/10.3390/agronomy9120843>>.

PERCHLIK, M.; TEGEDER, M. Improving Photosynthetic and Plant Nitrogen Use. **Plant Physiology**, p.597, 2018; <DOI: 10.1104/pp.18.00597>.

PIROVANI, C. P.; CARVALHO, H. A. S.; MACHADO, R. C. R.; GOMES, D. S.; ALVIM, F. C.; POMELLA, A. W. V.; GRAMACHO, K. P.; CASCARDO, J. C. DE M.; PEREIRA, G. A. G.; MICHELI, F. Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems, organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the witches' broom disease. **Electrophoresis**, v. 29, n. 11, p. 2391-2401, 2008. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18435495/>>.

PRADO JÚNIOR, J. P. Q. **Qualidade e produtividade da cana-de-açúcar inoculada com *gluconacetobacter diazotrophicus* e adubada com nitrogênio mineral e orgânico**. 2008. 49f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2008.

RIDESA - Rede Interuniversitária para o desenvolvimento do Setor Sucroenergético. Censo varietal Brasil 2016/17. Disponível em: <<https://www.ridesa.com.br/censo-varietal>>. Acesso em 30 de outubro de 2018.

RYAN, A.; KAPLAN, E.; NEBEL, J. C.; POLYCARPOU, E.; CRESCENTE V.; LOWE, E.; PRESTON, G. M.; SIM, E. Identification of NAD(P)H Quinone Oxidoreductase Activity in Azoreductases from *P. aeruginosa*: Azoreductases and NAD(P)H Quinone Oxidoreductases Belong to the Same FMN-Dependent Superfamily of Enzymes. **PLOS ONE**, v. 9, n. 6, p. 1-10, 2014. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098551>>.

SAHID, S.; ROY, C.; PAUL, S.; DATTA, R. Rice lectin protein r40c1 imparts drought tolerance by modulating S-adenosylmethionine synthase 2, stress-associated protein 8 and chromatin-associated proteins. *Journal of Experimental Botany*, v. 71, n. 22, p. 7331–7346, 2020. <<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa400>>.

SALVATO, F.; WILSON, R.; LLERENA, J. P. P.; KIYOTA, E.; REIS, K. L.; BOARETTO, L. F.; BALBUENA, T. S.; AZEVEDO, R. A.; THELEN, J. J.; MAZZAFERA, P. Luxurious Nitrogen Fertilization of Two Sugar Cane Genotypes Contrasting for Lignin Composition Causes Changes in the Stem Proteome Related to Carbon, Nitrogen, and Oxidant Metabolism but Does Not Alter Lignin Content **Journal of Proteome Research**, v. 16, n. 10, p. 3688-3703, 2017. <DOI: 10.1021 / acs.jproteome.7b00397>.

SANTOS, C. L. R; CAZETTA, J. O.; SARAN, L. M.; SANCHES, A. Otimização da análise da atividade da redutase do nitrato e sua caracterização em folhas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 384-394, 2014. <<https://doi.org/10.1590/s0100-204x2014000500008>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; FREIRE, M. B. G. dos S.; WEST, J. B.; BARBOSA, J. de A.; MOURA, M. J. A. de; BEZERRA, P. da C. Nitrate Reductase Activity and Nitrogen and Biomass Accumulation in Sugarcane under Molybdenum and Nitrogen Fertilization. **REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO**, v. 43, p. 1-19, 2019a. <<https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v43/1806-9657-rbcs-43-e0180171.pdf>>.

SANTOS, R. L. dos; FREIRE, F. J.; DE OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O.; FREIRE, M. B. G. dos S.; BEZERRA, P. da C.; OLIVEIRA, R. I. de; SANTOS, M. B. da C. Changes in Biological Nitrogen Fixation and Natural-Abundance N Isotopes of Sugarcane Under Molybdenum Fertilization. **SUGAR TECH**, v. 21, p. 1-11, 2019b. <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12355-019-00717-w>>.

SANTOS, I. B. dos; PARK, S. Versatility of Cyclophilins in Plant Growth and Survival: A Case Study in *Arabidopsis*. **Biomolecules**, v. 9, n. 20, p. 1-14, 2019. <<https://doi.org/10.3390/biom9010020>>.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F. de; Silva, J. A. da; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JÚNIOR, J. de B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 47, n. 2, p. 261-268. Brasília, 2012. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v47n2/v47n2a15.pdf>>.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. S. Produtividade e diluição isotópica de <sup>15</sup>N em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 51, n. 9, p. 1594-1601, 2016. <<https://www.scielo.br/pdf/pab/v51n9/0100-204X-pab-51-09-1594.pdf>>.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springer Plus**, v. 2, p. 587, 2013. <<https://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/2193-1801-2-587>>.

SHIGENO, Y.; UCHIUMI, T.; NOMURA, T. Involvement of ribosomal protein L6 in assembly of functional 50S ribosomal subunit in *Escherichia coli* cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 473, v. 1, p. 237-242, 2016. <<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.085>>.

SILVA, M. A. da. **Bactérias diazotróficas e adubação molíbdica na contribuição da fixação biológica de N<sub>2</sub> em cana planta**. 2016. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

SILVA, M. A. da. **Adubação molíbdica e Bactérias promotoras de crescimento na nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar**. 2020. 232f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife, 2020.

SIKDAR, M. S. I.; KIM, J. S. Isolation of a gene encoding 3-isopropylmalate dehydrogenase from rice. **Russ J Plant Physiol**, v. 58, p. 190–196, 2011. <<https://doi.org/10.1134/S1021443711010183>>.

SNEL, B.; LEHMANN, G.; BORK, P.; HUYNEN, M. A. STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 18, p. 3442-3444, 2000. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC110752/>>.

TALUÉ, C.; MAREQUE, C.; BARLOCCO, C.; HACKEMBRUCH, F.; REIS, V. M.; SICARDI, M.; BATTISTONI, F. The contribution of nitrogen fixation to sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), and the identification and characterization of part of the associated diazotrophic bacterial community. **Plant and Soil**, p. 35–49, 2012. <<https://doi.org/10.1007/s11104-011-1023-4>>.

TEJADA-JIMENEZ, M.; CHAMIZO-AMPUDIA, A.; CALATRAVA, V.; GALVAN, A.; FERNANDEZ, E.; LLAMAS, A. From the Eukaryotic Molybdenum Cofactor Biosynthesis to the Moonlighting Enzyme mARC. **Molecules**, v. 23, n. 12 p. 1-18, 2018. <<https://doi.org/10.3390/molecules23123287>>.

TRIVELIN, P. C. O.; FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FERREIRA, D. A.; VITTI, A. C.; FORTES, C.; FARONI, C. E.; OLIVEIRA, E. C. A.; CANTARELLA, H. Impact of sugarcane trash on fertilizer requirements for São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 5, p. 345-352, 2013. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162013000500009>>.

VOGEL, C.; MARCOTTE, E. M. Insights into the regulation of protein abundance from proteomic and transcriptomic analyses. **Nature reviews genetics**, v. 13, n. 4, p. 227-232, 2012. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22411467/>>.

YAMASAKI, K.; KIGAWA, T.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YOKOYAMA, S. DNA-binding domains of plant-specific transcription factors: structure, function, and evolution, **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 267-276, 2013. <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.09.001>>.

XU, Z.; MA, J.; QU, C.; HU, Y.; HAO, B.; SUN, Y.; LIU, Z.; YANG, H.; YANG, C.; WANG, H.; LI, Y.; LIU, G. Identification and expression analyses of the alanine aminotransferase (AlaAT) gene family in poplar seedlings. **Scientific Reports**, v. 7, n. 45933, 2017. <<https://doi.org/10.1038/srep45933>>.

WANG, W.; SCALI, M.; VIGNANI, R.; SPADAFORA, A.; SENSI, E.; MAZZUCA, S.; CRESTI, M. Protein extraction for two-dimensional electrophoresis from olive leaf, a plant tissue containing high levels of interfering compounds. **Electrophoresis**, v. 24, n. 14, p. 2369-2375, 2003. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12874872/>>.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A interação N\*Mo\*Bac não influenciou no desenvolvimento e produtividade da cana soca para as duas variedades;
- Na fase inicial de desenvolvimento os benefícios da aplicação de N em plantas de cana soca assemelham-se a adubação molíbdica, indicando que no início do ciclo, as duas variedades são responsivas ao Mo, pelo aumento na eficiência fotossintética e produção de hormônios vegetais, com maior desenvolvimento da parte aérea e radicular da cana soca;
- Na pré-colheita apenas a variedade RB92579 continua respondendo a aplicação do Mo, promovendo no maior desenvolvimento das plantas;
- A inoculação com *Stenotrophomonas* sp. na RB92579 aumentou o crescimento das plantas no início do ciclo, porém não contribuiu na fase final de desenvolvimentos das plantas;
- Para RB867515 o N\*Bac promoveu o maior gasto de energia na planta pela respiração e inibiu as proteínas relacionadas à fotossíntese, havendo um desequilíbrio na relação fotossíntese/respiração que por consequência ocasionou a redução no desenvolvimento da parte aérea da cana soca;
- Na colheita foi identificado resposta apenas para aplicação de N isolado nas duas variedades, indicando que no final do ciclo as plantas de cana soca respondem apenas a N, atribuindo maior qualidade e produtividade da cultura.

## APÊNDICE A – Preparo do inoculante e aplicação no campo

Colônias do inoculante foram transferidos para 1 L de meio líquido TSA á pH 7,3 e mantido sob agitação constante por 11 horas para multiplicação do inoculante. No campo, o inoculante foi diluído em água na proporção 1:100 e aplicado na soqueira aos 20 e 60 DAC, utilizando pulverizador costal com jato direcionado a base da soqueira, aplicando cerca de 15 mL m<sup>-1</sup> do inoculante.

A diluição do inoculante em água ocorreu ás 6:30 da manhã, sendo aplicado em seguida. As aplicações do inoculante encerraram ás 8:30 da manhã. A água utilizada para diluição do inoculante em campo foi proveniente do açude situado na Usina Miriri Alimentos e Bioenergia S/A.

**Figura 5** – Repicagem da bactéria *Stenotrophomonas* sp. (UAFG 869) da placa de Petri para o meio líquido TSA (A). Diluição da solução bacteriana em meio líquido e aplicação na cana soca (B).

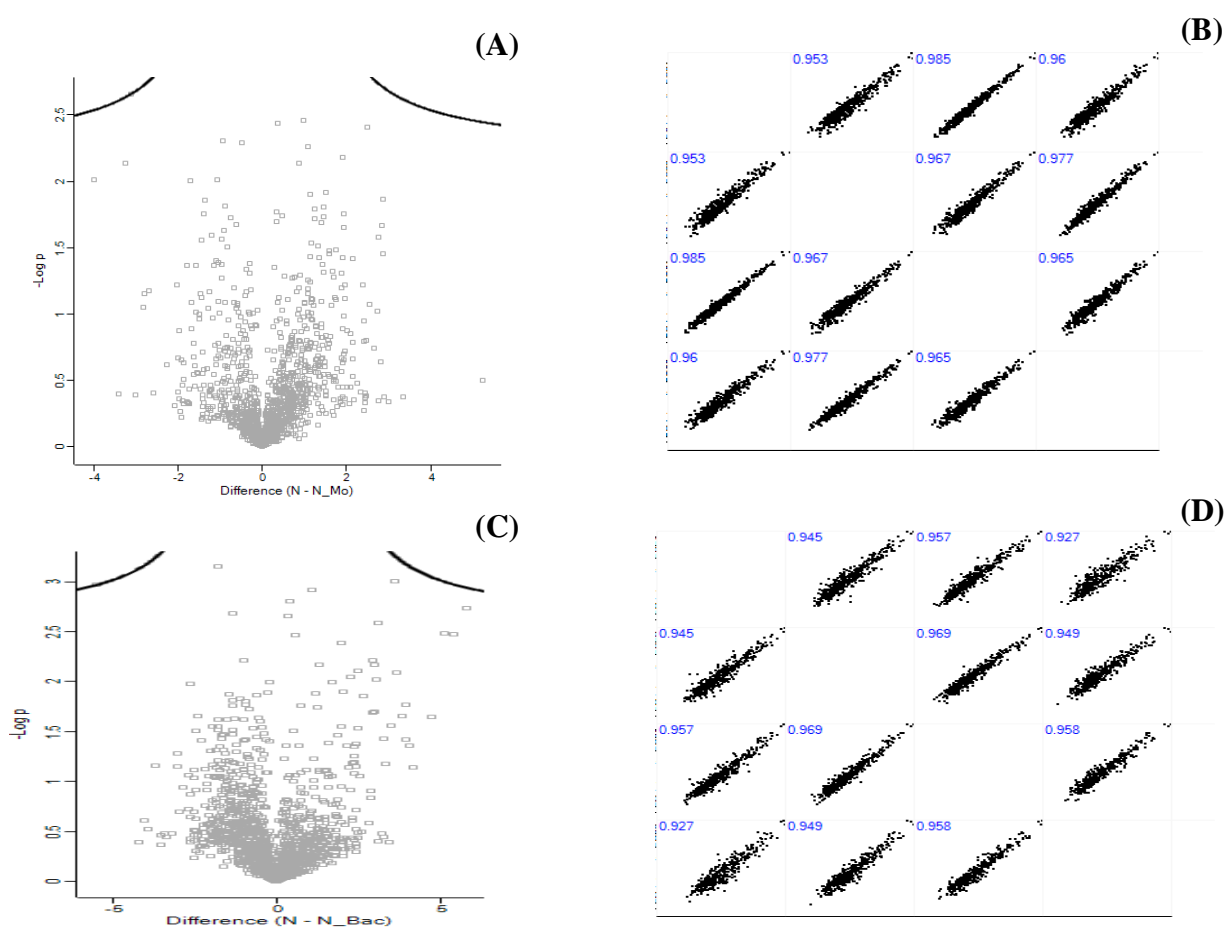




## APÊNDICE B – Análise estatística das proteínas

Análise estatística das proteínas obtidas por meio de espectrometria de massas em larga escala (LC-MS-Orbitrap) para as variedades de cana soca RB92579 e RB867515. No gráfico Volcano-plot é expresso as distribuição das proteínas acumuladas nos tratamentos analisados, diferença menor que zero expressão as proteínas com aplicação de N e diferenças acima de zero expressão proteínas acumuladas em N+Mo (Figura 5A) e em N+Bac (Figura 5C).

No gráfico Scatter plot com Correlação de Pearson é apresentado à distribuição normal das proteínas em ambos os tratamentos nas duas variedades, indicando que os dados estavam normais e não precisaram ser transformados (Figura 5B e 5D).



**Figura 6** – Análise estatística das proteínas obtidas por meio de espectrometria de massas em larga escala (LC-MS-Orbitrap), identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio. A: Volcano-plot Grafico; B: Scatter plot com Correlação de Pearson. Identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculada com *Stenotrophomonas* sp. C: Volcano-plot; D: Scatter plot com Correlação de Pearson, demonstrado a distribuição normal em ambos os tratamentos.



**APÊNDICE C –** Protínas exclusivas em N e N+Mo em cana-de-açúcar

**Tabela 3 –** Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio.

| ID             | Name   | Mol. weight [kDa] | Score  | MS/MS count |
|----------------|--|-------------------|--------|-------------|
| NP_001131332.1 | Uncharacterized protein LOC100192648 precursor [Zea mays]                        | 32.211            | 6.3331 | 8           |
| NP_001144860.1 | Uncharacterized protein LOC100277950 [Zea mays]                                  | 28.33             | 12.76  | 10          |
| NP_001241730.1 | Thioredoxin H-type 5 [Zea mays]  | 14.622            | 10.902 | 3           |
| XP_002439991.1 | 60S ribosomal protein L30 [Sorghum bicolor]                                      | 12.35             | 7.2474 | 4           |
| NP_001292743.1 | Formate--tetrahydrofolate ligase [Zea mays]                                      | 78.484            | 13.186 | 5           |
| XP_021304488.1 | Probable cinnamyl alcohol dehydrogenase 1 isoform X2 [Sorghum bicolor]           | 36.523            | 11.43  | 1           |
| XP_002440799.1 | Protein trichome birefringence-like 26 [Sorghum bicolor]                         | 47.356            | 6.3083 | 1           |
| XP_002446195.1 | Prostaglandin E synthase 2 [Sorghum bicolor]                                     | 36.041            | 11.851 | 2           |
| XP_002463871.1 | Protein STRICTOSIDINE SYNTHASE-LIKE 3 [Sorghum bicolor]                          | 44.273            | 18.507 | 4           |
| XP_002465092.1 | 3-oxo-Delta(4,5)-steroid 5-beta-reductase [Sorghum bicolor]                      | 44.053            | 11.548 | 3           |
| XP_002465750.1 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit K [Sorghum bicolor]           | 25.805            | 12.236 | 6           |
| XP_021306956.1 | Uncharacterized protein LOC8059499 isoform X2 [Sorghum bicolor]                  | 30.524            | 6.736  | 1           |
| XP_021310067.1 | 40S ribosomal protein Sa-2-like [Sorghum bicolor]                                | 33.009            | 7.6414 | 3           |
| NP_001104970.1 | Stomatin 1 [Zea mays]  | 43.277            | 11.513 | 5           |
| NP_001142303.1 | Uncharacterized protein LOC100274472 [Zea mays]                                  | 49.307            | 37.911 | 26          |
| NP_001142341.1 | Uncharacterized protein LOC100274511 [Zea mays]                                  | 25.738            | 11.33  | 2           |
| XP_002438204.1 | Protein CURVATURE THYLAKOID 1A, chloroplastic [Sorghum bicolor]                  | 15.921            | 6.3448 | 1           |
| YP_003208254.1 | NADH-plastoquinone oxidoreductase subunit 1 (chloroplast) [Coix lacryma-jobi]    | 33.785            | 17.354 | 6           |
| XP_002437210.1 | Dehydrogenase/reductase SDR family member 12 [Sorghum bicolor]                   | 35.391            | 7.4089 | 1           |
| XP_002437554.1 | Leucine-rich repeat extensin-like protein 4 [Sorghum bicolor]                    | 72.073            | 7.7214 | 2           |
| XP_002445975.1 | NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit S, chloroplastic [Sorghum bicolor]        | 26.066            | 14.706 | 12          |
| XP_021310584.1 | Uncharacterized protein LOC8072259 [Sorghum bicolor]                             | 102.11            | 11.516 | 2           |
| XP_008649359.1 | NAD(P)H dehydrogenase (quinone) FQR1 [Zea mays]                                  | 22.001            | 6.3035 | 1           |
| XP_002466924.1 | Uncharacterized protein LOC8065677 [Sorghum bicolor]                             | 33.943            | 7.6666 | 2           |
| XP_021308149.1 | Uncharacterized protein LOC110432319 [Sorghum bicolor]                           | 27.547            | 14.143 | 12          |
| XP_021306561.1 | 26S proteasome non-atpase regulatory subunit 13 homolog B-like [Sorghum bicolor] | 43.813            | 13.432 | 14          |

**Tabela 4** – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB92579 suplementadas com Nitrogênio e Molibdênio

| ID             | Names   | Mol. weight [kDa] | Score  | MS/MS count |
|----------------|---|-------------------|--------|-------------|
| XP_002436730.1 | annexin D7 [Sorghum bicolor]  | 35.46             | 6.5019 | 5           |
| XP_008677271.1 | uncharacterized protein LOC100282819 isoform X1 [Zea mays]                    | 11.028            | 7.1112 | 5           |
| XP_021307236.1 | translin isoform X2 [Sorghum bicolor]   | 24.05             | 6.4092 | 1           |
| XP_002468105.1 | oxysterol-binding protein-related protein 3A [Sorghum bicolor]                | 51.97             | 6.2994 | 8           |
| NP_001151850.1 | uncharacterized protein LOC100285485 [Zea mays]                               | 26.938            | 7.7711 | 12          |
| NP_001167650.1 | DNA-binding protein MNB1B [Zea mays]  | 17.146            | 6.5811 | 6           |
| XP_002437514.1 | peroxidase 45 [Sorghum bicolor]   | 34.212            | 13.236 | 1           |
| XP_002443442.1 | aspartic proteinase nepenthesin-1 [Sorghum bicolor]                           | 46.508            | 6.2784 | 3           |
| XP_002443655.2 | uncharacterized protein LOC8071538 [Sorghum bicolor]                          | 75.085            | 6.3899 | 5           |
| XP_002457647.1 | pyruvate kinase, cytosolic isozyme [Sorghum bicolor]                          | 54.869            | 10.949 | 2           |
| XP_002463996.1 | uncharacterized protein LOC8062905 isoform X1 [Sorghum bicolor]               | 23.947            | 6.9719 | 1           |
| XP_002464277.1 | lysine--tRNA ligase [Sorghum bicolor]   | 69.212            | 6.8836 | 1           |
| XP_021307525.1 | serine carboxypeptidase-like 51 [Sorghum bicolor]                             | 49.741            | 11.105 | 5           |
| XP_021311782.1 | uncharacterized protein LOC8085061 [Sorghum bicolor]                          | 83.846            | 6.3097 | 2           |
| XP_002439291.1 | bifunctional protein FOLD 2 [Sorghum bicolor]                                 | 30.746            | 14.525 | 13          |
| XP_021311553.1 | hydroxycinnamoyltransferase 4 isoform X2 [Sorghum bicolor]                    | 42.868            | 6.7393 | 7           |
| NP_001158962.1 | O-methyltransferase ZRP4 [Zea mays]   | 40.542            | 7.2428 | 3           |
| XP_002437889.1 | uncharacterized protein LOC8071378 [Sorghum bicolor]                          | 57.657            | 6.5267 | 2           |
| XP_002445752.1 | protein MATERNALLY EXPRESSED GENE 5 [Sorghum bicolor]                         | 21.742            | 10.896 | 4           |
| XP_002458773.1 | alpha-glucan phosphorylase, H isozyme [Sorghum bicolor]                       | 94.538            | 6.5824 | 10          |
| XP_002463656.1 | methylenetetrahydrofolate reductase 1 [Sorghum bicolor]                       | 66.34             | 23.134 | 4           |
| XP_008675201.1 | uncharacterized abhydrolase domain-containing protein DDB_G0269086 [Zea mays] | 26.475            | 13.375 | 11          |
| XP_021301852.1 | isoflavone reductase homolog [Sorghum bicolor]                                | 34.93             | 6.5483 | 3           |

**APÊNDICE D** – Protínas exclusivas em N e N+Bac em cana-de-açúcar

**Tabela 5** – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio.

| Protein IDs    | Protein Name  | Mol. weight [kDa] | Score  | MS/MS count |
|----------------|---|-------------------|--------|-------------|
| NP_001104889.1 | soluble inorganic pyrophosphatase [Zea mays]  | 24.37             | 7.4564 | 24          |
| XP_008670961.1 | 40S ribosomal protein S15 [Zea mays]  | 17.241            | 6.4882 | 24          |
| NP_001145906.1 | FIP1 [Zea mays]   | 26.371            | 9.4555 | 18          |
| XP_008672899.1 | reticulon-4-interacting protein 1 isoform X1 [Zea mays]                               | 37.073            | 20.939 | 17          |
| XP_002459385.2 | small nuclear ribonucleoprotein-associated protein N [Sorghum bicolor]                | 27.591            | 7.5055 | 15          |
| XP_002458182.1 | uroporphyrinogen decarboxylase 1, chloroplastic [Sorghum bicolor]                     | 44.429            | 6.6643 | 14          |
| XP_002465765.1 | uncharacterized protein LOC8082025 [Sorghum bicolor]                                  | 25.605            | 14.083 | 13          |
| XP_002463507.1 | probable histone H2A.5 [Sorghum bicolor]  | 16.173            | 9.0828 | 13          |
| XP_002467937.1 | mitochondrial import receptor subunit TOM40-1 [Sorghum bicolor]                       | 36.863            | 8.503  | 10          |
| XP_021314403.1 | 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 homolog A isoform X2 [Sorghum bicolor] | 96.948            | 13.114 | 9           |
| XP_002456232.1 | glycylpeptide N-tetradecanoyltransferase 1 [Sorghum bicolor]                          | 49.225            | 28.552 | 6           |
| XP_002450023.1 | ATP-citrate synthase alpha chain protein 2 [Sorghum bicolor]                          | 46.771            | 13.412 | 6           |
| XP_002453876.1 | leucine aminopeptidase 2, chloroplastic [Sorghum bicolor]                             | 56.515            | 6.8256 | 6           |
| XP_008667190.1 | uncharacterized protein LOC100193568 isoform X1 [Zea mays]                            | 9.9264            | 12.141 | 5           |
| NP_043035.1    | photosystem I assembly protein Ycf4 (chloroplast) [Zea mays]                          | 21.608            | 11.844 | 5           |
| XP_002466214.1 | 40S ribosomal protein S26 [Sorghum bicolor]   | 14.817            | 11.662 | 4           |
| XP_021320460.1 | monodehydroascorbate reductase 5, mitochondrial isoform X3 [Sorghum bicolor]          | 53.146            | 11.429 | 4           |
| XP_002456631.1 | probable mannose-1-phosphate guanylyltransferase 3 [Sorghum bicolor]                  | 39.646            | 12.188 | 3           |
| XP_021311031.1 | peroxisomal fatty acid beta-oxidation multifunctional protein MFP2 [Sorghum bicolor]  | 79.012            | 12.135 | 3           |
| XP_002446674.1 | uncharacterized protein LOC8058728 [Sorghum bicolor]                                  | 60.948            | 12.125 | 3           |
| XP_002456633.1 | aldo-keto reductase family 4 member C10 [Sorghum bicolor]                             | 34.496            | 11.508 | 3           |
| XP_002445207.1 | probable gamma-aminobutyrate transaminase 3, mitochondrial [Sorghum bicolor]          | 55.874            | 11.41  | 3           |
| NP_001300723.1 | uncharacterized protein LOC100280970 precursor [Zea mays]                             | 45.157            | 6.9583 | 3           |
| XP_021317136.1 | L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase 2, mitochondrial [Sorghum bicolor]              | 65.786            | 11.889 | 2           |

|                       |  |        |        |   |
|-----------------------|--|--------|--------|---|
| <b>XP_002461700.1</b> | uncharacterized aarF domain-containing protein kinase At5g05200, chloroplastic [Sorghum bicolor] | 61.76  | 10.89  | 2 |
| <b>NP_001143083.1</b> | uncharacterized protein LOC100275557 [Zea mays]  | 64.816 | 10.717 | 2 |
| <b>YP_009384645.1</b> | ribosomal protein S14 (chloroplast) [Arthroxon lanceolatus]                                      | 12.011 | 7.6808 | 2 |
| <b>NP_001131453.1</b> | uncharacterized protein LOC100192788 [Zea mays]  | 33.815 | 7.4731 | 2 |
| <b>XP_021317106.1</b> | uncharacterized protein LOC8085629 [Sorghum bicolor]   | 45.55  | 7.1745 | 2 |
| <b>XP_021320695.1</b> | aminopeptidase M1-B [Sorghum bicolor]  | 98.364 | 6.3671 | 2 |
| <b>XP_021304989.1</b> | soluble starch synthase 1, chloroplastic/amyloplastic [Sorghum bicolor]                          | 71.08  | 6.3367 | 2 |
| <b>XP_002445989.2</b> | dicarboxylate transporter 2.1, chloroplastic [Sorghum bicolor]                                   | 55.562 | 6.3338 | 2 |
| <b>NP_001150033.1</b> | prefoldin subunit 3 [Zea mays]   | 20.964 | 10.686 | 1 |
| <b>XP_021307883.1</b> | glucan endo-1,3-beta-glucosidase 3-like [Sorghum bicolor]  | 59.193 | 8.5823 | 1 |
| <b>XP_002445613.1</b> | activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1 [Sorghum bicolor]                        | 39.287 | 7.768  | 1 |
| <b>XP_002460824.1</b> | probable histone H2A.2 [Sorghum bicolor]   | 13.949 | 7.6555 | 1 |
| <b>NP_001141925.1</b> | uncharacterized protein LOC100274074 [Zea mays]  | 49.797 | 7.5009 | 1 |
| <b>XP_008646039.1</b> | tripeptidyl-peptidase 2 isoform X2 [Zea mays]  | 143.21 | 7.4566 | 1 |
| <b>XP_002461661.1</b> | uncharacterized protein LOC8063690 [Sorghum bicolor]   | 32.325 | 7.0696 | 1 |
| <b>XP_008647616.1</b> | uncharacterized protein LOC100274559 isoform X1 [Zea mays]                                       | 40.734 | 7.0694 | 1 |
| <b>XP_002449257.1</b> | chitinase 2 [Sorghum bicolor]  | 31.095 | 6.5162 | 1 |
| <b>XP_008669094.1</b> | uncharacterized protein LOC100191638 isoform X1 [Zea mays]                                       | 35.274 | 6.4875 | 1 |
| <b>XP_002437339.1</b> | ER membrane protein complex subunit 7 homolog [Sorghum bicolor]                                  | 22.51  | 6.4392 | 1 |
| <b>NP_001105894.1</b> | luminal-binding protein 3 precursor [Zea mays]   | 73.156 | 6.413  | 1 |
| <b>XP_021305784.1</b> | uncharacterized protein LOC110431244 isoform X2 [Sorghum bicolor]                                | 70.812 | 6.2928 | 1 |
| <b>XP_008646114.1</b> | protein NRT1/ PTR FAMILY 8.3 [Zea mays]  | 62.58  | 10.902 | 0 |

**Tabela 6** – Proteínas exclusivas identificadas na variedade de cana-de-açúcar RB867515 suplementadas com Nitrogênio e inoculadas com Bacteria *Stenotrophomonas* sp.

| Protein IDs    | Protein Name  | Mol. weight [kDa] | Score  | MS/MS count |
|----------------|---|-------------------|--------|-------------|
| XP_002448996.1 | 2-carboxy-D-arabinitol-1-phosphatase [Sorghum bicolor]  | 54.711            | 7.013  | 2           |
| XP_002447235.1 | 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase, chloroplastic [Sorghum bicolor]                      | 22.27             | 18.099 | 9           |
| XP_002454448.1 | acetylornithine deacetylase [Sorghum bicolor]   | 49.186            | 11.866 | 10          |
| XP_021301723.1 | achilleol B synthase isoform X7 [Sorghum bicolor]   | 73.087            | 7.0537 | 3           |
| XP_002463796.1 | actin-depolymerizing factor 2 [Sorghum bicolor]   | 16.818            | 8.9338 | 25          |
| XP_002453729.1 | cinnamoyl-CoA reductase 1 [Sorghum bicolor]   | 36.694            | 6.606  | 5           |
| XP_008662007.1 | electron transfer flavoprotein beta-subunit isoform X1 [Zea mays]                             | 16.413            | 12.632 | 5           |
| NP_001183775.1 | evolutionarily conserved C-terminal region 5 precursor [Zea mays]                             | 50.19             | 6.6342 | 2           |
| NP_001140837.2 | fructose-bisphosphate aldolase cytoplasmic isozyme [Zea mays]                                 | 38.459            | 12.513 | 3           |
| NP_001105572.1 | glycine-rich RNA binding protein [Zea mays]   | 14.728            | 10.473 | 53          |
| XP_021302002.1 | heat shock protein 90-6, mitochondrial [Sorghum bicolor]                                      | 90.609            | 11.704 | 1           |
| XP_021302826.1 | hypersensitive-induced response protein-like protein 1 isoform X1 [Sorghum bicolor]           | 31.505            | 12.161 | 5           |
| XP_008669573.1 | importin subunit alpha-1b [Zea mays]  | 10.614            | 8.2731 | 8           |
| XP_021309564.1 | leucine-rich repeat receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g17230 [Sorghum bicolor] | 120.03            | 7.438  | 0           |
| NP_001150108.1 | OB-fold nucleic acid binding domain containing protein [Zea mays]                             | 18.077            | 6.3664 | 6           |
| XP_021319896.1 | probable adenylate kinase 5, chloroplastic isoform X7 [Sorghum bicolor]                       | 55.093            | 6.8152 | 4           |
| XP_021305594.1 | probable alpha-glucosidase Os06g0675700 [Sorghum bicolor]                                     | 101               | 19.388 | 8           |
| XP_002453042.1 | probable voltage-gated potassium channel subunit beta [Sorghum bicolor]                       | 36.461            | 12.361 | 14          |
| XP_021320920.1 | proline--tRNA ligase, cytoplasmic isoform X2 [Sorghum bicolor]                                | 50.293            | 6.4952 | 1           |
| NP_001132561.1 | putative translation elongation/initiation factor family protein [Zea mays]                   | 48.403            | 6.2967 | 1           |
| NP_001148149.1 | retinoid-inducible serine carboxypeptidase precursor [Zea mays]                               | 50.052            | 12.296 | 16          |
| NP_001147034.1 | ribose-phosphate pyrophosphokinase 4 [Zea mays]   | 36.165            | 7.0058 | 9           |
| YP_899409.1    | ribosomal protein S4 (chloroplast) [Sorghum bicolor]  | 23.462            | 6.7351 | 19          |
| XP_002455783.1 | ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 6 [Sorghum bicolor]                                     | 53.52             | 6.7786 | 4           |
| NP_001141566.1 | uncharacterized LOC100273682 [Zea mays]   | 53.864            | 19.193 | 10          |
| NP_001141220.1 | uncharacterized protein LOC100273307 [Zea mays]   | 48.658            | 10.792 | 1           |
| XP_008675758.1 | uncharacterized protein LOC100281949 isoform X1 [Zea mays]                                    | 44.105            | 8.2503 | 20          |
| XP_008658604.1 | uncharacterized protein LOC100282489  | 72.303            | 8.4    | 2           |

| isoform X3 [Zea mays] |  |        |        |   |
|-----------------------|--|--------|--------|---|
| <b>NP_001149389.1</b> | uncharacterized protein LOC100283015 [Zea mays]            | 48.111 | 12.037 | 2 |
| <b>XP_008655336.1</b> | uncharacterized protein LOC100384654 isoform X1 [Zea mays] | 48.421 | 6.7139 | 2 |
| <b>XP_002460208.1</b> | uncharacterized protein LOC8060246 [Sorghum bicolor]       | 39.733 | 7.7863 | 8 |