

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PATRICIA KARLA BATISTA DE ANDRADE

**BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM CANA-DE-AÇÚCAR E NA DECOMPOSIÇÃO DE
RESÍDUOS ORGÂNICOS DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA**

RECIFE

2017

Patrícia Karla Batista de Andrade

Engenheira Agrônoma

Bactérias diazotróficas na fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar e na decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação Ciências do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Agronomia - Ciências do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Freire

Co-orientadores: Prof. Dr. Djalma Euzébio Simões Neto

Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira

RECIFE

2017

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 (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A553b Andrade, Patrícia Karla Batista de
Bactérias diazotróficas na fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar e na decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira / Patrícia Karla Batista de Andrade. – 2017.
165 f. : il.

Orientador: Fernando José Freire.

Coorientadores: Djalma Euzébio Simões Neto, Emídio Cantídio Almeida de Oliveira.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Solo, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Nutrição nitrogenada 2. Nitrogenase 3. FBN 4. Taxa de decomposição de resíduos 5. Relação C/N 6. Cana-de-açúcar I. Freire, Fernando José, orient. II. Simões Neto, Djalma Euzébio, coorient. III. Oliveira, Emídio Cantídio Almeida de, coorient. IV. Título

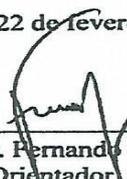
CDD 631.4

PATRÍCIA KARLA BATISTA DE ANDRADE

Bactérias diazotróficas na fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar e na decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira

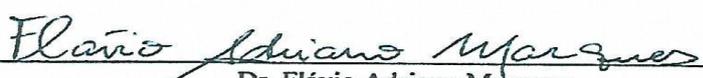
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Agronomia - Ciências do Solo.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2017

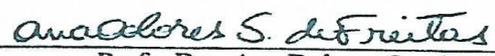

Prof. Dr. Fernando José Freire
Orientador

Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA


Dr. Flávio Adriano Marques

Embrapa Solos UEP Recife

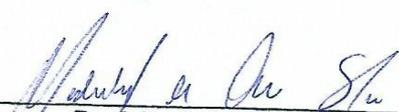

Profa. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Alexandre Tavares da Rocha

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns



Prof. Dr. Michelangelo de Oliveira Silva

Instituto Federal de Alagoas, Campus Piranhas

*“Solta o cabo da nau, toma os remos nas mãos e navega com fé em Jesus.
E então tu verás, que bonança se faz, pois com Ele seguro serás.”*

(Hino Harpa Cristã)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais que não mediram esforços em me auxiliar, participando de todas as etapas para a confecção e execução deste sonho, aos meus irmãos por sempre me encorajarem a seguir em frente e não parar sob nenhuma circunstância, a minha cunhada pelo carinho, aos amigos de curso e de laboratório e a todos que colaboraram direta e indiretamente com este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sua misericordiosa bondade, sempre cuidar de mim, não deixando que me abatesse nos momentos mais difíceis e me acalentando nos momentos mais felizes.

Aos meus pais Hercy Batista e José Félix que sempre souberam ter paciência em me entender e ajudaram em tudo, tudo mesmo, colocando a mão na massa, desde a confecção das *litter bags* até o auxílio com as avaliações em campo. Por nunca medirem esforços para dizer com o maior orgulho que formaram três filhos engenheiros.

Aos meus irmãos José Félix Júnior e Hercylio Félix por sempre me apoiar, atender minhas ligações na madrugada para tirar dúvidas e por simplesmente fazerem parte da minha vida. Amo vocês.

A minha cunhada Ângela e meu sobrinho Henrique, por me fazerem sorrir mais facilmente e me encham de muito carinho.

A toda a minha família que mesmo distante, sempre acreditaram no meu potencial.

Ao meu orientador, professor Fernando José Freire por todo o apoio, colaboração e dedicação com este trabalho. Por estar sempre disponível e por tomar cuidado com cada linha que foi escrita para a concretização deste sonho, muito obrigada professor.

Aos meus co-orientadores Djalma Euzébio Simões Neto e Emídio Cantídio Almeida de Oliveira pela colaboração com a confecção da tese e por estarem sempre prontamente disponíveis.

Aos membros da banca examinadora por terem se dedicado em colaborar para um melhor resultado na confecção da tese.

À FACEPE pelo auxílio financeiro a partir da bolsa de estudos fornecida para a conclusão do curso.

Aos meus amigos da turma de pós- graduação em Ciências do Solo Erica, Raquel, Edivan, Igor, Alexandra e Freds. Por cada aula, cada dúvida, cada brincadeira fazendo com que os dias se passassem de maneira mais agradável neste mundo de saber inesgotável.

As minhas amigas que Deus colocou cuidadosamente no meu caminho, com muito carinho Suzana Gomes, Priscila Aquino, Cynthia dos Anjos, Alexandra Andrade, Adelazil Neta, Danubia Lima, Emmanuella Vila Nova, Eliza Rosário, Maria Camila, Monaliza Alves, Clarissa Freire, Stephany Brilhante e Juliet Emilia por estarem sempre presentes, na torcida mesmo por dias de glória.

Aos meus estagiários, sobrinhos, irmãos, enfim, aos meus menininhos Bruno Souza, Jéssica Dionísio, Cláudio Henrique, Fernanda Santos, Priscila, Rayane, Moema e Franciele. Nada disso seria possível sem a ajuda de vocês. Titia ama a todos!!!!

Aos alunos do Instituto Federal de Pernambuco – Campus Vitória de Santo Antão, representados pelo professor Renato Lemos dos Santos que me auxiliaram nas análises de nitrogênio. Muito obrigada.

A todos os colegas do Laboratório de Química do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, especialmente, a Professora Maria Betânia, Manu, Pedro, Gerson, Augusto, Ariane, Elane, João, Valéria, Flávio, Alcione, enfim, todos que estavam ali presentes no dia a dia, lutando contra cada adversidade que surgia no caminho.

Ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFRPE/UAG em nome da professora Julia Sobral por ter cedido às bactérias utilizadas neste trabalho.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo Socorro Santana e Sr. Josué (*in memoriam*) por cada auxílio, cada palavra de carinho e ajuda que vocês me proporcionaram.

A Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina, em nome do professor Djalma Euzébio, pelo apoio nas atividades de campo e desenvolvimento do experimento.

A toda a turma da EECAC, Sr. Josias, Dona Suzana, Kelly, Carpina, Sr. Aduino, Anunciada, Nathalia, Sr. Biu, Marilúcia, Célia, Celina, Sr. Geraldo, Evanilson por cada zelo, cuidado e apoio nas atividades.

Aos funcionários de campo da EECAC, em nome de Danilo e Sr. Vadinho por sempre estarem ali me ajudando a pegar no pesado com a maior leveza do mundo.

As Usinas Santa Teresa, Trapiche e Petribu por terem colaborado com os solos e as análises desta pesquisa.

A Universidade Federal de Pernambuco por ter auxiliado na análise da atividade da nitrogenase.

Ao CENA – USP em nome do professor Paulo Trivelin pela parceria para análise isotópica.

Ao Departamento de Química Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em nome do Prof. Dr. Egídio Bezerra Neto por ter colaborado com o uso do moinho para tratamento das amostras vegetais.

A professora Giselle Fracetto do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo cuidado e atenção prestada nas correções deste trabalho.

Resumindo, agradeço a todos, todos de verdade por mais uma conquista.

Muito Obrigada

Bactérias diazotróficas na fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar e na decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira

RESUMO GERAL

A adubação nitrogenada em cana-de-açúcar no primeiro ciclo de cultivo tem sido muito utilizada para manter adequada a produtividade. Essa fertilização impacta o ambiente e onera os custos de produção da cultura. Assim, é necessário encontrar alternativas para minimizar essa problemática, como a fixação biológica, que se associada a resíduos orgânicos da própria agroindústria canavieira, como a torta de filtro e/ou vinhaça, pode fornecer nitrogênio (N) pela potencialização do resíduo sobre as bactérias sem causar efeito deletério nestas. Estes resíduos são importantes fontes de fósforo e potássio, mas relativamente pobres em N. Por outro lado, precisam ser decompostos, processo de mineralização da matéria orgânica realizado por micro-organismos. Portanto, bactérias diazotróficas podem exercer esse papel de acelerar a decomposição, auxiliando a nutrição da cana-de-açúcar. Assim, o objetivo foi avaliar o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro (TF) no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar em diferentes variedades e estudar a decomposição de resíduos da agroindústria inoculados com essas bactérias em solos de texturas contrastantes. Foi conduzido um experimento com duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579) inoculadas com dois gêneros bacterianos (*Pantoea* sp. e *Stenotrophomonas* sp.) isoladas bem como a mistura destes dois gêneros, e três testemunhas (sem e com nitrogênio e testemunha residual de inoculação na cana planta). Foram realizadas quatro avaliações aos 180, 240, 300 e 360 dias após a rebrota (DAR), onde foi avaliada a atividade da nitrogenase (AN), a contribuição da fixação biológica de N (FBN) pelo método da abundância natural do ^{15}N , os teores de clorofila *a* e *b*, e N na folha diagnóstica, o crescimento vegetativo (diâmetro, altura e número de folhas). Aos 240 DAR foi determinado o estado nutricional e aos 360 DAR foi mensurada a produtividade agrícola e industrial. Outro ensaio foi montado em casa-de-vegetação com oito tratamentos: composto, torta de filtro (TF), (TF + vinhaça), (composto + vinhaça), inoculado e não inoculado com uma mistura das estirpes *Pantoea* sp. e *Stenotrophomonas* sp. nos solos, arenoso e argiloso com quatro repetições. Os resíduos foram acondicionados em *litter bags* e avaliados aos 0, 20, 40, 60, 80 e 100 dias após o início do ensaio. Foram avaliados a constante de decomposição (*k*) da massa remanescente, os teores de N, C e relação C/N dos resíduos. A AN foi influenciada pela inoculação e adição de TF. A FBN contribuiu com 25% do N da cana-de-açúcar, não sendo influenciada pela TF, porém inibida pelo N mineral. A aplicação de TF potencializou a absorção de N, independente da variedade. Favoreceu a pigmentação fotossintética apenas na variedade RB92579. As produtividades das plantas adubadas não se diferenciaram das inoculadas, independente da TF. A *k* diminuiu com o tempo e a decomposição da TF foi intensificada quando combinada com vinhaça e/ou inoculados. A taxa de mineralização do N no início da decomposição dos resíduos foi maior do que a do C, principalmente nos tratamentos com vinhaça e inoculados, incrementando a relação C/N, que só se reduziu na segunda metade do período de decomposição.

Palavras-chave: Nutrição nitrogenada. Nitrogenase. Abundância natural de ^{15}N . Pigmentos fotossintéticos. Taxa de decomposição de resíduos. Relação C/N.

Diazotrophic bacteria in nitrogen biological fixation in sugar cane and decomposition of organic waste of agribusiness of sugar cane

GENERAL ABSTRACT

Nitrogen fertilization in sugarcane in the first crop cycle has been widely used to maintain adequate productivity. This fertilization impacts the environment and costs the production costs of the crop. Thus, it is necessary to find alternatives to minimize this problem, such as biological fixation, which can be associated with organic residues of the sugarcane agribusiness, such filter cake and/or vinasse, can supply nitrogen (N) by potentiating the residue on the bacteria, without deleterious effect on them. These residues are important sources of phosphorus and potassium, but relatively poor in N. Other, they need to be decomposed, a process of mineralization of organic matter by microorganisms. Therefore, diazotrophic bacteria can exert this role of accelerating the decomposition, aiding the nutrition of the sugarcane. The objective of this study was to evaluate the effect of the inoculation of diazotrophic bacteria combined with the application of filter cake (TF) in the second cycle of sugarcane cultivation in different varieties and to study the decomposition of agroindustrial residues inoculated with these bacteria in Solos of contrasting textures. An experiment was conducted with two sugarcane varieties (RB867515 and RB92579) inoculated with two bacterial genera (*Pantoea* sp. and *Stenotrophomonas* sp.) isolated as well as the mixture of these two genera, and three controls (without and with nitrogen and residual control of inoculation in the cane plant). Four evaluations were made at 180, 240, 300 and 360 days after regrowth (DAR), where were evaluated the nitrogenase activity (AN), the contribution of biological N fixation (FBN) by the natural abundance method of ^{15}N . Chlorophyll *a* and *b* in the diagnostic leaf, vegetative growth (diameter, height and number of leaves). At 240 DAR was determined the nutritional status and at 360 DAR was measured the agricultural and industrial productivity. Other experiment was carried in a greenhouse with eight treatments: compost, filter cake (TF), (TF + vinasse), (compound + vinasse), inoculated and not inoculated with a mixture of the *Pantoea* sp. and *Stenotrophomonas* sp. In the soils, sandy and clayey with four replicates. The residues were packed in *litter bags* and evaluated at 0, 20, 40, 60, 80 and 100 days after the start of the study. The decomposition constant (*k*) of the remaining mass, the N, C and C/N ratio of the residues were evaluated. AN was influenced by inoculation and addition of TF. FBN contributed 25% of the sugarcane N, not influenced by TF, but inhibited by mineral N. The application of TF potentiated the absorption of N, independent of the variety. It favored photosynthetic pigmentation only in variety RB92579. The productivity of the fertilized plants did not differ from those inoculated, regardless of the TF. A *k* decreased with time and TF decomposition was enhanced when combined with vinasse and/or inoculated. The N mineralization rate at the beginning of the waste decomposition was higher than that of the C, mainly in the vinasse and inoculated treatments, increasing the C/N ratio, which only decreased in the second half of the decomposition period.

Keywords: Nitrogen nutrition. Nitrogenase. Natural abundance of ^{15}N . Photosynthetic pigments. Rate of decomposition of residues. C/N ratio.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Precipitação pluvial durante o ensaio na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, em Carpina – PE	52
Figura 2 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na atividade da nitrogenase aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	61
Figura 3 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na atividade da nitrogenase aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem a adição de torta de filtro	62
Figura 4 - Atividade da nitrogenase em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579	66
Figura 5 - Atividade da nitrogenase em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515	67
Figura 6 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) aos 120 e aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515.....	70
Figura 7 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro	74
Figura 8 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas no teor de nitrogênio total aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	77
Figura 9 - Teor de nitrogênio na folha +1 em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579	79
Figura 10 - Teor de nitrogênio na folha +1 em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515	80

Capítulo 2

Figura 1 - Precipitação pluvial durante o ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, em Carpina – PE	95
Figura 2 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de clorofila <i>a</i> aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	102
Figura 3 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de clorofila <i>b</i> aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	103
Figura 4 - Teor de clorofila <i>a</i> em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579.....	105
Figura 5 - Teor de clorofila <i>a</i> em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515	107
Figura 6 - Teor de clorofila <i>b</i> em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579	108
Figura 7 - Teor de clorofila <i>b</i> em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515	109
Figura 8 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de N aos 240 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	115
Figura 9 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de P aos 240 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	118
Figura 10 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na altura das plantas 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	124
Figura 11 - Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para diâmetro do colmo aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	125

Figura 12 -	Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para número de folhas aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	126
Figura 13 -	Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para produtividade agrícola aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	129
Figura 14 -	Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para produtividade industrial aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro.....	130

Capítulo 3

Figura 1 -	Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação durante o período de condução do experimento	144
Figura 2 -	Detalhe da <i>litter bag</i> de decomposição contendo resíduo, fechada manualmente....	150
Figura 3 -	Teor de carbono orgânico total dos resíduos da agroindústria canavieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes.....	157
Figura 4 -	Teor de nitrogênio total dos resíduos da agroindústria canavieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes	159
Figura 5 -	Relação C/N dos resíduos da agroindústria canavieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes	161

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do solo da área experimental em diferentes profundidades.....	53
Tabela 2 - Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), isoladas de plantas de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco.....	54
Tabela 3 - Atributos químicos da torta de filtro em base seca utilizada no experimento.....	56
Tabela 4 - Atividade da nitrogenase nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 300 e 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados	68
Tabela 5 - Fixação biológica de nitrogênio (FBN) e Abundância natural de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 120 e 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados	72
Tabela 6 - Fixação biológica de nitrogênio (FBN) e Abundância natural de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, com e sem aplicação de torta de filtro, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados.....	75
Tabela 7 - Teor de nitrogênio na folha +1 nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados	81

Capítulo 2

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do solo da área experimental em diferentes profundidades	95
Tabela 2 - Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM/UAG/UFRPE), isoladas de plantas de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco	96
Tabela 3 - Atributos químicos da torta de filtro em base seca utilizada no experimento.....	98

Tabela 4 -	Teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 300 dias após a rebrota	110
Tabela 5 -	Teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 240 dias após a rebrota.....	113
Tabela 6 -	Altura, diâmetro e número de folhas nas plantas nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota	122
Tabela 7 -	Produtividade agrícola e industrial dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota	128

Capítulo 3

Tabela 1 -	Atributos químicos e físicos de dois tipos de solos utilizados no experimento de decomposição	146
Tabela 2 -	Atributos químicos dos resíduos da agroindústria canavieira	148
Tabela 3 -	Descrição da composição dos tratamentos no ensaio de decomposição dos resíduos da agroindústria canavieira	149
Tabela 4 -	Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), isoladas de plantas no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco	149
Tabela 5 -	Constante de decomposição da massa remanescente, peso inicial e tempo de meia vida dos resíduos da agroindústria canavieira e coeficiente de determinação obtido por ajuste de modelo exponencial simples em solos de texturas contrastantes	153

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

^{15}N	Isótopo ^{15}N
AIA	Ácido indol acético
AN	Atividade da nitrogenase
ATP	Adenosina trifosfato
ATR	Açúcar total recuperável
BPCP's	Bactérias promotoras de crescimento vegetal
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
Clo A	Clorofila <i>a</i>
Clo B	Clorofila <i>b</i>
COT	Carbono orgânico total
CTC efetiva	Capacidade de troca de cátions efetiva
CTC potencial	Capacidade de troca de cátions potencial
EECAC	Estação experimental de cana-de-açúcar do Carpina
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
IN	Grupo dos tratamentos inoculados
LGBM	Laboratório de Genética e Biologia Molecular
MB	Tratamento mistura bacteriana
Θ_{CC}	Umidade na capacidade de campo
Θ_{PMP}	Umidade no ponto de murcha permanente
PRNT	Poder relativo de neutralização total
PT	Tratamento <i>Pantoea sp</i>
ST	Tratamento <i>Stenotrophomonas sp</i>
TA	Testemunha absoluta
TBr	Tratamento <i>Burkholderia sp</i> residual
TCH	Produtividade agrícola
TN	Testemunha nitrogenada
TPH	Produtividade industrial
TSA	Tryptone Soy Agar
UAG	Unidade Acadêmica de Garanhuns
UFC	Unidade formadora de colônia
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	27
1.1 Hipóteses	29
1.2 Objetivo geral	29
1.3 Objetivos específicos	29
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1 A cultura da cana-de-açúcar	31
2.2 A cana-de-açúcar e seus resíduos	32
2.3 Resíduos da indústria sucroalcooleira e suas características	34
2.4 A importância do nitrogênio para a cana-de-açúcar	35
2.5 Microbiologia do solo e importância da Fixação biológica de nitrogênio	36
2.6 Bactérias diazotróficas de vida livre, facultativas ou obrigatórias	38
Referências	39
3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COM E SEM TORTA DE FILTRO.....	47
Resumo	48
Abstract.....	49
3.1 Introdução.....	50
3.2 Material e métodos	51
3.2.1 Descrição da área experimental.....	51
3.2.2 Descrição do experimento	54
3.2.3 Avaliações no campo.....	57
3.2.3.1 Determinação da atividade da nitrogenase	57
3.2.3.2 Determinação da abundância natural do isótopo ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) e Fixação Biológica de Nitrogênio.....	58
3.2.3.3 Determinação de nitrogênio total	59
3.3 Análise estatística	59
3.4 Resultados e Discussão.....	60
3.4.1 Atividade da Nitrogenase (AN).....	60
3.4.1.1 Tratamentos inoculados versus testemunhas.....	60
3.4.1.2 Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo.....	64
3.4.1.3 Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro.....	67
3.4.2 Abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ e Fixação biológica de nitrogênio.....	70

3.4.2.1	Tratamentos inoculados versus testemunhas	70
3.4.2.2	Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo.....	71
3.4.2.3	Tratamentos inoculados versus testemunhas em função da aplicação de torta de filtro	73
3.4.2.4	Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro.....	75
3.4.3	Nitrogênio total.....	76
3.4.3.1	Tratamentos inoculados versus testemunhas	76
3.4.3.2	Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo.....	78
3.4.3.3	Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro.....	81
3.5	Conclusões.....	83
	Referências	83
4 FISIOLOGIA, NUTRIÇÃO, CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COM E SEM TORTA DE FILTRO		89
	Resumo	90
	Abstract.....	91
4.1	Introdução.....	92
4.2	Material e métodos	94
4.2.1	Descrição da área experimental.....	94
4.2.2	Descrição do experimento	96
4.2.3	Avaliações no campo.....	99
4.2.3.1	Determinação dos teores de Clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	99
4.2.3.2	Estado nutricional da cana-de-açúcar	99
4.2.3.3	Crescimento vegetativo	100
4.2.3.4	Produtividade industrial e agrícola	100
4.3	Análise estatística	101
4.4	Resultados e Discussão.....	102
4.4.1	Teores de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> nas folhas de cana-de-açúcar	102
4.4.2	Estado nutricional da cana-de-açúcar	112
4.4.3	Crescimento vegetativo	120
4.4.4	Produtividade agrícola e industrial	127
4.5	Conclusões.....	132
	Referências	133

5 DECOMPOSIÇÃO DE RESÍDUOS DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM DIFERENTES SOLOS	139
Resumo	140
Abstract.....	141
5.1 Introdução.....	142
5.2 Material e métodos	144
5.2.1 Caracterização do local, dos solos e dos resíduos utilizados no ensaio	144
5.2.2 Descrição dos tratamentos	148
5.2.3 Ensaio experimental	150
5.2.4 Avaliações do ensaio	151
5.2.4.1 Avaliação da decomposição - Massa remanescente	151
5.2.4.2 Teores de C, N e relação C/N dos resíduos	152
5.3 Análise estatística	152
5.4 Resultados e discussão	152
5.4.1 Massa remanescente	153
5.4.2 Teores de N, COT e relação C/N remanescente dos resíduos	156
5.5 Conclusões.....	162
Referências	162
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	165

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar é uma cultura originária da Região da Nova Guiné e foi introduzida no Brasil no início do século XVI, durante as expedições colonizadoras, sendo considerada pelos historiadores como uma das primeiras atividades de importância econômica do país. Pertencente à família *Poaceae* e ao gênero *Saccharum*, é uma planta semi-perene e própria de climas tropicais e subtropicais.

Como a cana-de-açúcar é uma cultura que produz um alto rendimento de matéria verde, energia e fibras, seu plantio em larga escala ainda é tradicional em vários países das regiões tropical e subtropical para a produção de açúcar, álcool e subprodutos e, desta produção, cada vez mais resíduos são gerados e utilizados de forma pouco efetiva na própria agroindústria.

Ao se produzir etanol, o principal resíduo gerado no processo é a vinhaça (oriunda das águas de lavagem dos filtros) e na produção de açúcar, o resíduo gerado é a torta de filtro (presa nos filtros do sistema). O setor sucroalcooleiro, diante da grande procura mundial por fontes renováveis de energia, tem sido pressionado a aumentar sua produção. No entanto, concomitantemente a esse aumento, há também o aumento dos resíduos gerados pela indústria.

Por outro lado, com as atuais dificuldades econômicas do país, os custos dos insumos agrícolas para produção de cana-de-açúcar estão bastante elevados, sendo necessário se buscar formas alternativas de manter ou mesmo aumentar os rendimentos de produtividade nos canaviais, para que a atividade agrícola desse setor ainda se sustente como rentável.

Atualmente, grande parte do bagaço ou da torta de filtro é utilizada como fonte combustível para alimentação das caldeiras dentro da própria indústria, porém estes resíduos, principalmente a torta de filtro, possuem um bom potencial como fonte de nutrientes para a própria cultura, podendo ser devolvido ao campo como destinação final, repondo nutrientes que foram perdidos durante o ciclo natural de produção, além de todos os outros benefícios da incorporação de matéria orgânica ao solo. A torta de filtro é um resíduo composto da mistura de bagaço moído e lodo da decantação, sendo proveniente do processo de clarificação do açúcar. Para cada tonelada de cana-de-açúcar moída, são produzidos cerca de 35 kg de torta de filtro. É um composto orgânico rico em fósforo e cálcio com composição variável, dependendo da variedade da cana-de-açúcar e da sua maturação. A qualidade dos resíduos orgânicos em liberar nutrientes para o solo depende da natureza do material, porque a matéria

orgânica pode ser dividida em dois grandes grupos fundamentais, o primeiro que pelo ataque de micro-organismos decompositores liberam cerca de 80% dos minerais constituintes e o segundo grupo representado pelas substâncias húmicas que possuem grande parte do carbono orgânico de sua constituição.

A decomposição pode ser descrita como um processo que envolve três ações, a lixiviação, onde ocorre à primeira remoção de materiais solúveis pela água; um segundo processo que é o catabolismo, que são as transformações enzimáticas dos componentes orgânicos e a fragmentação que é a redução das partículas do material.

Alguns cuidados devem ser tomados neste tipo de reaproveitamento devido ao potencial poluidor destes resíduos, ou ainda podem causar um desbalanço nas relações iônicas no solo.

Para que o material seja decomposto, ele depende da atuação de bactérias próprias para este processo. Assim, outra forma de se reduzir ou até mesmo substituir a adubação mineral para a cultura da cana-de-açúcar são as pesquisas que estudam a viabilidade do uso de micro-organismos que possam representar um avanço para o manejo dos sistemas agrícolas, principalmente bactérias endofíticas ou rizosféricas que auxiliam na mineralização e na fixação biológica de nitrogênio (FBN). As bactérias agem mineralizando a matéria orgânica disposta no solo e liberam nitrogênio para o suprimento das plantas, nas formas de nitrato e de amônio, formas estas que são prontamente disponíveis para serem absorvidas pelas plantas para formação de compostos vitais ao seu desenvolvimento.

O N é o nutriente mais abundante na matéria viva, sendo encontrado como constituinte na composição de moléculas de ácidos nucléicos, aminoácidos, proteínas e polissacarídeos entre outras. Entretanto, apesar de ser requerido em quantidades significativas pelos seres vivos, na natureza este elemento é encontrado em abundância em uma forma quimicamente muito estável (ligado por tripla ligação covalente) e, portanto, sua pronta assimilação pela maioria dos seres vivos é limitada, requerendo sua transformação para uma forma combinada que facilite sua assimilação.

As plantas utilizam o N em suas estruturas e a interação vegetal/bactérias fixadoras de N trazem benefícios ambientais e econômicos. Algumas bactérias atuam no interior de plantas, como na cana-de-açúcar, e são consideradas endofíticas. Dentro do grupo das endofíticas existem as bactérias que são obrigatoriamente endofíticas, que só se desenvolvem dentro da estrutura vegetal e as bactérias que são endofíticas facultativas, se desenvolvendo na raiz ou na própria rizosfera.

Estudos que possam relacionar a inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar e o uso de resíduos da agroindústria canavieira, seja como potencializadores da ação dessas bactérias ou como substrato da inoculação, são fundamentais para se encontrar outras soluções que não envolvam a utilização exclusiva de fertilizantes inorgânicos na agricultura canavieira. Por outro lado, nessa relação bactéria diazotrófica e resíduo da agroindústria, a aceleração da decomposição desses resíduos pelo uso das bactérias também deve ser considerada para o provimento mais rápido de nutrientes durante o manejo agrícola.

1.1 Hipóteses

- A utilização de bactérias diazotróficas em socaria de cana-de-açúcar promove fixação biológica de N, incrementando seus teores foliares.
- A utilização de torta de filtro em socaria de cana-de-açúcar auxilia a atuação das bactérias diazotróficas na fixação biológica de N.
- Bactérias diazotróficas são capazes de acelerar a decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira.

1.2 Objetivo geral

- Avaliar o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades de cana-de-açúcar e estudar a decomposição de resíduos orgânicos da agroindústria canavieira inoculados com essas bactérias em solos de texturas contrastantes.

1.3 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade da enzima nitrogenase no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades com e sem aplicação de torta de filtro.
- Estimar a contribuição da fixação biológica de N com o uso da técnica de abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades com e sem aplicação de torta de filtro.
- Avaliar a nutrição nitrogenada no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades com e sem aplicação de torta de filtro.

- Avaliar os aspectos fisiológicos, nutricionais, de crescimento e a produtividade agrícola e industrial no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades com e sem aplicação de torta de filtro.
- Determinar a constante de decomposição (k), os teores de N e C e a relação C/N de diferentes resíduos orgânicos da agroindústria canavieira inoculados com bactérias diazotróficas em dois tipos de solos em função do tempo de incubação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil no início do século XVI, onde encontrou condições naturais favoráveis para se adaptar. Pertencente à família *Poaceae* e ao gênero *Saccharum*, é uma planta semi-perene própria de climas tropicais e subtropicais (CAVALHEIRO et al., 2014). A introdução da cultura no continente americano ocorreu em 1493, na República Dominicana, espalhando-se posteriormente para o México e daí disseminada para toda a América (CASTRO; KLUGE, 2001).

A cana-de-açúcar tornou-se bastante importante para o Brasil ao longo dos anos e o país atualmente é reconhecidamente o maior produtor mundial desta cultura. Sabe-se que a área plantada na safra de 2015/2016 foi cerca de 8,7 milhões de hectares e estima-se que para a safra 2016/2017 a área plantada alcançará 8,9 milhões de hectares, tendo um aumento de 3,7% (CONAB, 2016).

A região sudeste é a maior produtora do país, concentrando mais de 62% da produção total e no cenário nordestino, o estado de Pernambuco se encontra em segundo lugar em termos de produção, perdendo apenas para o estado de Alagoas que concentra cerca de 4% da produção nacional (CONAB, 2016). Para os estados da região nordeste, a cana-de-açúcar representa uma enorme fonte de empregos diretos e indiretos em diversos setores.

Devido à comprovada importância da cultura para a economia nacional, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos nos centros de pesquisa em melhoramento vegetal distribuídos pelo país para selecionar híbridos que apresentem resistência a pragas e doenças, bons indicadores de qualidades das variáveis tecnológicas para que cada vez mais se consiga atingir altas produtividades em campo (LIMA NETO et al., 2013).

No estado de Pernambuco, uma das maiores dificuldades de produção é a irregularidade climática, o que leva a uma maior necessidade de irrigações, elevando os custos de produção. Diante da necessidade de adaptação, uma das variedades mais utilizadas é oriunda de melhoramento genético, a RB92579. Esta variedade foi desenvolvida pela RIDESA – Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético, e é bastante plantada por apresentar como principais características: alta brotação, alto perfilhamento nos ciclos de cana planta e soca, ótima brotação das socarias e maturação média, alta produtividade agrícola e alto teor de sacarose, longo período de utilização industrial e médio teor de fibra e ainda não apresenta restrição a ambiente de produção

(SIMÕES NETO et al., 2005). Em nível nacional, a variedade RB867515 se destaca principalmente no estado de São Paulo, apresentando também moderada resistência a pragas e doenças, alta produtividade e crescimento lento, boa capacidade de brotação e perfilhamento médio com colmos de diâmetro médio e alta uniformidade. É uma variedade que se adapta a solos de textura leve e fertilidade moderada (RIDESA, 2010).

2.2 A cana-de-açúcar e seus resíduos

Da cana-de-açúcar, basicamente é possível aproveitar toda a planta, porém os principais produtos oriundos dela são a sacarose e o etanol. Em Pernambuco, a previsão da safra 2016/2017 para a produção de açúcar é de cerca de 1.133,5 milhões de toneladas, para o etanol, estima-se que a safra 2016/2017 alcance uma produção de 363.905,0 milhões de litros (CONAB, 2016).

Ao chegar aos complexos industriais, a cana-de-açúcar passa por uma lavagem prévia para a remoção das partículas grosseiras como solo e restos de ervas que venham presas com os colmos, após este processo, a cana-de-açúcar passa por um conjunto de moendas e tem seus colmos esmagados para separar o caldo das fibras com a finalidade de produzir etanol, açúcar, fermento e outros derivados, tanto para atividades alimentícias, como para a indústria química. As fibras ficam retidas nos filtros rotatórios e se misturam a borra formada após a lavagem, formando a torta de filtro (SARKER et al., 2016).

No processo de produção de etanol e açúcar, são produzidos para cada tonelada de cana-de-açúcar moída cerca de 30 kg de torta de filtro, 240 kg de bagaço e 0,96 m³ de vinhaça. Parte do bagaço e da torta de filtro produzida pode ser utilizada como fonte de energia, gerando 2,5% de cinzas, mas vários estudos indicam o uso de torta de filtro como um resíduo auxiliar na complementação da adubação para as plantas (SANTANA et al., 2012; LIMA et al., 2011; SANTOS et al., 2012).

Com esta crescente produção de resíduo, se faz necessário que haja algumas alternativas para que seja viável o uso dos resíduos agroindustriais maximizando o ganho econômico e reduzindo o potencial poluidor destes. A principal utilização do bagaço da cana-de-açúcar é a geração de energia, devido ao seu grande poder calorífico, alimentado assim as caldeiras das próprias usinas e destilarias de etanol, mas o bagaço possui várias indicações de uso que atualmente são subutilizadas, como matéria prima para alimentação animal; produção de celulose, onde uma vez reciclado, gera um novo produto de interesse comercial,

o papel (SARKER et al., 2016). No entanto, com a crise energética seu uso mais nobre é como co-gerador de energia para o processo industrial.

Geralmente não se utiliza apenas o bagaço como fonte única de adubação, devido a sua recalcitrância, o que pode atrapalhar o desenvolvimento das culturas. O bagaço pode ser misturado a torta de filtro ou outros materiais para formar um composto orgânico (associação ou mistura dos resíduos) que apresente características favoráveis, como adequação dos valores de pH e salinidade, para otimizar a absorção de água e nutrientes, porém apesar de apresentarem praticamente todos os elementos necessários à nutrição das plantas, os compostos orgânicos podem ser pouco eficientes no fornecimento de nutrientes, em razão das baixas concentrações. Por outro lado, o manejo incorreto da adubação orgânica com aplicação de quantidades excessivas pode promover contaminação do solo, lixiviação de íons, dentre outros (SERRANO et al., 2006).

A torta de filtro é o segundo maior resíduo gerado no processamento da cana-de-açúcar (ROLZ et al., 2010), possui composição variável de acordo com cada variedade e maturação da cana-de-açúcar, com o processo de clarificação do caldo, dentre outros. Rica em matéria orgânica, a torta de filtro é capaz de proporcionar benefícios para as plantas, inclusive para a própria cana-de-açúcar, dentre eles: disponibilizar P, presença de micronutrientes, aumento da capacidade de troca de cátions na região onde a torta de filtro é aplicada; capacidade de reter água em maiores quantidades que pode auxiliar em épocas de deficiência hídrica; auxilia na melhoria das condições físicas, químicas e microbiológicas do solo para o desenvolvimento das plantas, dentre outras (FRAVET et al., 2010).

Adorna et al. (2013), avaliando a adubação com torta de filtro e micronutrientes em cana-de-açúcar, identificaram que ao aplicar torta de filtro associada a micronutrientes foi possível aumentar a produtividade média de colmos de cana-de-açúcar em Latossolo Vermelho e em áreas em que não foram aplicadas as quantidades adequadas de torta de filtro, os teores foliares não foram afetados pela aplicação de micronutrientes.

Outro resíduo bastante importante oriundo da produção de etanol é a vinhaça. Ela é caracterizada como sendo um líquido derivado da destilação do vinho, que é resultante da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, sendo uma importante fonte de matéria orgânica e de nutrientes, dentre eles, o potássio se destaca como o principal nutriente fornecido (RESENDE et al., 2006; CETESB, 2006).

A vinhaça pode ser aplicada ao campo via fertirrigação por aspersão convencional, autopropelidos, sulcos de infiltração e canhões tanques. Canellas et al. (2003) verificaram que

o uso de vinhaça modificou algumas propriedades químicas do solo e proporcionou melhoria à fertilidade e à quantidade da matéria orgânica do solo.

Brito et al. (2009), avaliando o comportamento do resíduo em diferentes solos, verificaram que o aumento do teor de K no solo variou em profundidade, de acordo com as particularidades de cada solo. Desta forma, o uso deste subproduto em solos agricultáveis pode alterar a dinâmica do ciclo de nutrientes no solo, modificando a fertilidade e a nutrição de plantas (CHIARADIA, 2005). Por outro prisma, se houver um manejo inadequado da adubação orgânica, quantidades excessivas podem promover contaminação do solo, lixiviação de íons, dentre outros.

2.3 Resíduos da indústria sucroalcooleira e suas características

O conhecimento das características do resíduo relacionadas à degradação microbiológica pode contribuir para a previsão de seu comportamento no solo, permitindo definir referências úteis para o estabelecimento de quantidades máximas a serem aplicadas aos solos. A qualidade da matéria orgânica dos resíduos orgânicos pode ser determinante na taxa de degradação do carbono adicionado ao solo (HATTORI; MUKAI, 1986). Pode-se, então, pensar na quantificação e uso de alguns compostos orgânicos, ou índices calculados a partir destes, para previsão de degradação no solo, reduzindo custos, facilitando o acesso à informação e, conseqüentemente, o uso agrícola do resíduo (ANDRADE et al., 2006).

Os estudos e respostas da aplicação de resíduos em função de suas características, do clima e da forma de disposição no solo, sobre a taxa de mineralização, principalmente em experimentos conduzidos em condições de campo precisam ser melhor entendidos (PARTON et al., 2007). Desta forma, existe uma carência de informações sobre a disponibilização de N quando da aplicação de um resíduo orgânico no solo, notadamente no que se refere às condições edafoclimáticas brasileiras. Por essa razão, estudos relacionados ao assunto assumem grande importância para estabelecer critérios e práticas tecnicamente adequadas para se resguardar, além do atendimento das necessidades nutricionais das culturas, a qualidade do solo e dos mananciais de água superficial e subterrânea, em áreas de disposição final desses resíduos.

As áreas de produção de cana-de-açúcar se destacaram neste conceito mais amplo de sustentabilidade. O bagaço foi desenvolvido como volumoso para criação de bovinos no sistema confinado. Posteriormente também passou a ser utilizado como fonte de energia para usina, diminuindo a dependência do fornecimento de energia elétrica. A vinhaça passou a ser

aplicada como fertilizante e devolver grande parte de nutrientes que havia sido exportada com a colheita (SATYAWALI; BALAKRISHANAN, 2008). A torta de filtro também constitui um fertilizante orgânico bastante importante e juntamente com a vinhaça, reduz a necessidade de importação de nutrientes na forma de adubos minerais. A própria água de lavagem das instalações industriais é utilizada na irrigação. Mais recentemente, o corte de cana-de-açúcar crua passou a dar maior sustentabilidade ambiental uma vez que a palhada permanece no campo, fornecendo matéria orgânica para o sistema e modificando os atributos químicos dos solos como fixação de fósforo e disponibilidade de nutrientes como o potássio (OLIVEIRA et al., 2014).

2.4 A importância do nitrogênio para a cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma cultura que possui mecanismo fotossintético do tipo C4 e responde de maneira diferenciada a adubação nitrogenada, sendo o nitrogênio um elemento fundamental constituinte dos aminoácidos e bases químicas das proteínas (URIBE et al., 2016). O N é um nutriente limitante para o rendimento da cultura da cana-de-açúcar e é particularmente essencial para o crescimento e desenvolvimento das culturas. A produção de fertilizantes nitrogenados depende do uso de recursos não renováveis, como petróleo, gás ou carvão, o que torna sua produção um processo pouco sustentável (STOLTZFUS et al., 1997; HUNGRIA et al., 2001).

O N é um dos nutrientes minerais mais aplicados para a produção de cana-de-açúcar no Brasil e o mais caro. As quantidades aplicadas de N fertilizante geralmente são iguais ou menores do que as exportadas pelos colmos ou perdas com a queima dos resíduos culturais. Contudo, a cultura consegue produzir grandes quantidades de colmo em cultivos contínuos no Brasil sem aparente degradação da matéria orgânica do solo (SCHULTZ et al., 2012). Esses fatos são considerados evidências indiretas de que a cana-de-açúcar obtém parte do N necessário ao seu desenvolvimento pela fixação biológica do N₂ atmosférico (FBN), devido à associação com bactérias diazotróficas (BODDEY et al., 2003; SCHULTZ et al., 2012).

Entretanto, a atual contribuição da FBN é controversa, havendo pouca reprodutibilidade dos resultados, embora seja geralmente reconhecido que este processo apresenta um grande potencial para a nutrição nitrogenada da cana-de-açúcar e para o balanço energético favorável da produção de biocombustível (VITTI et al., 2005; SCHULTZ et al., 2016).

Na última década, estudos com bactérias diazotróficas endofíticas têm se intensificado não só devido à capacidade de fixar N, como também às suas potencialidades como agente de promoção de crescimento e proteção de plantas (SUMAN et al., 2001; TAULÉ et al., 2012). Na cultura da cana-de-açúcar, os estudos relacionados com seleção de genótipos da planta e de estirpes bacterianas eficientes para FBN têm apontado para contribuição média de 30% do N requerido pela planta (SCHULTZ et al., 2012).

Estudos indicaram que do N extraído pela cana-de-açúcar, cerca de 50% é exportado com os colmos. Trivelin et al. (1995) mencionaram que para uma produtividade de 100 Mg ha⁻¹ de colmo, a cultura extrai cerca de 200 a 300 kg ha⁻¹ de N. As quantidades de N exportadas pelos colmos são semelhantes ou até menores do que as quantidades aplicadas ao longo do ciclo, sem contar as perdas de N do sistema (CANTARELLA et al., 2007).

Schultz et al. (2012) evidenciaram que houve um aumento de desenvolvimento e produtividade na variedade de cana-de-açúcar RB867515 equivalente a adição de 120 Mg ha⁻¹ de N fertilizante quando inoculada com bactérias diazotróficas, diferentemente do observado com a variedade de cana-de-açúcar RB 74574 que não apresentou resposta à adunação nitrogenada bem como à inoculação.

A cana-de-açúcar é uma planta eficiente para aproveitar o N do solo, devido ao longo ciclo e ao seu sistema radicular abundante. Estudos com fertilizantes marcados com ¹⁵N mostraram que a maior parte do N absorvido pela planta é proveniente do solo, assim a contribuição dos fertilizantes nitrogenados em relação ao N total absorvido varia de 10% a 16% (TRIVELIN et al., 1995; GAVA et al., 2003). Os autores mencionaram a existência de outras fontes de N para a planta como o solo, a FBN, deposição com a água da chuva entre outras, desta forma torna-se tão difícil estimar um valor exato de contribuição de N já que existem diversas vias para esse fornecimento de N às plantas.

2.5 Microbiologia do solo e importância da Fixação biológica de nitrogênio

A microbiota do solo, em face de seu papel na ciclagem de nutrientes, é importante na reconstrução da fertilidade e fornece um indicativo precoce de mudanças no conteúdo de matéria orgânica (SEVERINO et al., 2004).

Nos anos 50, Döbereiner e colaboradores isolaram bactérias fixadoras de N₂ do solo em campos de cana-de-açúcar no Brasil (DÖBEREINER, 1961) e sugeriram que os altos rendimentos com baixos insumos de fertilizantes nitrogenados poderiam ser explicados por contribuições da FBN. Subsequentemente, muitas espécies de bactérias fixadoras de N₂ foram

isoladas da rizosfera da cana-de-açúcar e detectadas dentro dos tecidos vegetais (JAMES, 2000, PERIN et al., 2006, THAWEENUT et al., 2011, FISCHER et al., 2012 e CASTRO-GONZÁLEZ et al., 2012).

Outro indicativo de atuação microbiológica se dá quando observamos a presença da enzima nitrogenase. A nitrogenase é uma enzima altamente sensível ao oxigênio e necessita de condições anaeróbias para ser ativada. Apesar disso, as bactérias diazotróficas precisam regular o suprimento de oxigênio para prover ATP e ao mesmo tempo proteger a nitrogenase contra seu efeito deletério. Dessa forma, esses micro-organismos desenvolveram várias estratégias para limitar o acesso do oxigênio à nitrogenase, desde o crescimento microaerofílico até modificações morfológicas, tais como os nódulos nas leguminosas, os heterocistos nas cianobactérias, vesículas em não leguminosas e a barreira de difusão ao oxigênio nos nódulos (YATES et al., 1997).

Os balanços de N em campo mostram que as quantidades de N acumuladas na biomassa da cana-de-açúcar ultrapassam em muito as quantidades de fertilizantes nitrogenados aplicadas. Assim, Basanta et al. (2003) e Franco et al. (2011) sugeriram que as entradas promovidas pelas FBN para o sistema podem ser responsáveis por isso. A evidência direta para este indicativo pode ser dada utilizando N enriquecido, (^{15}N), sendo estas técnicas denominadas isotópicas (URQUIAGA et al. 1992).

Mais recentemente, foram obtidas evidências adicionais usando balanços de N de longo prazo e a técnica de abundância natural ^{15}N (URQUIAGA et al., 2012). No entanto, apesar desses resultados positivos de estudos realizados no Brasil, o uso de técnicas de balanço de N e ^{15}N na Austrália (BIGGS et al., 2002) e na África do Sul (HOEFSLOOT et al., 2005) não encontraram evidências de contribuições de FBN em algumas variedades de cana-de-açúcar nas condições edafoclimáticas onde os trabalhos foram realizados.

Um problema encontrado na utilização da técnica de abundância natural do ^{15}N para quantificar as contribuições da FBN para a cana-de-açúcar no campo é a falta de uma variedade adequada de cana-de-açúcar, ou uma planta de estatura semelhante que não seja fixadora (por exemplo, *Pennisetum purpureum*) servindo como referência de fixação (BAPTISTA et al., 2014). Chalk et al. (2016) encontraram em sua pesquisas inconsistências sobre o uso da técnica relacionada a dependência simbiótica de N_2 das plantas em diferentes situações na contribuição da FBN em relação a planta de referência para validar o método.

Todas as variedades de cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 1992 e URQUIAGA et al., 2012) e capim-elefante (De MORAIS et al., 2012) estudadas até o momento parecem ser

capazes de obter parte de seu N via FBN devido a bactérias associadas às plantas (SCHULTZ et al., 2016). Nos estudos de campo realizados pela equipe da Embrapa Agrobiologia (De MORAIS et al., 2012 e URQUIAGA et al., 2012), não-leguminosas de ocorrência espontânea, como *Malva parviflora*, *Eleusine indica* e *Richardia Brasiliensis* (trevo mexicano) foram coletados e utilizados como plantas de referência. No entanto, essas ervas daninhas são de enraizamento mais raso (máximo 10-15 cm) do que a cana-de-açúcar, então os autores estudaram a abundância natural de ^{15}N de ervas daninhas cultivadas em amostras de solo de diferentes profundidades do solo a partir das parcelas experimentais como uma estratégia para avaliar a abundância natural de ^{15}N (CANTARELLA et al., 2007).

2.6 Bactérias diazotróficas de vida livre, facultativas ou obrigatórias

O solo está repleto de formas de vida microscópicas, incluindo bactérias, fungos, nematóides e algas. As bactérias em habitats naturais colonizam o interior e exterior de órgãos das plantas e podem ser benéficas para as culturas promovendo, por exemplo, o crescimento das plantas (MARIANO et al., 2004).

O N é usado para sintetizar proteínas vegetais e ácidos nucleicos, incluindo DNA – ácido desoxirribonucleico. Embora, seja encontrado naturalmente na atmosfera, não pode ser usado pelas plantas na forma mais abundante (N_2). O N pode ser combinado quimicamente com oxigênio ou hidrogênio para formar vários compostos nitrogenados que as plantas são capazes de utilizar. Estes compostos azotados podem então ser adicionados ao solo sob a forma de fertilizante de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-). Especialmente, o uso de fertilizantes nitrogenados é de grande importância na produção de arroz, pois o N é o principal fator que limita o crescimento na maioria das condições (DAWE et al., 2000).

Assim, a fixação de N_2 é uma importante fonte de N para o crescimento de plantas. Os fixadores de N_2 , também chamados diazotófos, desempenham um papel crítico no ecossistema da planta ao reduzir o N_2 para a amônia (NH_3) (DILWORTH, 1974). Os diazotófos apresentam efeitos melhoradores na absorção de nutrientes, na tolerância ao estresse, na síntese de vitaminas, na solubilização inorgânica de fosfato e na promoção global do crescimento das plantas (SACHDEV et al., 2009, ALI et al., 2010, BHATTACHARYYA, JHA, 2012).

Além disso, os diazotófos são conhecidos por contrariar os efeitos prejudiciais que se seguem com o início de um ataque de um patógeno. Os diazotróficos são capazes de sintetizar antibióticos, compostos antifúngicos, etc., através da competição por nutrientes produzindo

sideróforos ou desencadeando a resistência sistêmica induzida contra agentes patogênicos (DOBBELAERE et al., 2003).

Na última década, o uso de bio-inoculantes compostos por bactérias diazotróficas como alternativa aos fertilizantes nitrogenados (WELBAUM et al., 2004) emergiu como uma abordagem promissora. As bactérias fixadoras de N pertencentes ao BPCP (Bactérias promotoras de crescimento em plantas) podem fixar o N atmosférico e fornecê-lo às plantas. As BPCP's podem colonizar a raiz da planta de forma competitiva, promover o crescimento e reduzir as doenças das plantas. As espécies de rizobactérias que promovem o crescimento das plantas, *Bacillus* (IDRISS et al., 2002), *Enterobacter* (GUPTA et al., 1998) e *Corynebacterium* (EL-BANANA; WINKELMANN, 1988) têm sido relatadas como beneficiando as plantas, aumentando o crescimento e melhorando o estado fitossanitário, através de vários mecanismos diretos e indiretos.

Diante desse contexto, se faz necessário aprofundar pesquisas com o intuito de relacionar a eficiência de estirpes bacterianas em sua associação com variedades de cana-de-açúcar, além de uma compreensão mais sólida quanto ao uso e decomposição de resíduos da indústria sucroalcooleira. O aprofundamento de pesquisas semelhantes a este trabalho pode subsidiar futuramente o uso eficaz de resíduos, além da compreensão de um tema tão vasto e complexo, como a FBN, e todos os componentes endógenos e exógenos relacionados a esse processo. Este trabalho visa contribuir com o conhecimento científico acerca do uso de inoculação bacteriana em cana-de-açúcar, e aproveitamento de resíduos da cultura, e diante dessa relação, esclarecer alguns aspectos importantes para o desenvolvimento do tema proposto.

Referências

ADORNA, R. C. CRUSCIOL, C. A. C.; ROSSATO, O. B. Fertilization with filter cake and micronutrientes in plant cane. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 649-657, 2013.

ALI, B.; SABRI, S.; HASNAIN. Rhizobacterial potential to alter auxin content growth of *Vigna radiate* (L.) **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 26, n. 8, p. 1379-1384, 2010.

ANDRADE, C. A.; OLIVEIRA, C.; CERRI, C. C. Cinética de degradação da matéria orgânica de biossólidos após aplicação no solo e relação com a composição química inicial. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 4, p. 659 – 668, 2006.

- BAPTISTA, R.B.; MORAIS, R.F. de; LEITE, J.M.; SCHULTZ, N.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Variations in the ^{15}N natural abundance of plant-available N with soil depth: their influence on estimates of contributions of biological N_2 fixation to sugar cane. **Applied Soil Ecology**, Netherland, v.73, p.124-129, 2014.
- BASANTA, M. V.; DOURADO-NETO, D.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; OLIVEIRA, J. C. M.; TRIVELIN, P. C. O.; TIMM, L. C.; TOMINAGA, T. T.; CORRECHEL, V. CÁSSARO, F. A. M.; PIRES, L. F.; MACEDO, J. R. Management effects on nitrogen recovery in a sugarcane crop grown in Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 235-248, 2003.
- BHATTACHARYYA, P. N. JHA, D. K. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.
- BIGGS, I. M.; STEWART, G. R.; WILSON, J. R.; CRITCHLEY, C. ^{15}N natural abundance studies in Australian commercial sugarcane. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 238, n. 1, p. 21-30, 2002.
- BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. M. Endophytic nitrogen fixation in sugar cane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 252, n. 1, p. 139-149, 2003.
- BRITO, F. L.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R. Efeito da Aplicação de vinhaça nas características químicas de solos da zona da mata de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, n. 4, p. 456-462, 2009.
- CANELLAS, L.P.; VELLOSO, A.C.X.; MARCIANO, C.R.; RAMALHO, J.F.G.P.; RUMJANEK, V.M.; REZENDE, C.E.; SANTOS, G.A. Propriedades químicas de um Cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhicho e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.5, p.935-944, 2003.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. (Ed.) **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2007, p. 357-470.
- CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A. (ed). **Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Editora Stoller do Brasil. p. 105-128, 2001.
- CASTRO-GONZÁLEZ, R.; MARTINEZ-AGUILAR, L. RAMIREZ – TRUJILLO, A.; ESTRADA-DE-LOS-SANTOS, P. High diversity of culturable *Burkholderia* species associated with sugarcane. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 345, n. 1-2, p. 155-169, 2012.
- CAVALHEIRO, A. J., COUTINHO, I. D., LEME, G. M., Da SILVA, A. A., Da SILVA, A. P. D. Metabolômica de cana-de-açúcar e sua relação com a produção de biomassa vegetal para bioenergia. **Desenvolvimento, pesquisa e inovação**, São Paulo, p. 15, 2012.
- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Vinhaça, critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola**, São Paulo, p. 12, 2006.

CHALK, P. M.; INÁCIO, C. T.; BALIEIRO, F. C.; ROUWS, J. R. C. Do techniques based on ^{15}N enrichment and ^{15}N natural abundance give consistent estimates of the symbiotic dependence of N_2 -fixing plants? **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 399, n. 1-2, p. 415-426, 2016.

CHIARADIA, J. J. **Avaliação agrônômica e fluxo de gases do efeito estufa a partir de solo tratado com resíduos e cultivado com mamona (*Ricinus communis* L.) em áreas de reforma de canavial**. 2005. 108 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2005.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento - **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2016**. – Brasília: Conab 2016.

DAWE, D.; DOBERMANN, A.; MOYA, P.; ABDULRACHMAN, S.; SINGH, B.; LAL, P. How widespread are yield declines in long-term rice experiments in Asia? **Field Crops Research**, Netherlands, v. 66, n. 2, p. 175-193, 2000.

DE MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V. M. URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. S.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 356, n. 1-2, p. 23-34, 2012.

DILWORTH, M. J. Dinitrogen fixation. **Annual Review of Plant Physiology**, California, v. 25, n. 1, p. 81-114, 1974.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, United States, v.22, n.2, p.107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugarcane. **Plant and Soil**, Bethlehem, n. 15, v. 3, p. 211-216, 1961.

EL-BANANA, N.; WINKELMANN, G. Pyrrolnitrin from *Burkholderia cepacia* : antibiotic activity against fungi and novel activities against streptococci. **Journal of Applied Microbiology**, New Jersey, v. 85, n. 1, p. 69-78, 1988.

FISCHER, D.; PFITZNER, B.; SCMID, M.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; REIS, V. M.; PEREIRA, W.; ORMENO-ORRILLO, E.; HAI, B.; HOFMANN, A.; SCHLOTTER, M.; MARTINEZ-ROMERO, E.; BALDANI, J. I.; HARTMANN, A. Molecular characterisation of the diazotrophic bacterial community in uninoculated and inoculated field-grown sugarcane (*Saccharum* sp.). **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 356, n. 1-2, p. 83-99, 2012.

FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Netherlands, v. 121, n. 1, p. 29-41, 2011.

FRAVET, P. R. F.; SOARES, R. A. B.; LANA, R. M. Q.; LANA, A. M. Q.; KORNDORFER, G. H. Efeitos de doses de torta de filtro e modo de aplicação sobre a produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 618-624, 2010.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; PENATTI, C. P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1347-1354, 2003.

GUPTA, A.; SAXENA, A. K.; GOPAL, M.; TILAK, K. V. B. R. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on competitive ability of introduced *Bradyrhizobium* sp.(Vigna) for nodulation. **Microbiological Research**, Germany, v. 153, n. 2, p. 113-117, 1998.

HATTORI, H.; MUKAI, S. Decomposition of sewage sludges in soil as affected by their organic matter composition. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 32, n. 3, p. 421-432, 1986.

HOEFSLOOT, G.; TERMORSHUIZEN, A. J.; WATT, D. A.; CRAMER, M. D. Biological nitrogen fixation is not a major contributor to the nitrogen demand of a commercially grown South African sugarcane cultivar. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 21, n. 1, p. 85-96, 2005.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja. Londrina: **Embrapa Soja**, 2001, 48p.

IDRISS, E. E.; MAKAREWICZ, O.; FAROUK, A.; ROSNER, K.; GREINER, R.; BOCHOW, H. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloiquefaciens* FZB 45 contributes to its plant-growth-promoting effect. **Microbiology**, United States, v. 148, n. 7, p. 2097-2109, 2002.

JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, Netherlands, v. 65, n.2, p. 197-209, 2000.

LIMA, C. C.; MENDONÇA, E. S.; ROIG, A. Contribution of humic substances from different composts on the content of humin in a tropical soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, n.2, p.1041-1048, 2011.

LIMA NETO, J. F. DUTRA FILHO, J. A., NETO, D. E. S., SILVA, A. E. P. Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 18, n. 1, p. 8-13, 2013.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2013.

OLIVEIRA, A. P. P.; LIMA, E.; ANJOS, L. H. C.; ZONTA, E.; PEREIRA, M. G. Sistemas de colheita de cana-de-açúcar: Conhecimento atual sobre modificações em atributos de solos de tabuleiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 18, n. 9, p. 939-947, 2014.

PARTON, W., SILVER, W. L., BURKE, I. C., GRASSENS, L., HARMON, M. E., CURRIE, W. S., FASTH, B. Global-scale similarities in nitrogen release patterns during long-term decomposition. **Science**, Washington, v. 5810, n. 315, p. 361-364, 2007.

PERIN, L.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L.; CASTRO-GONZÁLEZ, R.; ESTRADA-DE-LOS-SANTOS, P.; CABELLOS-AVELAR, T.; GUEDES, H. V.; REIS, V. M.; CABALLERO-MELLADO, J. Diazotrophic *Burkholderia* species associated with field-grown maize and sugarcane. **Applied and Environmental Microbiology**, United States, v.72, n. 5, p. 3103–3110, 2006.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; De OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugarcane and soil carbon nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, NE, Brazil. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 281, n. 1-2, p. 339-351, 2006.

RIDESA - **Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar** / Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sulcroatoleiro – RIDESA. Curitiba, 2010, p.136.

ROLZ, C.; LEÓN, R. DE.; CIFUENTES, R. PORRES, C. Windrow composting of sugarcane and coffee byproducts. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 12, n. 1, p. 15-20, 2010.

SACHDEV, D.; AGARWAL, V.; VERMA, P.; SHOUCHE, Y.; DHAKEPHALKAR, P.; CHOPADE, B. Assessment of microbial biota associated with rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) during flowering stage and their plant growth promoting traits. **Journal of Microbiology**, Missouri, v. 15, n. 1, 2009.

SANTANA, C. T. C.; SANTI, A.; DALLACORT, R.; SANTOS, M. L.; MENEZES, C. B. Desempenho de cultivares de alface americana em resposta a diferentes doses de torta de filtro. **Ciência Agrônômica**, Ceará, v. 43, n.1, p. 22-29, 2012.

SANTOS, D. H.; TIRITAN, C, S.; FOLONI, J. S. S. Residual effect of the phosphorus fertilization and filter cake on the sugarcane ratoon breaking. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 5, n. 15, p. 1-6, 2012.

SARKER, T. C.; AZAM, S. M. G.; BONANOMI, G. Recent advances in sugarcane industry solid by-products valorization. **Waste Biomass Valorization**, Netherlands, p. 1-26, 2016.

SATYAWALI, Y.; BALAKRISHANAN, M. Wastewater treatment in molasses based alcohol distilleries for COD and color removal: a review. **Journal of Environmental Management**, London, v. 86, n. 3, p.481–497, 2008.

SCHULTZ, N., MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDINI, 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.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Produtividade e diluição isotópica de ¹⁵N em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1594-1601, 2016.

- SERRANO, L. A. L.; SILVA, C. M. M.; OGLIARI, J.; CARVALHO, A. J. C.; MARINHO, C. S. M.; DETMANN, E. Utilização de substrato composto por resíduos da agroindústria canavieira para produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n.3, p. 487-491, 2006.
- SEVERINO, L. S.; COSTA, F. X.; BELTRÃO, N. E. M.; LUCENA, M. A.; GUIMARÃES, M. M. B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Sergipe, v. 5, n.1, p. 63-71, 2004.
- SIMÕES NETO, D. E.; MELO, L. J.O. T. **Lançamentos de novas variedades RB de cana-de-açúcar**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 28p.
- STOLTZFUS, J.; SO, R.; MALARVIZHI, P. P.; LADHA, J. K.; DE BRUIJN, F. J. Isolation of endophytic bacteria from rice and assessment of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. **Plant and Soil**, Bethlehem, n. 197, p. 25-36, 1997.
- SUMAN, A.; SHASANY, A.K.; SINGH, M.; SHAHI, H.N.; GAUR, A.; KHANUJA, S.P.S. Molecular assessment of diversity among endophytic diazotrophs isolated from subtropical Indian sugarcane. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.17, n. 1, p.39-45, 2001.
- 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**. Benthelam, v.356, n.1-2, p. 347-400, 2011.
- THAWEENUT, N.; HACHISUKA, S.; ANDO, S.; YANAGISAWA, W.; YONEYAMA, T.; Two seasons study on *nifH* gene expression and nitrogen fixation by diazotrophic endophytes in sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrids): expression those of rhizobia. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 338, n. 1-2, p. 435-449, 2011.
- TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; RODRIGUES, J. C. S. Aproveitamento por soqueira de cana-de-açúcar de final de safra do nitrogênio da aquamônia-¹⁵N e ureia-¹⁵N aplicado ao solo em complemento à vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 12, p. 1375-1385, 1995.
- URIBE, R. A. M.; GAVA, G. J. C.; KOLLN, O. T.; SAAD, J. C. C. Estimativa do acúmulo de fitomassa da soqueira de cana-de-açúcar fertirrigada com doses de N-fertilizante utilizando modelo de simulação. **Irriga - Brazilian Journal of Irrigation and Drainage**, Edição especial, Grandes culturas, São Paulo, v. 1, n.1, p. 126-139, 2016.
- URQUIAGA, S.; CRUZ, K. H. S.; BODDEY, R. M.; Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 56, n.1, p. 105-114, 1992.
- URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; De MORAIS, R. F.; BAPTISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA E SÁ, J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the

contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, Bethlehem, v. 356, n. 1-2, p. 5-21, 2012.

VITTI, G. C.; QUEIROZ, F. E. C.; OTTO, R., QUINTINO, T. A. **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar**. Departamento de Solos e Nutrição de Plantas–ESALQ/USP–Piracicaba, São Paulo, p. 15-18, 2005.

WELBAUM, G.; STURZ, A. V.; DONG, Z.; NOWAK, J. Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Science**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 175-193, 2004.

YATES, M. G.; SOUZA, E. M. De; KAHINDI, J. H. Oxygen, hydrogen and nitrogen fixation in Azotobacter. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n.1, p. 863-869, 1997.

**3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COM E SEM TORTA DE
FILTRO**

Fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas com e sem torta de filtro

Resumo

A adubação nitrogenada em cana-de-açúcar a partir do primeiro ciclo de cultivo tem sido muito utilizada e grandes quantidades de N são frequentemente recomendadas para manter níveis adequados e competitivos de produtividade. Essa fertilização impacta o ambiente e onera os custos de produção da cultura. Assim, é necessário encontrar alternativas viáveis que possam minimizar esses efeitos adversos da aplicação de fertilizantes minerais, como por exemplo, a fixação biológica de N (FBN) que, se associada a resíduos orgânicos da própria agroindústria canavieira, como a torta de filtro, pode fornecer N pela potencialização do resíduo sobre as bactérias ou ser um substrato de inoculação para ser usado em campo, sem causar efeito deletério nas bactérias. Assim, esse trabalho objetivou avaliar a FBN no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades em função da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro. Foi conduzido um experimento com duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579) inoculados dois isolados bacterianos (*Pantoea* sp. e *Stenotrophomonas* sp.) que foram inoculados separadamente compondo um tratamento cada e outro com a mistura dos dois, além de três testemunhas (testemunha sem nitrogênio, testemunha com nitrogênio e testemunha residual de inoculação na cana planta). Foram realizadas quatro avaliações nos tempos 180, 240, 300 e 360 dias após a rebrota, avaliando-se a atividade da nitrogenase, a contribuição da FBN pelo método da abundância natural do ^{15}N e determinado o teor de nitrogênio total em folha diagnóstica. A atividade da enzima nitrogenase foi influenciada pela inoculação com bactérias diazotróficas e adição de torta de filtro, principalmente na variedade RB92579 no final do ciclo da cana-de-açúcar. A atividade da enzima não foi inibida pela adubação nitrogenada e ainda manteve sua atividade mesmo em plantas não inoculadas e não adubadas com N, evidenciando a efetiva atuação das bactérias nativas associadas à cana-de-açúcar. A FBN contribuiu com 25% do N da cana-de-açúcar e não foi influenciada pela aplicação de torta de filtro, porém foi inibida pelo N aplicado como fertilizante, principalmente na variedade RB867515. A aplicação de torta de filtro potencializou a absorção de N, independente da variedade e as plantas adubadas com N apresentaram maiores teores de N na folha diagnóstica em relação às plantas inoculadas, com exceção da cana-de-açúcar inoculada com *Stenotrophomonas* sp., nas duas variedades.

Palavras-chave: Nutrição nitrogenada. Atividade da nitrogenase. Abundância natural do ^{15}N . Incorporação de resíduos orgânicos.

Biological fixation of nitrogen in sugarcane inoculated with diazotrophic bacteria with no filter cake

Abstract

Nitrogen fertilization in sugarcane from the first crop cycle has been widely used and large amounts of N are often recommended to maintain adequate and competitive levels of productivity. This fertilization impacts the environment and costs the production of the crop. Thus, it is necessary to find viable alternatives that can minimize these adverse effects of N, such as biological fixation, which if associated with organic residues of the sugarcane agroindustry itself, such as filter cake, can provide N by potentiating the residue on the bacteria or be an inoculation substrate for use in the field, without causing deleterious effect on N-fixing bacteria. The objective of this study was to evaluate the biological fixation of N in the second cycle of sugarcane (cane soca) cultivation in different varieties as a function of the inoculation of diazotrophic bacteria combined with filter cake application. An experiment was conducted with two sugarcane varieties (RB867515 and RB92579) inoculated with two bacterial genera (*Pantoea* sp. and *Stenotrophomonas* sp.) That were inoculated separately, composing a treatment each and with the mixture of the two genera in addition to three controls (control without nitrogen, control with nitrogen and residual control of inoculation in the cane plant). Four evaluations were evaluated at 180, 240, 300 and 360 days after regrowth, in which nitrogenase activity was evaluated, the contribution of biological nitrogen fixation by the ^{15}N natural abundance method and the determination of the total nitrogen content in the diagnostic leaf. The activity of the enzyme nitrogenase was influenced by the inoculation of diazotrophic bacteria and addition of filter cake, mainly in the variety RB92579 at the end of the sugarcane cycle. The activity of the enzyme was not inhibited by nitrogen fertilization and still maintained its activity even in plants not inoculated and not fertilized with N, evidencing the effective performance of the native bacteria associated with sugarcane. The biological nitrogen fixation contributed with 25% of the N of the sugarcane and was not influenced by the application of filter cake, but was inhibited by N applied as fertilizer, mainly in the variety RB867515. The application of filter cake potentiated N uptake, regardless of the variety, and N fertilized plants showed higher N contents in the diagnostic leaf compared to inoculated plants, except for sugarcane inoculated with *Stenotrophomonas* sp. both varieties.

Keywords: Nitrogen nutrition. Nitrogenase activity. Natural abundance of ^{15}N . Incorporation of organic waste.

3.1 Introdução

A cana-de-açúcar é cultivada no Brasil desde o século XVI e está associada a um dos mais importantes insumos para o setor industrial. Os principais produtos derivados da cana-de-açúcar são a sacarose e o etanol. Em Pernambuco, a previsão da safra 2016/2017 para a produção de açúcar é de cerca de 1.133,5 milhões de toneladas e para o etanol, estima-se que a safra 2016/2017 alcance uma produção de 363.905 milhões de litros (CONAB, 2016).

Para manter elevadas produtividades em cana-de-açúcar devido a essa grande demanda, ainda é necessário que se faça a utilização de grandes quantidades de fertilizantes, principalmente os nitrogenados, impactando na elevação dos custos de produção da lavoura (OLIVEIRA; NACHILUK, 2011). O N é um nutriente requerido em grandes quantidades para a produção de biomassa da cana-de-açúcar e diante da crise econômica atual, a elevação dos preços dos fertilizantes minerais se tornou um grande desafio para o produtor (CONAB, 2016).

Umesh et al. (2013), trabalhando em campo com cana-de-açúcar na Índia, observaram que a cultura foi capaz de extrair quantidades de N superiores ao que foi aplicado no solo, sugerindo que há a necessidade de mais pesquisas para identificar a origem do N absorvido pela cana-de-açúcar, inferindo que parte do N pode ser oriundo de fonte não mineral.

O acúmulo de N pelas plantas em quantidades expressivamente superiores às quantidades aplicadas nos canaviais tem estimulado a investigação sobre o benefício da interação da cana-de-açúcar com bactérias fixadoras de N e reforça a ideia de que a cultura apresenta de fato uma associação com essas bactérias, usufruindo do N oriundo da fixação biológica. As bactérias diazotróficas são responsáveis por reduzir o N_2 atmosférico a NH_3 por meio da atividade da nitrogenase, que rompe a tripla ligação do N_2 , convertendo-o para que possa ser assimilado pelas plantas (HERRIDGE et al., 2008).

A associação entre plantas e bactérias, denominada de associação simbiótica, pode ocorrer em plantas leguminosas e plantas não leguminosas. Nas plantas leguminosas, a associação entre planta e bactéria pode ser observada a partir da formação de nódulos radiculares (TAIZ; ZIEGER, 2004; FRANCHE et al., 2009). Em plantas não leguminosas, como no caso da cana-de-açúcar, as bactérias fixadoras de N não formam nódulos, mas podem estar presentes livremente na rizosfera ou serem endofíticas, quando colonizam os tecidos internos da planta ou epifíticas, quando presentes na superfície dos tecidos vegetais (KENNEDY et al.; 1992).

A cana-de-açúcar pode ser beneficiada pela interação com bactérias diazotróficas de algumas maneiras diferentes, como: a partir da fixação biológica de N (BODDEY et al., 2003; REIS et al., 2009), que libera N para a planta auxiliando no desenvolvimento e na produtividade da cultura; o N liberado auxilia no processo da fotossíntese e na concentração de sacarose (MARCOS et al., 2016). As bactérias também podem auxiliar a produção de hormônios promotores de crescimento, como o ácido indol acético - AIA (KINKEL et al., 2000); promover a solubilização de fosfatos, disponibilizando P para a cultura (TAULÉ et al., 2011) dentre outros.

A atividade das bactérias pode ser intensificada quando há material no solo servindo como energia para sua atuação. A torta de filtro é um resíduo bastante promissor para ser utilizado como fonte de nutrientes para o cultivo da cana-de-açúcar. O principal nutriente contido na torta de filtro é o P (LIMA, 2011). Em torno de 50% do P da torta de filtro pode ser considerado prontamente disponível. A outra metade deverá ser mineralizada mais lentamente pelas bactérias no cultivo da cana-de-açúcar, quando se incorpora torta de filtro no manejo da cultura.

O material orgânico adicionado ao solo estimula a atuação de bactérias decompositoras uma vez que elas buscam o carbono e outros nutrientes como fonte de energia (SILVA FILHO; VIDOR, 2001), liberando compostos que podem determinar o tipo de benefício que a planta terá em função da associação material orgânico/bactéria. Assim, é importante estudos que promovam a relação do uso de torta de filtro como estimuladora da atividade de bactérias diazotróficas favorecendo a fixação biológica de N, resultando em maior aporte, principalmente de N e P para a cultura da cana-de-açúcar.

Diante disto, esse trabalho objetivou avaliar a fixação biológica de N no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades em função da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Descrição da área experimental

O experimento foi conduzido em condições de campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC/UFRPE) localizada no município do Carpina, Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco. O clima, segundo a classificação de Koppen, é do tipo As' - tropical chuvoso com déficit hídrico nos meses de verão ou verão seco e a vegetação

primária é formada por florestas do tipo subcaducifólias e caducifólias (BELTRÃO et al., 2005). A precipitação pluvial média anual durante a condução do experimento foi de 899 mm (Figura 1).

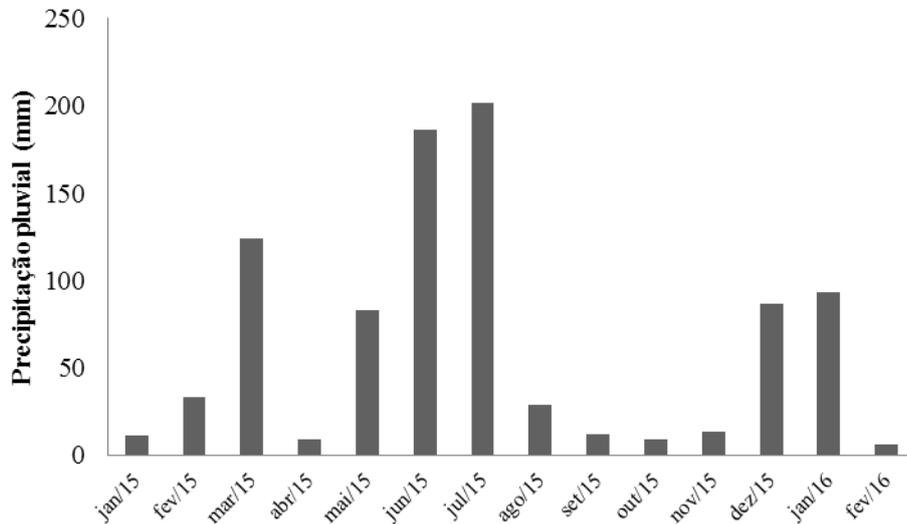


Figura 1. Precipitação pluvial durante o ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do carpina, em Carpina - PE

A área desse ensaio foi oriunda de experimento anteriormente implantado e conduzido, onde foi avaliado todo o primeiro ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana planta) (LIMA, 2016). Sendo assim, foi dado sequência a um campo experimental no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca), cultivado de janeiro de 2015 a fevereiro de 2016. O solo da área de estudo foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrocoeso (SANTOS et al., 2013).

Para a caracterização química e física do solo (Tabela 1), foram realizadas amostragens em duas profundidades: 0,0-0,2 m e 0,2-0,4 m, sendo retiradas três amostras simples para formar uma amostra composta nas áreas das parcelas experimentais.

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo da área experimental em diferentes profundidades

Atributo	Profundidade	
	0,0 – 0,20 m	0,20 -0,40 m
pH água (1:2,5)	5,8	5,4
(H+Al) (cmol _c dm ⁻³)	2,63	2,77
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,73	2,25
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,01	0,01
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,19	0,32
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,03	0,03
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,18	0,11
P (mg dm ⁻³)	2,87	2,42
NT (g kg ⁻¹) ¹	0,29	0,22
COT (g kg ⁻¹) ²	3,34	2,96
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³) ³	3,12	2,69
CTC _{potencial} (cmol _c dm ⁻³) ⁴	5,59	5,16
V (%) ⁵	52,86	46,38
m (%) ⁶	6,11	11,81
Areia Total (g kg ⁻¹)	743	679
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	564	531
Areia Fina (g kg ⁻¹)	179	147
Silte (g kg ⁻¹)	65	109
Argila (g kg ⁻¹)	192	212
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-arenosa
Ds (Mg m ⁻³) ⁷	1,40	1,36
Dp (Mg m ⁻³) ⁸	2,47	2,53
PT (%) ⁹	43,24	46,29
θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹⁰	0,08	0,10
θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,03	0,03

¹Nitrogênio total; ²Carbono orgânico total; ³Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁴Capacidade de troca de cátions potencial; ⁵Saturação por bases; ⁶Saturação por alumínio; ⁷Densidade do solo; ⁸Densidade das partículas; ⁹Porosidade total; ¹⁰Umidade gravimétrica na capacidade de campo; ¹¹Umidade gravimétrica no ponto de murcha permanente.

Para caracterização química do solo, foi aferido o pH em água na proporção (1:2,5), foram determinados os cátions Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺, extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e dosados por espectrofotometria de absorção atômica. Os cátions Na⁺ e K⁺, e o P foram extraídos com Mehlich-1, sendo o Na⁺ e o K⁺ dosados por fotometria de chama e o P dosado por colorimetria. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria (SILVA et al., 2009).

Foram determinados também o carbono orgânico total (COT) por combustão úmida com K₂Cr₂O₇ e titulado com sulfato ferroso amoniacal (SILVA et al., 2009) e o N total do solo por digestão sulfúrica e posterior destilação pelo método Kjeldahl de acordo com a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

De posse dos dados dessas análises químicas, foram calculadas a saturação por bases (V), a saturação por alumínio (m), a capacidade de troca de cátions efetiva ($CTC_{efetiva}$) e a capacidade de troca de cátions potencial ($CTC_{potencial}$). As análises químicas do solo foram realizadas no laboratório de Química do Solo da UFRPE.

Para caracterização física do solo, foram determinadas granulometria, densidade do solo (Ds), densidade das partículas (Dp) e umidades na capacidade de campo (θ_{cc}) e ponto de murcha permanente (θ_{PMP}) (DONAGEMA et al., 2011).

Com os resultados da granulometria do solo foi possível definir a classe textural e com as densidades foi calculada a porosidade total do solo. As análises físicas do solo foram realizadas no Laboratório de Análises de Solos da EECAC-UFRPE

3.2.2 Descrição do experimento

Os tratamentos foram constituídos pela inoculação de diferentes bactérias (*Pantoea* sp, *Stenotrophomonas* sp e uma mistura dessas estirpes) e três testemunhas, na presença e na ausência de torta de filtro e duas variedades de cana-de-açúcar, RB92579 e RB867515. As bactérias utilizadas no ensaio foram oriundas da coleção de bactérias do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) da UFRPE. Elas foram escolhidas por apresentarem características promissoras para a fixação biológica de N, produzir ácido indol acético (AIA), produzir molécula *quorum sensing* capaz de produzir biofilme e solubilizar fosfato inorgânico (LIMA, 2012) (Tabela 2).

Desta forma, o delineamento experimental escolhido foi em blocos casualizados, constando de três tratamentos de inoculação e três testemunhas, na presença e na ausência de torta de filtro, em duas variedades de cana-de-açúcar, formando um arranjo fatorial (6 x 2 x 2), com quatro repetições, perfazendo um total de 96 parcelas experimentais.

Tabela 2. Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), isoladas de plantas de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco

Linhagem	Gênero	Nicho	Variedade
UAGC 865	<i>Pantoea</i> sp (PT)	Rizosfera	RB92579
UAGC 869	<i>Stenotrophomonas</i> sp (ST)	Rizosfera	RB867515
Mistura bacteriana	<i>Pantoea</i> sp + <i>Stenotrophomonas</i> sp (MB)	-	-

Esse ensaio em cana soca foi oriundo de experimento realizado em cana planta que foi composto por quatro tratamentos de inoculação de diferentes estirpes bacterianas: *Pantoea* sp., *Stenotrophomonas* sp, *Burkholderia* sp e uma mistura bacteriana com essas três estirpes. Foram também utilizados dois tratamentos não inoculados: uma testemunha absoluta (TA) não adubada com N e uma testemunha nitrogenada adubada com N (TN). O ensaio foi realizado com duas variedades de cana-de-açúcar: RB92579 e RB867515.

O ensaio em cana soca teve as mesmas testemunhas do ensaio em cana planta, acrescido de uma testemunha oriunda da parcela em que foi inoculada *Burkholderia* sp no experimento em cana planta. Como no ensaio em cana soca não se inoculou essa estirpe bacteriana, se considerou essa parcela como uma testemunha residual da inoculação de *Burkholderia* sp na cana planta (TBr). A inoculação com *Burkholderia* sp não foi realizada porque houve contaminação dessa estirpe.

As parcelas no ensaio da cana soca foram compostas por seis sulcos com três metros de comprimento, espaçados por 1,10 m, totalizando 19,8 m². Essas parcelas foram oriundas do ensaio em cana planta que possuíam 39,6 m² e foram divididas para aplicação da torta de filtro. Nas laterais do ensaio foram marcadas 12 parcelas com as mesmas dimensões das parcelas experimentais do ensaio em cana planta para que houvesse o crescimento de plantas espontâneas que foram utilizadas como plantas de referência para a avaliação da fixação biológica de N pelo método da abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$.

Após a colheita da cana planta foi realizada uma nova adubação de cobertura da cana soca com 100 kg ha⁻¹ de N apenas para a testemunha nitrogenada e 100 kg ha⁻¹ de K para todos os tratamentos empregados (IPA, 2008). As fontes de N e K utilizadas foram sulfato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente. Não foi realizada calagem, porque o pH da camada superficial (0,0-0,2 m) ainda estava em torno de 5,8, o teor de Ca trocável com 2,73 cmol_c dm⁻³ e a saturação por alumínio com 6% (Tabela 1).

Após a adubação de cobertura foi realizada uma nova re-inoculação com as estirpes bacterianas (Tabela 2), 30 dias após o início da rebrota da cana soca, utilizando as mesmas bactérias do ensaio com cana planta, exceto *Burkholderia* sp.

As linhagens bacterianas foram repicadas em placas de Petri (devidamente esterilizadas) contendo o meio TSA (Trypcase Soy Agar) (FARIAS, 2012; LIMA, 2012) para se obter as colônias isoladas. Após este processo, foi preparado meio TSA líquido para servir de pré-inóculo onde as bactérias foram inoculadas e incubadas por 24 horas sob agitação constante (150 rpm). Depois de pronto, o pré-inóculo foi transferido para Erlenmeyers de

1.000 mL contendo meio TSA líquido mantido sob agitação constante (150 rpm) por 72 horas. Após este período, os recipientes foram conduzidos para a área experimental e *in loco*, foi realizada a diluição das bactérias em água, na proporção de 1:50 (BENEDUZI et al., 2013) para atingir 10^8 unidades formadoras de colônias – UFC mL⁻¹ e serem distribuídas nas parcelas correspondentes a cada tratamento de inoculação sendo aplicada em toda a planta (LIMA, 2012).

Aos 180 dias após a rebrota foram aplicados 20 Mg ha⁻¹ de torta de filtro *in natura*, diferenciando as parcelas desse tratamento. A torta de filtro foi aplicada nesse período porque correspondeu ao período de maior incidência de precipitação pluvial (Figura 1). A torta de filtro foi cedida pela Usina Petribu S/A (Tabela 3).

Tabela 3. Atributos químicos da torta de filtro em base seca utilizada no experimento

Atributos	Torta de filtro
pH _{água} (1:2,5)	4,30
Ca (g kg ⁻¹)	0,19
Mg (g kg ⁻¹)	0,04
Na (g kg ⁻¹)	0,08
K (g kg ⁻¹)	6,37
P (g kg ⁻¹)	12,82
N total (g kg ⁻¹)	1,68
Relação C/N (g kg ⁻¹ /g kg ⁻¹)	54
COT (g kg ⁻¹) ¹	90,22
CO _{FAH} (g kg ⁻¹) ²	13,70
CO _{FAF} (g kg ⁻¹) ³	5,06
CO _{FHU} (g kg ⁻¹) ⁴	11,32
SH (g kg ⁻¹) ⁵	30,08
Umidade (%)	68

¹Carbono orgânico total; ²Carbono orgânico na fração ácidos húmicos; ³Carbono orgânico na fração ácidos fúlvicos; ⁴Carbono orgânico na fração humina; ⁵Substâncias húmicas

O pH foi determinado em água na proporção 1:2,5. O Ca, Mg, Na, K e P foram extraídos por digestão nitro-perclórica (SILVA et al., 2009). OS elementos Na e K foram dosados por fotometria de chama, Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e P dosado por colorimetria. O N total foi determinado por digestão sulfúrica e posterior destilação por Kjeldahl (SILVA et al., 2009). O COT foi determinado por digestão via úmida com dicromato de potássio e titulado com sulfato ferroso amoniacal.

As frações ácido húmico, ácido fúlvico, humina e substâncias húmicas foram determinadas de acordo com a metodologia proposta por Mendonça e Matos (2005).

Os tratos culturais do cultivo da cana soca foram realizados de forma manual, uma vez que o uso de herbicidas poderia interferir no desenvolvimento e na atividade das bactérias diazotróficas. Segundo Procópio et al. (2011) o impacto de herbicidas em bactérias diazotróficas reduziria a capacidade de atuação delas em promover o crescimento das culturas em estudo.

3.2.3 Avaliações no campo

3.2.3.1 Determinação da atividade da nitrogenase

As avaliações da atividade da nitrogenase (AN) foram realizadas aos 180, 240, 300 e 360 dias após a brotação da cana soca. A amostragem consistiu na coleta de folhas +1 quando completamente expandidas de três plantas escolhidas aleatoriamente na parcela útil do ensaio, formando uma amostra composta.

As folhas eram acondicionadas em frascos de vidro com volume de 900 mL, que foram hermeticamente fechados para que não houvesse interação com a atmosfera exterior. De cada frasco vedado foi retirado 90 mL de ar com uma seringa formando um vácuo e adicionado 90 mL de gás acetileno para estabilizar a atmosfera interna, sendo mantido em repouso por uma hora. Após este período foi retirado 9 mL da atmosfera interna do frasco e transferido para *vacunteiner* de mesmo volume, adaptando a metodologia descrita por Hardy et al. (1968).

A determinação da AN foi realizada na Universidade Federal de Pernambuco em cromatógrafo a gás com coluna PORAPAK N empacotada, detector de ionização de chama, temperaturas de forno de 70 °C, temperatura de injetor de 130 °C e temperatura de detector de 150 °C e vazões de N₂ (gás de arraste), H₂ e O₂ de, respectivamente 30; 30; e 300 mL min⁻¹.

A estimativa da AN foi calculada de acordo com Boddey et al. (2007) pela seguinte equação:

$$AN = \frac{(E2-E1).V.KE}{244,50. S_E.t.m}$$

Em que:

AN - atividade da nitrogenase (mmol de C₂H₄ h⁻¹ g⁻¹);

E1 - área do pico de etileno na amostra inicial;

E2 - área do pico de etileno na amostra final;

V - volume do frasco (mL);

KE - concentração do pico de etileno no padrão (mg L^{-1});

SE - área do pico de etileno no padrão;

t - tempo de incubação (h);

m - massa do tecido vegetal (g).

3.2.3.2 Determinação da abundância natural do isótopo ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) e Fixação Biológica de Nitrogênio

A determinação da abundância natural do isótopo ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$) foi realizada aos 120 e 360 dias após a rebrota da cana soca, para estudar a contribuição da FBN no início e no final do ciclo da cana soca. A amostragem consistiu na coleta de folhas +1 quando completamente expandidas de três plantas escolhidas aleatoriamente na parcela útil do ensaio, formando uma amostra composta.

As folhas foram pesadas e secas em estufa de aeração forçada de ar a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ até peso constante. Posteriormente estas folhas foram trituradas em moinho de facas e tamisadas em peneira com malha de 100 mesh. A parte aérea da planta de referência (*Pycreus decumbens* T. Koyama) também foi utilizada, seguindo o mesmo procedimento das amostras de cana-de-açúcar.

A técnica de abundância natural de ^{15}N exige equipamentos de muita sensibilidade e precisão, sendo utilizada a espectrometria de massa, baseando-se no princípio de separação de moléculas gasosas ionizadas de acordo com suas massas ao atravessarem um campo magnético (BODDEY et al., 2001). As análises do $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de cana-de-açúcar e da planta de referência foram realizadas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP).

De posse dos resultados de $\delta^{15}\text{N}$ das folhas de cana-de-açúcar e da planta de referência foi estimada a percentagem de N proveniente da FBN pelo método da abundância natural de ^{15}N , segundo a equação proposta por Shearer e Kohl (1986):

$$\% \text{Ndfa} = 100 \cdot \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fix}})}{\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}}$$

Em que:

$\% \text{Ndfa}$ = estimativa da porcentagem de N proveniente da FBN na cana-de-açúcar;

$\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ = estimativa da abundância natural de ^{15}N na planta de referência;

$\delta^{15}\text{N}_{fix}$ = estimativa da abundância natural de ^{15}N na cana-de-açúcar;

A planta de referência geralmente apresenta uma abundância natural de ^{15}N muito semelhante ao do N disponível do solo, enquanto a planta fixadora de N_2 apresenta geralmente valores de abundância de ^{15}N muito menores. Na medida em que a FBN aumenta, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ tende a zero (BALDANI et al., 2009).

3.2.3.3 Determinação de nitrogênio total

A determinação do N total foi realizada aos 360 dias após a rebrota da cana soca. A amostragem consistiu na coleta de folhas +1 quando completamente expandidas de três plantas escolhidas aleatoriamente na parcela útil do ensaio, formando uma amostra composta.

As folhas foram pesadas e secas em estufa de aeração forçada de ar a 65 °C até peso constante. Posteriormente estas folhas foram trituradas em moinho de facas e tamisadas em peneira com malha de 100 mesh.

As amostras foram pesadas e submetidas à digestão sulfúrica e posterior destilação por Kjehldal e titulação com HCl 0,01 mol L⁻¹ (SILVA et al., 2009).

3.3 Análise estatística

Os dados da AN, os valores de $\delta^{15}\text{N}$, a estimativa da percentagem de N proveniente da FBN e o N total foram submetidos à análise da variância (ANAVA). Quando os efeitos principais e as interações foram significativos até o nível de 5% de probabilidade, realizou-se teste de médias de Scott-Knott até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito da interação tratamento de inoculação e torta de filtro na AN foi avaliado aos 300 e 360 dias após a brotação da cana soca, separadamente para cada variedade, porque os picos de atividade da enzima só ocorreram no final do ciclo de cultivo da cana soca.

Para avaliar o efeito dos tratamentos de inoculação versus as testemunhas na AN na presença e ausência de torta de filtro foram realizados contrastes ortogonais separadamente para cada variedade nos tempos 300 e 360 dias após a brotação da cana soca. Os contrastes foram testados pelos testes F e t até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito dos tratamentos de inoculação e da torta de filtro na AN foi avaliado aos 180, 240, 300 e 360 dias após a brotação da cana soca como medida repetida no tempo separadamente para cada variedade, ajustando-se equações de regressão e testando-se os parâmetros pelo teste t até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito da interação tratamento de inoculação e tempo de cultivo da cana soca no $\delta^{15}\text{N}$ e estimativa da percentagem de N proveniente da FBN foi avaliado aos 120 e 360 dias após a brotação da cana soca, separadamente para cada variedade, e nas parcelas onde não se aplicou torta de filtro, para avaliar se o tempo de cultivo pode influir na FBN.

Para avaliar o efeito dos tratamentos de inoculação versus as testemunhas na estimativa da percentagem de N proveniente da FBN foram realizados contrastes ortogonais separadamente para cada variedade nos tempos 300 e 360 dias após a brotação da cana soca.

O efeito da interação tratamento de inoculação e torta de filtro no $\delta^{15}\text{N}$, estimativa da percentagem de N proveniente da FBN e N total foram avaliados aos 360 dias após a brotação da cana soca, separadamente para cada variedade. As testemunhas e os tratamentos inoculados foram contrastados na presença e na ausência de torta de filtro.

O efeito dos tratamentos de inoculação e da torta de filtro no N total foi avaliado aos 180, 240, 300 e 360 dias após a brotação da cana soca como medida repetida no tempo separadamente para cada variedade, ajustando-se equações de regressão e testando-se os parâmetros pelo teste t até o nível de 5% de probabilidade.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Atividade da Nitrogenase (AN)

3.4.1.1 Tratamentos inoculados versus testemunhas

Na Figura 2A, o grupo dos tratamentos inoculados apresentaram AN inferior as testemunhas, exceto para o contraste TA vs IN que foram semelhantes na variedade RB92579. Este comportamento pode refletir a que o tratamento que não recebeu inoculação também manteve a atividade das bactérias nativas.

O comportamento da testemunha residual de *Burkholderia* (TBr) vs (grupo dos tratamentos inoculados (IN) foi inverso quando analisado a variedade RB92579 sem torta de filtro e com torta de filtro separadamente (Figura 2A e C). A aplicação de torta de filtro elevou significativamente a AN, fazendo com que o desempenho dos tratamentos inoculados se assemelhasse a testemunha nitrogenada (TN) e até superasse o da TBr, evidenciando o efeito potencializador da torta de filtro na AN, ou seja, as bactérias inoculadas podem ter elevado o seu potencial de fixar N na variedade RB92579.

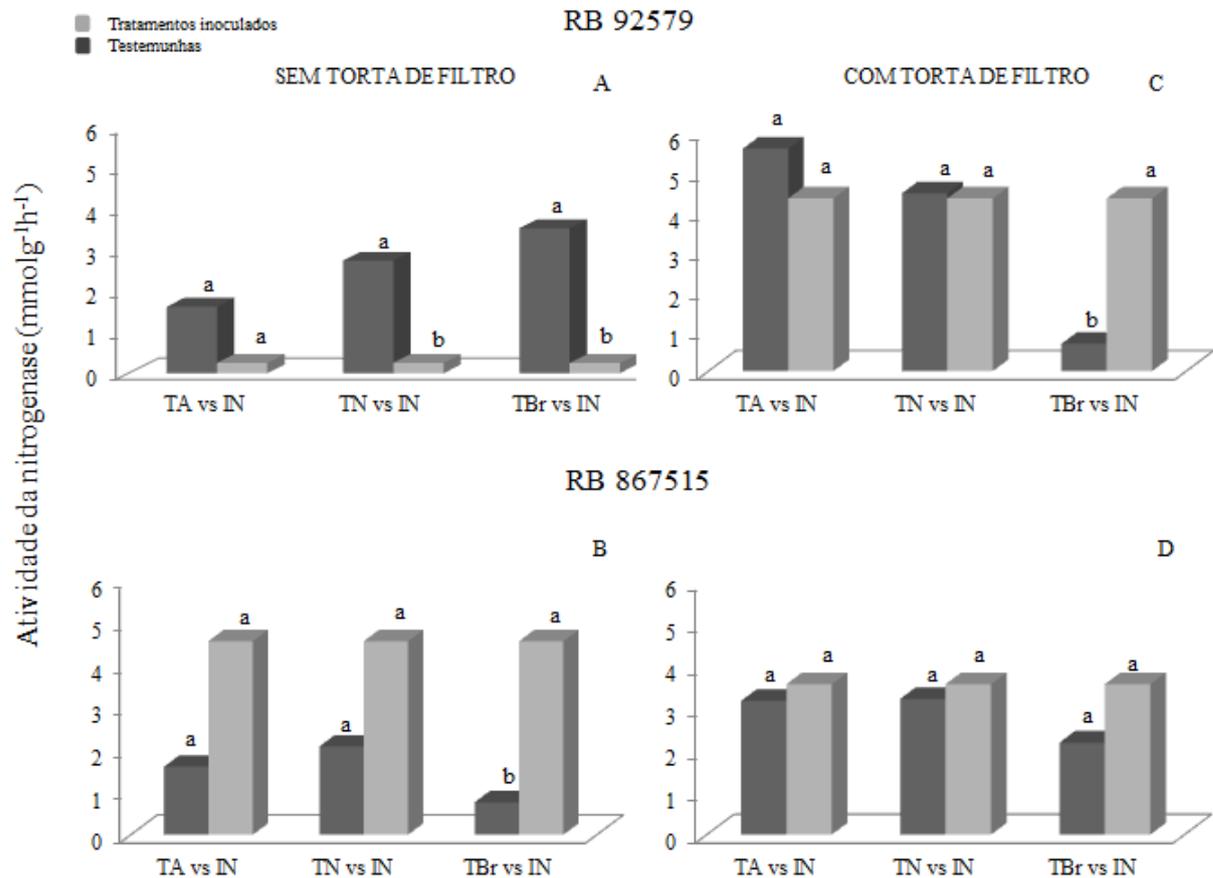


Figura 2. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na atividade da nitrogenase aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Na variedade RB867515 aos 300 DAR, mesmo sem adição de torta de filtro (Figura 2B), as médias dos tratamentos inoculados foram semelhantes às médias das testemunhas, exceto para a TBr. Nesta variedade, o grupo de tratamentos inoculados foi capaz de favorecer a AN mesmo sem a contribuição da torta de filtro. A aplicação da torta de filtro assemelhou os tratamentos inoculados das testemunhas (Figura 2D).

É interessante observar a semelhança entre os tratamentos inoculados e a TN, o que indica efeito positivo da inoculação no fornecimento de N para a cultura da cana-de-açúcar em segundo ciclo de cultivo (cana soca) e o efeito adicional da aplicação de torta de filtro na fixação biológica de N (FBN). Esse aspecto pode ser interessante, porque a torta de filtro é um resíduo das indústrias sucroalcooleiras, ou seja, seu custo de obtenção é praticamente nulo e se utilizado no campo, além do efeito positivo para incrementar os teores de P do solo

(NUNES JUNIOR, 2005), pode ser capaz de contribuir para aumentar a atividade microbiana, se equiparando à adubação nitrogenada.

A atuação do grupo dos inoculados demonstrou que houve aumento da atividade da enzima nitrogenase. Em outras gramíneas esse efeito também pode ser observado, como no trabalho realizado por Araújo et al. (2014) quando inocularam *Azospirillum brasiliense* em plantas de milho e compararam com a adição de quantidades crescentes de N mineral. Os autores observaram que houve aumento significativo nas características comerciais como número e massa das espigas, independente da adubação com N, ressaltando a FBN, contribuindo significativamente para a nutrição nitrogenada da cultura. Aos 360 DAR na variedade RB92579 sem aplicação de torta de filtro observou-se que os contrastes não diferiram estatisticamente, ou seja, os tratamentos inoculados apresentaram médias de AN semelhantes às testemunhas estudadas (Figura 3A).

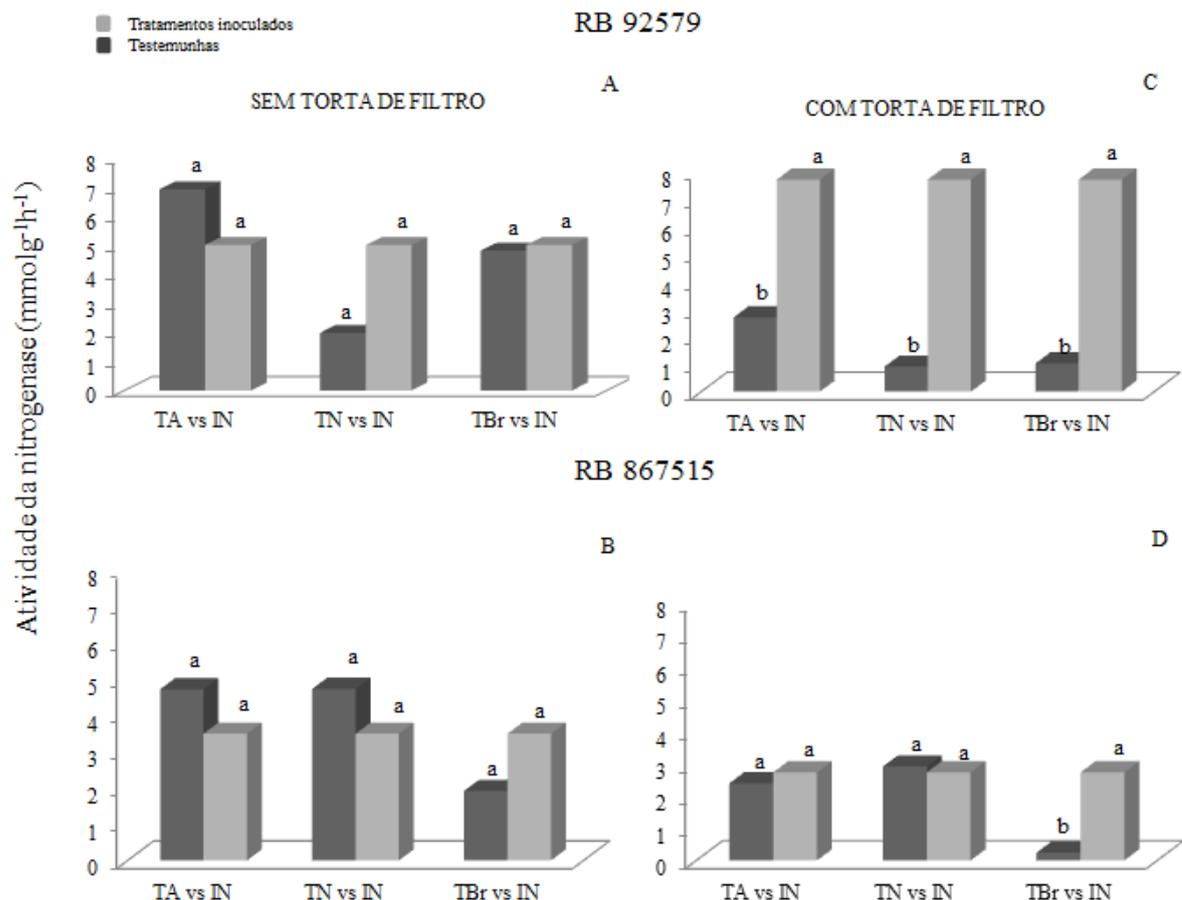


Figura 3. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na atividade da nitrogenase aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem a adição de torta de filtro. (TA vs TN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$).

Desta forma, pode-se inferir que a AN aumentou na presença de bactérias diazotróficas ao longo do tempo. Lima (2016) avaliou a AN em folha +1 de plantas inoculadas com bactérias diazotróficas de cana-de-açúcar em Argissolo Vermelho Amarelo Distrocoeso aos 120, 240 e 360 dias após o plantio e observou que os valores de AN decresceram ao longo do tempo. O trabalho realizado por Lima (2016) foi em cana-de-açúcar no primeiro ciclo de cultivo (cana planta), sendo este comportamento contrário ao que ocorreu neste estudo. Talvez este efeito tenha sido potencializado pelo ano atípico apresentado na socaria, onde a precipitação pluvial foi muito baixa (Figura 1).

É interessante observar como a AN se elevou no tempo 360 DAR (Figura 3A) em relação ao tempo de 300 DAR (Figura 2A) no contraste TA vs IN sem aplicação de torta de filtro na variedade RB92579. Isso demonstra que bactérias nativas foram capazes de promover FBN semelhante aos tratamentos inoculados. Outro fato relevante se deu no contraste TN vs IN, onde mesmo não diferindo estatisticamente, é positivo verificar que o grupo de inoculados conseguiu contribuir para a FBN, fornecendo N para as plantas no mesmo patamar da testemunha nitrogenada. Este aspecto pode ser interessante economicamente, porque os custos de uma inoculação comumente são inferiores se comparados aos custos de uma adubação nitrogenada convencional, além do aspecto ambiental, causado pelo uso excessivo de N.

Quando associado à adição de torta de filtro, o grupo de tratamentos inoculados foi novamente favorecido aos 360 DAR e suas médias foram superiores significativamente para todos os contrastes na variedade RB92579 (Figura 3C). Araújo e Monteiro (2006) estudaram o efeito do uso de resíduo compostado e não compostado sobre os micro-organismos nativos do solo e observaram que o resíduo compostado aplicado ao solo teve efeitos positivos na atividade microbiana e no número de bactérias, melhorando a capacidade de reciclagem do C, ou seja, contribuindo para a atuação dos micro-organismos.

A diferença na AN foi elevada ao se observar o contraste TN vs IN, onde a AN na TN foi bem inferior quando contrastada com o grupo de inoculados, apresentando a menor média ($0,91 \text{ mmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 2C). Araújo et al. (2014), avaliaram o efeito de quantidades crescentes de N comparadas com inoculação de *Azospirillum brasiliense* em plantas de milho, observaram que independente dos tratamentos com aplicação de N, as plantas de milho inoculadas apresentaram uma produtividade superior, quando comparados com as não inoculadas. Ao estudarem a interação N aplicado e tratamentos inoculados, observaram que houve aumento na produtividade, porém só ocorreu com a menor dose de N aplicada. Essa

produtividade foi associada à contribuição do fornecimento de N pelos microrganismos e pela eficiência em absorver o N mineral do solo, ou seja, a associação entre essas duas fontes.

Para a variedade RB867515 sem torta de filtro (Figura 3B), o comportamento na AN foi semelhante ao que ocorreu na variedade RB92579, onde não foram observadas diferenças significativas entre as testemunhas e o grupo de inoculados. O grupo de inoculados apresentou um efeito positivo para a AN.

A aplicação de N ao solo não impede que haja FBN (ARAÚJO et al.; 2014), mas reduzir a quantidade de N aplicado e introduzir fontes alternativas de fornecimento de N para a planta, como bactérias fixadoras de N e promotoras de crescimento, associada com a aplicação de torta de filtro, pode ser muito vantajosos para o produtor.

Aos 360 DAR, quando se adicionou torta de filtro no sistema solo/planta/bactéria, os valores da AN se equilibraram, havendo diferença significativa apenas entre o contraste TBr vs IN (Figura 3D). O comportamento da TBr na variedade RB867515 foi semelhante ao ocorrido com a TBr da variedade RB92579 (Figuras 3C e D), e ao se adicionar torta de filtro, a AN da TBr nas duas variedades decresce significativamente (Figuras 3C e D). De maneira geral, a AN da variedade RB867515 apresentou médias menores com a aplicação de torta de filtro, tanto aos 300, como aos 360 DAR (Figuras 2B e D e Figuras 3B e D). Alguns estudos indicaram que a variedade RB867515 não respondeu a inoculação com bactérias em cana planta e soca (SCHULTZ et al., 2014).

3.4.1.2 Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo

Quando se avaliou a AN na folha +1 da cana soca ao longo do ciclo de cultivo (180, 240, 300 e 360 DAR) em cada tratamento de inoculação e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro, observou-se que os picos da AN ocorreram, de maneira geral, no final do ciclo nas duas variedades (Figuras 4 e 5). Na TA ao se aplicar torta de filtro a maior atividade ocorreu aos 300 DAR, ou seja, ocorreu um pouco mais cedo do que quando não se aplicou a torta de filtro (Figura 4). Este comportamento também foi observado para TN e no tratamento inoculado MB. Para o tratamento inoculado PT, a partir de 240 DAR, a AN cresce progressivamente (Figura 4). Neste estudo observou-se AN no final do ciclo de cultivo. Mesmo a TA foi capaz de promover FBN, indicando que a população nativa também contribuiu com a nutrição de N para a cultura. A variedade RB867515 apresentou baixa AN, porém os dados se ajustaram aos modelos matemáticos quadrático e de peak e, os picos da atividade da enzima ocorreram também no final do ciclo, como na RB92579 (Figura 5). A AN

da TA e da TN apresentaram comportamento semelhante e a adição de torta de filtro proporcionou um pico na atividade da enzima aos 300 DAR, reduzindo posteriormente (Figura 5). Diferentemente do comportamento apresentado pela variedade RB92579, os dados do tratamento inoculado ST na variedade RB867515 ajustaram-se e o pico da AN ocorreu aos 360 DAR quando se aplicou torta de filtro e aos 300 DAR sem aplicação de torta de filtro.

A AN ter se concentrado no final do ciclo da cana soca, pode demonstrar que, apesar de ter havido FBN, o fornecimento de N dessa fonte pode não ter sido aproveitado eficientemente pela cultura, porque é uma fase de maturação, ou seja, concentração de açúcar. O aumento da disponibilidade de N nessa fase pode até ser prejudicial, porque pode atrasar a fase de maturação, encurtando o período de concentração de açúcar. A aplicação de torta de filtro pode antecipar a FBN, quando for aplicada o mais rápido possível após a rebrota. Para isso é necessária umidade suficiente para decomposição.

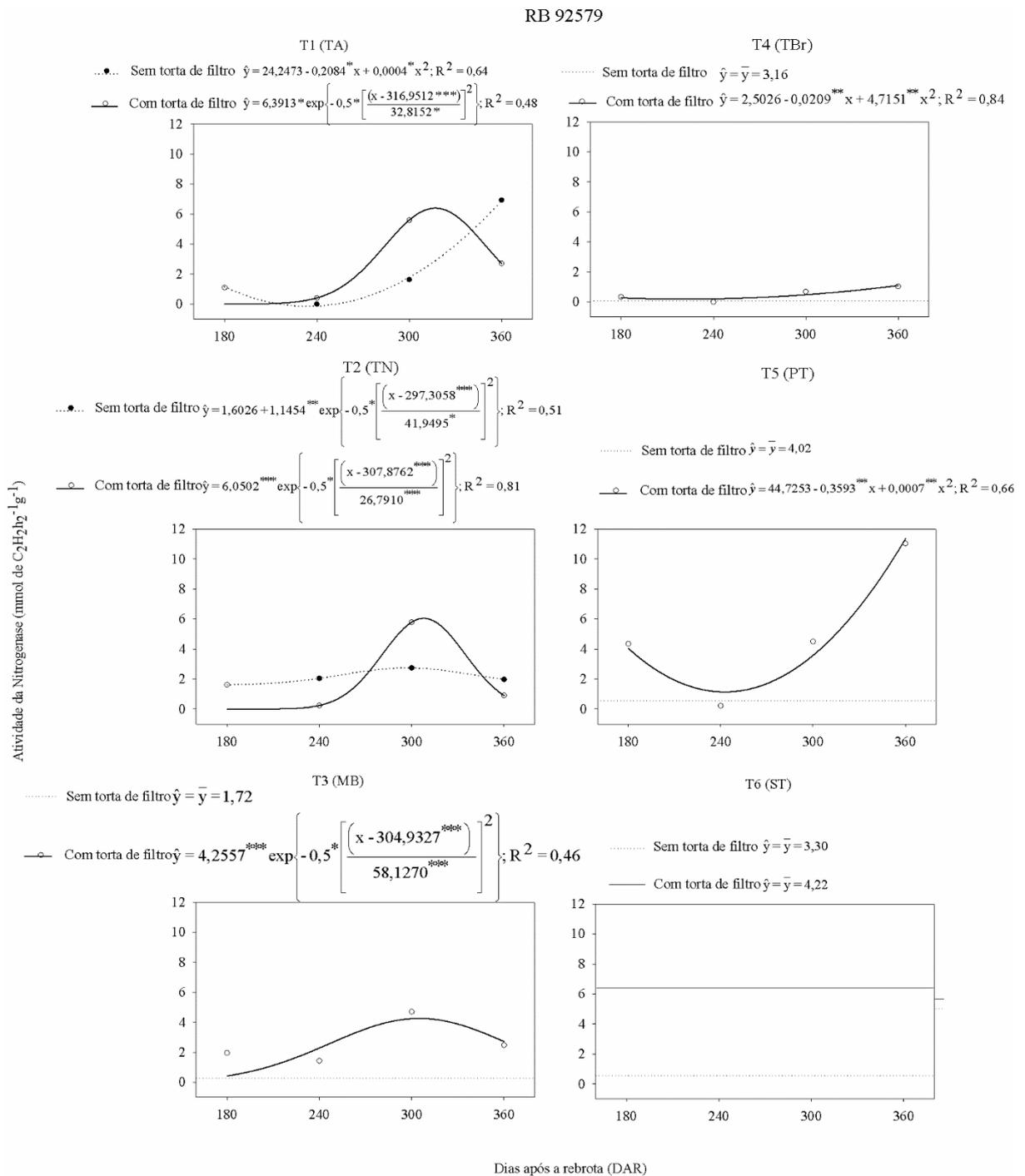


Figura 4. Atividade da nitrogenase em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1 e 0,1 % de probabilidade, respectivamente; ^{ns} Não significativo

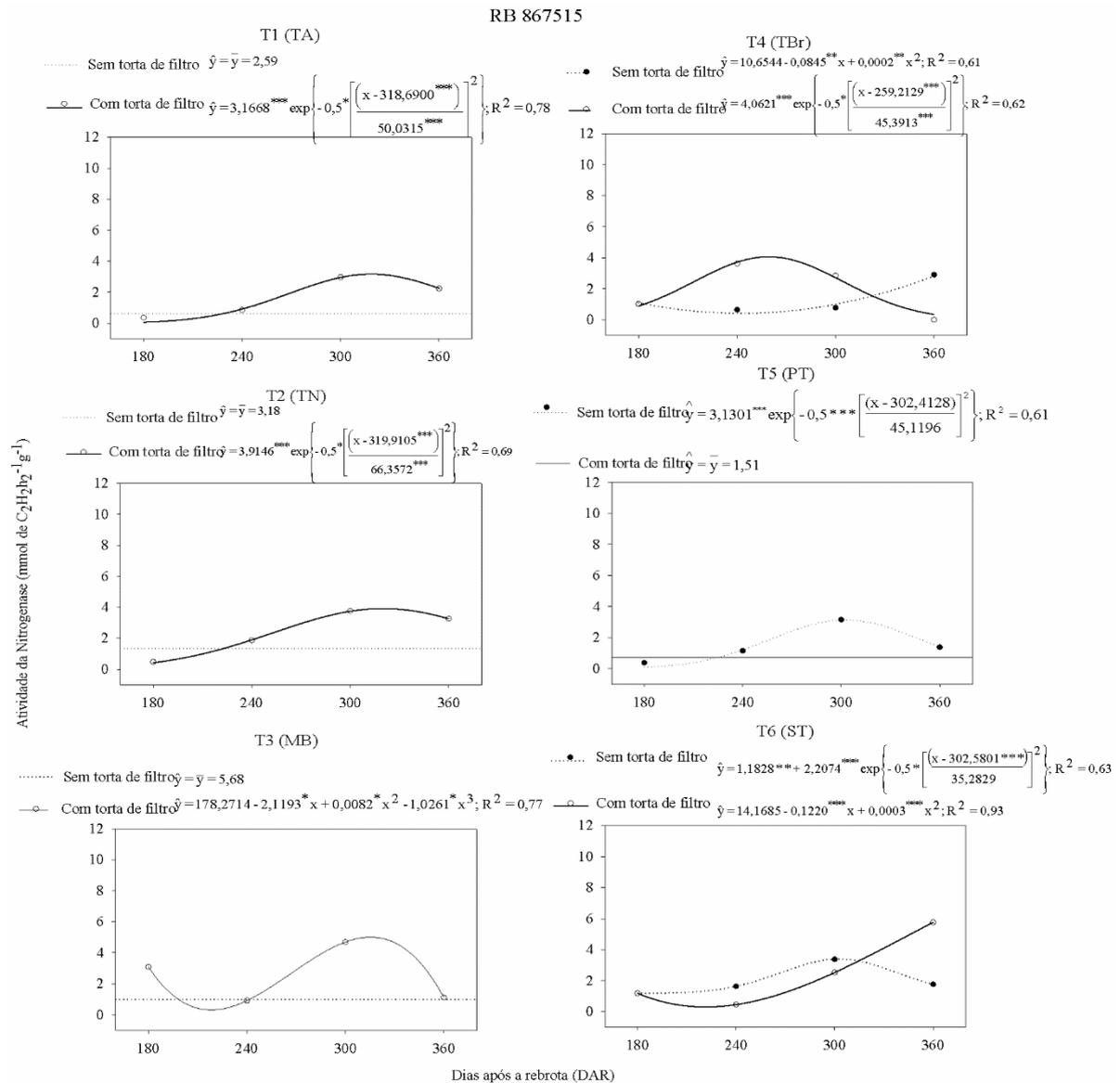


Figura 5. Atividade da nitrogenase em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ns Não Significativo

3.4.1.3 Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro

Como os picos da AN ocorreram no final do ciclo da cultura, para avaliar o efeito da torta de filtro em cada tratamento de inoculação e nas testemunhas foi realizada a análise da variância e teste de comparação de médias nos tempos 300 e 360 DAR, separadamente por variedade (Tabela 4).

Tabela 4. Atividade da nitrogenase nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 300 e 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					Média
	RB92579		Média	RB867515		
	Torta de Filtro			Torta de Filtro		
Sem Torta	Com Torta	Sem Torta	Com Torta	Média		
mmol g ⁻¹ h ⁻¹						
300 Dias						
TA ¹	1,62Ab	5,59Aa	3,61	1,61	3,17	2,38B
TN ²	2,74Aa	4,57Aa	3,66	2,09	3,22	2,65B
MB ³	0,75Ab	4,69Aa	2,72	7,21	4,45	5,83A
TBr ⁴	3,53Aa	0,68Ba	2,11	0,77	2,18	1,47B
ST ⁵	0,00Ab	4,50Aa	2,25	3,15	1,03	2,08B
PT ⁶	0,00Ab	3,85Aa	1,92	3,38	5,25	4,41A
Média	1,44	3,98		3,03	3,29	
	F			F		
Inoculação	1,121 ^{ns}			3,931 ^{**}		
Torta	18,740 ^{***}			0,151 ^{ns}		
Inoculação*Torta	3,785 ^{**}			1,521 ^{ns}		
CV (%)	74,88			74,68		
360 Dias						
TA ¹	6,93Aa	2,70Bb	4,82	4,73	2,39	3,56A
TN ²	1,98Ba	0,91Ba	1,44	4,74	2,91	3,83A
MB ³	1,89Ba	2,10Ba	2,00	4,04	0,84	2,44B
TBr ⁴	4,82Aa	1,03Ba	2,93	1,92	0,24	1,03B
ST ⁵	7,46Aa	11,04Aa	9,25	4,65	4,60	4,63A
PT ⁶	5,71Ab	9,98Aa	7,84	1,81	2,76	2,29B
Média	4,63	4,80		3,63	2,29	
	F			F		
Inoculação	9,951 ^{***}			2,522 [*]		
Torta	0,041 ^{ns}			4,105 ^{ns}		
Inoculação*Torta	3,106 [*]			0,888 ^{ns}		
CV (%)	61,13			75,99		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100. Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott (p>0,05). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo

Na variedade RB92579 aos 300 DAR houve efeito significativo para aplicação de torta de filtro e para a interação entre os tratamentos de inoculação e testemunhas e aplicação de torta de filtro. Quando não se aplicou torta de filtro tanto as testemunhas quanto os tratamentos inoculados foram semelhantes, mas na presença de torta de filtro houve diferença significativa entre os tratamentos e a TBR apresentou a menor média. A média dos tratamentos com aplicação de torta de filtro foi superior aos tratamentos sem torta de filtro.

Isso demonstra que a torta de filtro neste período contribuiu com a atuação das bactérias responsáveis pela AN (Tabela 4).

Este mesmo efeito foi observado no tempo de 360 DAR havendo diferença estatística para a interação. Neste período, sem a aplicação de torta houve diferença entre os tratamentos. Os tratamentos inoculados se diferenciaram da TN, com exceção da MB. Quando se aplicou torta de filtro a AN se elevou no tratamento inoculado PT. No entanto, causou um efeito deletério na TA (Tabela 4). A potencialização da AN pela aplicação e torta de filtro pode ter sido promovida porque o material orgânico é uma fonte de energia para a atividade bacteriana.

Na variedade RB867515 o efeito da interação não foi mais observado havendo diferença estatística apenas para os tratamentos de inoculação e as testemunhas aos 300 e 360 DAR (Tabela 4). Aos 300 DAR, a contribuição da mistura das bactérias e do tratamento de inoculação PT para a AN, quando comparados com a TN foi significativa, o que indica que a presença de bactérias diazotróficas pode elevar a atividade da nitrogenase, liberando N para as plantas.

Aos 360 DAR vale destacar que as plantas da TA, que não receberam adubação nitrogenada e não foram inoculadas com bactérias, conseguiram manter a AN. Significa que mesmo sem a adubação, houve fornecendo de N para as plantas, que pode ter sido da FBN.

Schultz et al. (2014) avaliando duas variedades de cana-de-açúcar verificaram que em ciclo de cana soca, a variedade RB867515 não foi influenciada pela inoculação e também pela adubação nitrogenada, demonstrando que há diferenças entre variedades quando se associa com bactérias. De acordo com Boddey et al. (2001) a variedade da cana-de-açúcar também é um fator importante, pois ainda não há uma variedade que seja considerada ideal e este fato pode ser explicado pela associação que algumas variedades podem fazer naturalmente com a população de bactérias nativas, reduzindo ou anulando os efeitos de inoculação no campo.

Schultz et al. (2012), estudando duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas, observaram que a variedade RB867515 apresentou respostas positivas, havendo incremento no desenvolvimento da cultura, semelhante ao tratamento em que se utilizou 120 kg ha⁻¹ de N fertilizante e uma dose de 15 Mg ha⁻¹ de torta de filtro, aplicada no fundo do sulco no momento do plantio (ciclo de cana planta).

De maneira geral, as respostas encontradas neste trabalho para os tratamentos que receberam bactérias diazotróficas foram positivas para a AN quando comparado com as demais testemunhas e a aplicação de torta de filtro contribuiu para o aumento da AN.

3.4.2 Abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$ e Fixação biológica de nitrogênio

3.4.2.1 Tratamentos inoculados versus testemunhas

A FBN foi avaliada no início e no final do ciclo de cultivo da cana-de-açúcar, ou seja, aos 120 e aos 360 DAR nos tratamentos sem aplicação de torta de filtro, com o objetivo de estudar o efeito dos tratamentos de inoculação e das testemunhas, independente da aplicação de torta de filtro. Foi possível obter esta estimativa nas duas variedades de cana-de-açúcar porque o sinal do $\delta^{15}\text{N}$ da planta de referência (*Pycreus decumbens* T. Koyama) foi superior ao sinal obtido pelas plantas de cana-de-açúcar aos 120 e 360 DAR (+5,96‰ e +5,43‰ respectivamente).

O contraste das testemunhas versus o grupo de tratamentos inoculados aos 120 DAR na variedade RB92579, mostrou que a TA e a TBr versus IN foram semelhantes, no entanto a TN apresentou a menor FBN, quando comparada com o grupo dos IN (Figura 6 A).

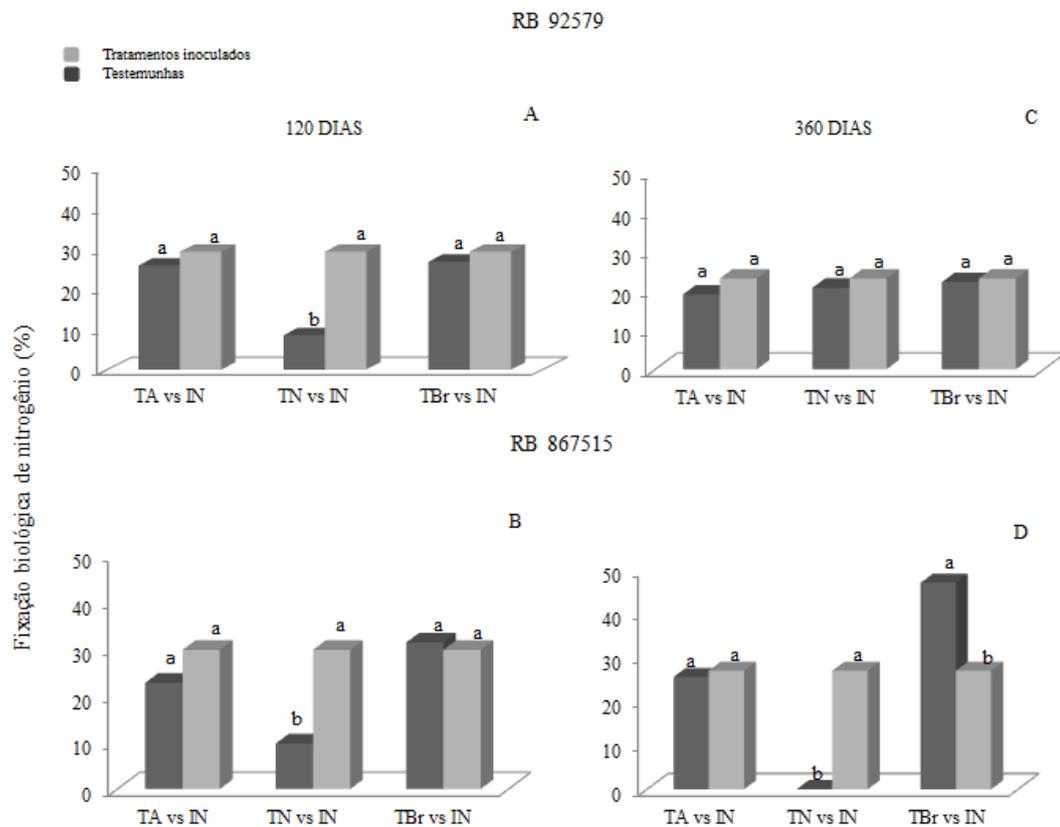


Figura 6. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) aos 120 e aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$).

Algumas pesquisas indicaram que a aplicação de N mineral pode interferir na FBN, mas essa relação é bem definida em leguminosas, porque adubos nitrogenados têm efeito adverso na FBN, interferindo na diminuição de disponibilidade de oxigênio na respiração nodular (DENISON; HARTER, 1995; FAGAN et al., 2007). No entanto, em gramíneas como cana-de-açúcar essa relação depende de vários fatores, como tipo de solo, umidade, variedade dentre outros que ainda precisam ser melhor estudados.

Aos 360 DAR houve uma recuperação da TN, não se observando mais diferença significativa entre essa testemunha e os tratamentos inoculados (Figura 6C). Mesmo cada contraste sendo semelhante, podemos inferir que houve contribuição para a FBN.

Na variedade RB867515, o contraste TN versus IN aos 120 DAR foi o único que apresentou diferença estatística (Tabela 6B). A contribuição da FBN da testemunha nitrogenada foi inferior ao grupo dos tratamentos inoculados, ressaltando a ideia que, independente de qual bactéria está atuando com mais evidência, a presença delas indicou fornecimento de N, favorecendo a cana-de-açúcar. O contraste TA versus IN foi semelhante para FBN (Figura 6B), indicando que a população de bactérias nativas foi suficiente para que houvesse fixação. Quando se promoveu a inoculação, a FBN é mantida não indicando ter havido efeito antagônico por ação de competição.

Aos 360 DAR, o contraste TN versus IN manteve o mesmo comportamento, com redução da FBN na TN ao se aplicar N mineral (Figura 6D), evidenciando que a presença de N pode ter reduzido a atuação das bactérias diazotróficas, o que corrobora com o trabalho de Pereira et al. (2013) que, ao avaliarem o acúmulo de biomassa em variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas, concluíram que a variedade RB867515 é bastante promissora para os estudos de inoculação, desde que o N não seja aplicado em quantidades elevadas.

3.4.2.2 Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo

Para avaliar os tratamentos inoculados e as testemunhas individualmente em função do tempo de cultivo, separadamente para cada variedade, foi realizada uma análise de variância (Tabela 5). Apenas o fator inoculação foi significativo para as duas variedades avaliadas. Na variedade RB92579 aos 4 meses de avaliação (120 DAR), houve diferença estatística para a inoculação. O tratamento inoculado ST foi o que apresentou a maior média, ou seja, foi o

tratamento em que ocorreu a maior FBN, com a bactéria contribuindo com 34,81% do N (Tabela 5).

Tabela 5. Fixação biológica de nitrogênio (FBN) e Abundância natural de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 120 e 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedades					Média
	RB92579		Média	RB867515		
	Tempo			Tempo		
120 dias	360 dias	120 dias	360 dias			
-----FBN ($\delta^{15}\text{N}$)(%)-----						
TA ¹	25,92 (4,41)	18,92 (4,40)	22,42 (4,41) B	22,73 (4,60)	25,60 (4,04)	24,16 (4,32) A
TN ²	8,59 (5,86)	20,62 (5,39)	14,61 (5,63) B	9,73 (6,20)	0,10 (6,11)	4,91 (6,15) B
MB ³	21,89 (4,65)	17,43 (4,74)	19,66 (4,69) B	34,73 (3,89)	33,79 (3,59)	34,26 (3,74) A
TBr ⁴	26,84 (4,36)	22,04 (4,23)	22,45 (4,13) B	31,33 (4,09)	47,09 (2,87)	39,21 (3,48) A
ST ⁵	34,81(3,88)	28,11 (4,36)	31,46 (4,12) A	24,79 (4,48)	17,74 (4,76)	21,26 (4,62) A
PT ⁶	31,20 (4,10)	23,29 (4,16)	27,25 (4,13) B	29,78 (4,18)	29,65 (3,82)	29,71 (4,00) A
Média	24,88 (4,55)	21,74 (4,5)		25,52 (4,57)	25,66 (4,20)	
	F			F		
Inoculação	2,818*			6,541***		
Tempo	1,204 ^{ns}			0,001 ^{ns}		
Inoc*Tempo	1,160 ^{ns}			0,901 ^{ns}		
CV (%)	42,52			52,08		
Planta Referência						
<i>Pycreus decumbens</i> T. Koyama			(5,96/5,43)			(5,92/5,43)

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott ($p > 0,05$).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Apesar de não haver diferido estatisticamente dos demais tratamentos, podemos observar que o único tratamento que teve a menor FBN no início do ciclo de cultivo e também o único a apresentar um aumento na FBN, dentro do mesmo ciclo de cultivo, foi a TN na variedade RB92579 (Tabela 5). Isso demonstra que ao se aplicar N, a atuação das bactérias diazotróficas pode interferir positiva ou negativamente na FBN.

Pereira et al. (2013) constataram que algumas variedades, quando inoculadas, podem acumular mais matéria seca que tratamentos fertilizados com N. No entanto, Gosal et al. (2012) relataram que o uso de inoculante para promover crescimento favorece maior acúmulo de biomassa apenas quando combinado com adubação nitrogenada.

Algumas pesquisas demonstraram que a adubação da cana-de-açúcar com fertilizantes nitrogenados pode diminuir a quantidade de bactérias diazotróficas que sejam capazes de fixar

o N_2 (BODDEY et al, 2003; KENNEDY et al., 2004; REIS et al., 2000). Esta relação ainda necessita de um maior aprofundamento em estudos que determinem a real contribuição da FBN, com o objetivo de promover crescimento e, conseqüentemente, aumento de produtividade em cana-de-açúcar.

Com relação ao $\delta^{15}N$, quanto menor for o valor do sinal, maior será a fixação biológica. No entanto, essa avaliação ainda enfrenta algumas dificuldades devido a grande variabilidade dos dados. Algumas indefinições podem ser observadas quando se deseja identificar uma planta referência que possua o mesmo hábito de crescimento e porte da cana-de-açúcar, bem como a identificação de um genótipo de cana-de-açúcar que demonstre uma melhor interação entre os organismos fixadores de N e as condições edáficas e ambientais, dificultando a estimação de um valor que sirva de referência para a fixação de N_2 (HERRIDGE et al., 2008).

Para a variedade RB867515, o comportamento da TN se inverte, no início do ciclo, houve maior fixação e aos 360 DAR, a fixação se reduziu a quase zero, sendo o tratamento que apresentou a menor FBN (Tabela 6). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente demonstrando que a inoculação foi benéfica para a FBN, até a TA apresentou elevada FBN. Este fato corrobora os dados obtidos por Urquiaga et al. (2012) que, avaliando vários anos de cultivo de cana-de-açúcar, encontraram evidências de FBN após os primeiros ciclos e aumentando nos ciclos subsequentes.

A maioria dos solos das regiões tropicais, tanto os cultivados quanto os sob vegetação nativa, possuem baixos teores de N (HUNGRIA et al., 2007) mas, mesmo nestes solos, a FBN pode ser suficiente para proporcionar altas produções das culturas vegetais.

3.4.2.3 Tratamentos inoculados versus testemunhas em função da aplicação de torta de filtro

Como ficou evidenciado que a maior contribuição para a FBN ocorre no final do ciclo de cultivo, foi necessário verificar se o incremento de matéria orgânica ao solo foi capaz de contribuir para a atuação das bactérias diazotróficas (Figura 7). Nos contrastes ortogonais realizados com a FBN como variável, pode-se perceber a diferença entre o grupo de tratamentos inoculados versus testemunhas para as duas variedades com e sem aplicação de torta de filtro. Na variedade RB92579 aos 360 DAR em que se aplicou torta de filtro houve uma recuperação da FBN da TN passando a ser semelhante estatisticamente aos tratamentos

inoculados (Figura 7C). Os tratamentos inoculados nesta variedade contribuíram significativamente com a FBN em cana-de-açúcar.

Na variedade RB867515, a FBN tanto na TA quanto na TBr com e sem a adição de torta de filtro não apresentaram diferença significativa para os tratamentos inoculados nas duas variedades (Figura 7B e D). Independente da adição de torta de filtro, apenas o contraste TN vs IN da variedade RB867515 manteve o comportamento, sendo mais uma vez a FBN da TN bem menor do que os demais tratamentos, mas não indica que ela não ocorreu.

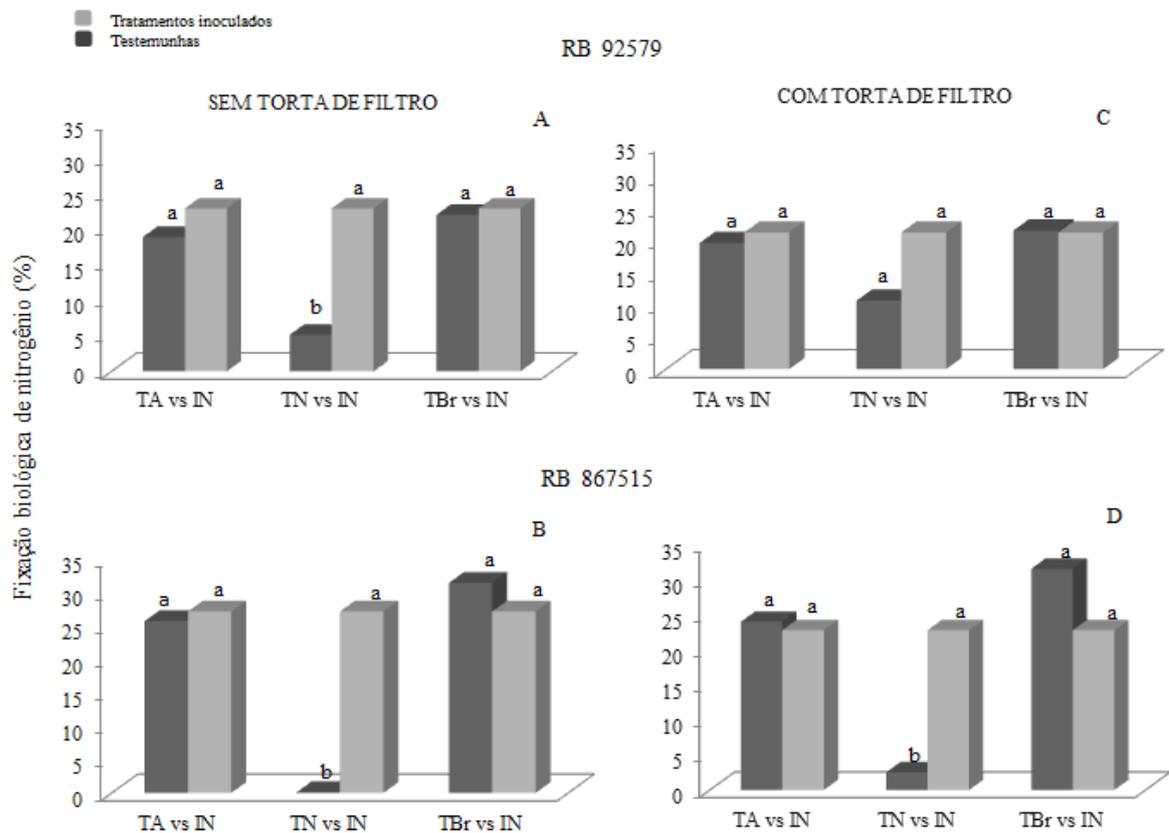


Figura 7. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN) aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Partindo deste princípio, os tratamentos nitrogenados devem ser mais bem avaliados, pois podem mascarar os resultados quando o objetivo é avaliar a FBN porque pode haver efeito antagônico dependendo do tempo de cultivo e da variedade pesquisada.

3.4.2.4 Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro

Para avaliar o efeito da aplicação de torta de filtro em cada tratamento de inoculação e nas testemunhas separadamente, foi realizada uma análise de variância (Tabela 6). Constatou-se que a aplicação de torta de filtro não influenciou a FBN estatisticamente em nenhuma variedade e em nenhum tratamento de inoculação ou testemunha.

Tabela 6. Fixação biológica de nitrogênio (FBN) e Abundância natural de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, com e sem aplicação de torta de filtro, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedades						Média
	RB92579		Média	RB867515		Média	
	Torta de Filtro			Torta de Filtro			
Sem Torta	Com Torta			Sem Torta	Com Torta		
FBN (%) ($\delta^{15}\text{N}$)							
360 dias							
TA ¹	18,92 (4,40)	19,58 (4,77)	19,25 (4,59) A	25,60 (4,04)	24,12 (4,12)	24,86 (4,08) A	
TN ²	5,15 (5,39)	10,63 (4,85)	7,89 (5,12) B	0,10 (6,11)	2,53 (5,53)	1,31 (5,82) B	
MB ³	17,43 (4,74)	18,09 (4,45)	17,73 (4,59) A	33,79 (3,59)	28,59 (3,87)	31,19 (3,73) A	
TBr ⁴	22,05 (4,23)	21,54 (4,26)	21,80 (4,25) A	31,30 (2,87)	31,72 (3,70)	31,51(3,74) A	
ST ⁵	28,11 (4,36)	24,35 (4,11)	26,23 (4,24) A	17,74 (4,76)	16,94 (4,51)	17,34 (4,63) A	
PT ⁶	23,29 (4,16)	21,31 (4,27)	22,30 (4,21) A	29,65 (3,82)	23,25 (4,17)	26,45 (3,99) A	
Média	19,16 (4,55)	19,25 (4,45)		23,03 (4,20)	21,19 (4,32)		
	F			F			
Inoculação	3,727*			8,377***			
Torta	0,001 ^{ns}			0,325 ^{ns}			
Inoc*Torta	0,234 ^{ns}			0,182 ^{ns}			
CV (%)	47,72			50,49			
Planta Referência							
<i>Pycreus decumbens</i> T. Koyama	(5,43)						

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott ($p > 0,05$).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Se a aplicação de torta de filtro não potencializou a FBN dos tratamentos inoculados, também não provocou efeito deletério. Isso é importante, porque a torta de filtro pode ser um bom substrato em estudos de inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar.

Na TN, a FBN ocorreu com menor intensidade tanto na presença quanto na ausência de torta de filtro nas duas variedades. Os tratamentos inoculados apresentaram as melhores contribuições para a FBN, inclusive a TA, o que demonstra que a população nativa também atuou na FBN independente da aplicação de bactérias e da suplementação com torta de filtro.

3.4.3 Nitrogênio total

3.4.3.1 Tratamentos inoculados versus testemunhas

Aos 360 DAR realizou-se uma comparação entre as médias do teor de N nas folhas de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) dos tratamentos inoculados e das testemunhas, com e sem a aplicação de torta de filtro. Os contrastes mostraram que a TN foi a única que apresentou diferença significativa para os tratamentos inoculados (Figuras 8A, B, C e D). As plantas fertilizadas com N estavam mais bem supridas em N do que as inoculadas, independente da aplicação de torta de filtro.

Os fertilizantes são fontes de nutrientes importantes para o desenvolvimento das culturas e são requeridos em diferentes proporções. De acordo com Urquiaga et al. (2012) e Schultz et al. (2012), o genótipo da planta e o teor de matéria orgânica são importantes para o bom desenvolvimento da cana-de-açúcar, fazendo com que se tenha baixas respostas tanto a adubação nitrogenada, como a inoculação de bactérias, tornando mais difícil de comprovar os benefícios causados pelas bactérias promotoras de crescimento vegetal, principalmente no ciclo de cana planta, porém em cana soca, esta questão da associação planta/bactérias e seus benefícios ainda não estão bem elucidadas.

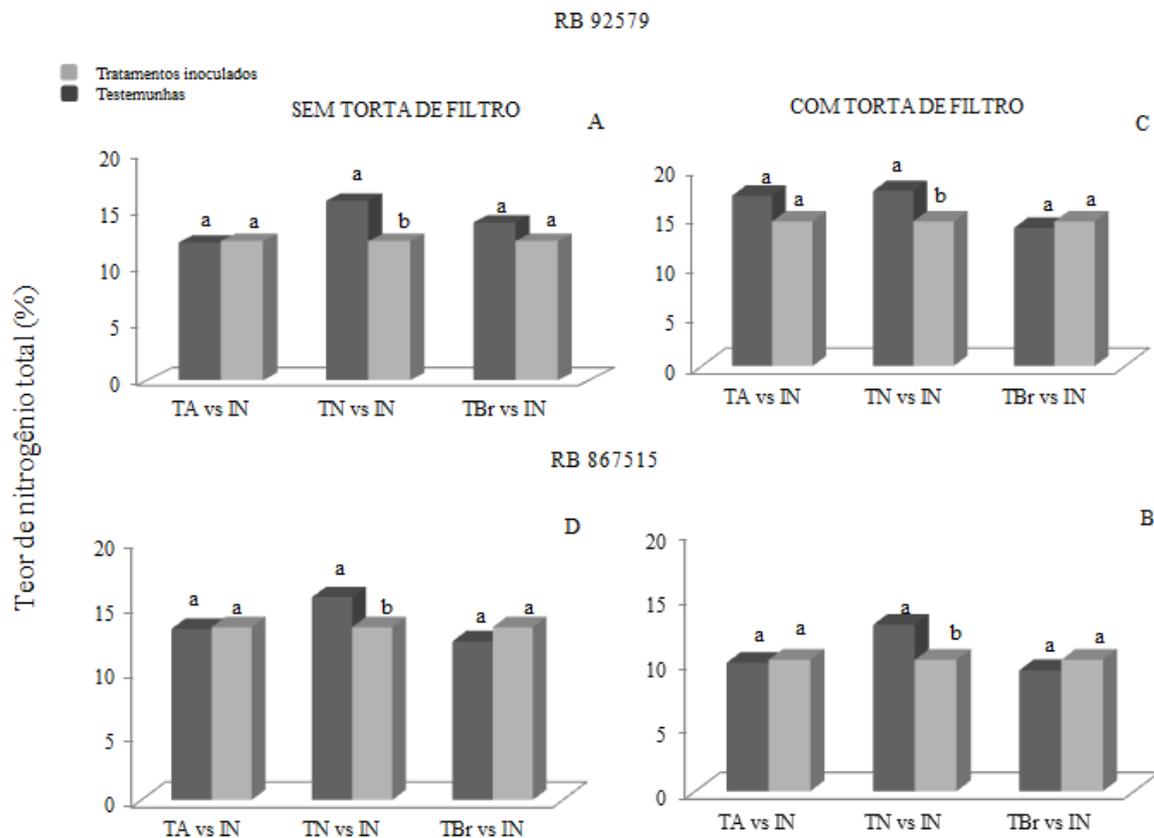


Figura 8. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas no teor de nitrogênio total aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

De maneira geral, o teor de N na folha foi pouco afetado pela inoculação, porém vale a pena ressaltar que o custo de produção de bactérias para serem utilizadas em campo é bastante baixo se comparado com o custo de adubos nitrogenados. Pode ser viável uma parcial substituição da adubação mineral pela orgânica, sem perda na qualidade da matéria-prima e nos rendimentos de colmos (ANJOS et al., 2007).

Quando se observou que não houve diferença significativa entre as médias dos contrastes TA versus IN e TBr versus IN, indicando que a fonte de N para estas testemunhas/tratamentos foi outra que não necessariamente a mineral.

Com relação ao benefício da inoculação sobre a nutrição nitrogenada, alguns trabalhos mostraram que houve resposta positiva no teor de N nas plantas quando inoculadas com

bactérias diazotróficas (LIMA, 2016; SCHULTZ, et al., 2014; MOREIRA et al., 2010). Schultz et al. (2014), avaliando a influência da inoculação de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar, constataram que houve aumento na produtividade da variedade RB72454 comparável a aplicação de uma dose de N equivalente a 120 kg ha^{-1} , mas a eficiência da inoculação foi reduzida nos ciclos subsequentes.

3.4.3.2 Tratamentos inoculados e testemunhas em função do tempo de cultivo

Ao se avaliar o teor de N em função do tempo de cultivo da cana soca, observou-se que os dados apresentaram ajuste matemático do tipo polinomial quadrático e exponencial para a variedade RB92579 e polinomial quadrático para a variedade RB867515 (Figura 9).

Na variedade RB92579 foi possível observar que no início do ciclo os teores de N foram elevados, decresceram até os 300 DAR e depois tenderam a aumentar atingindo o pico aos 360 DAR. Todos os tratamentos apresentaram essa mesma tendência (Figura 9). Esse aumento do teor de N ao final do ciclo coincide com o aumento da AN nesse período (Figura 4).

Da mesma forma que ocorreu com a variedade RB92579, a variedade RB867515 apresentou um maior teor de N na folha +1 no final do ciclo. Os dados nessa variedade também apresentaram ajuste polinomial quadrático e para todos os tratamentos com aplicação de torta de filtro, houve uma melhora na nutrição nitrogenada, porque o teor de N foi maior nesse tratamento do que naqueles onde não se aplicou torta de filtro (Figura 10).

RB 92579

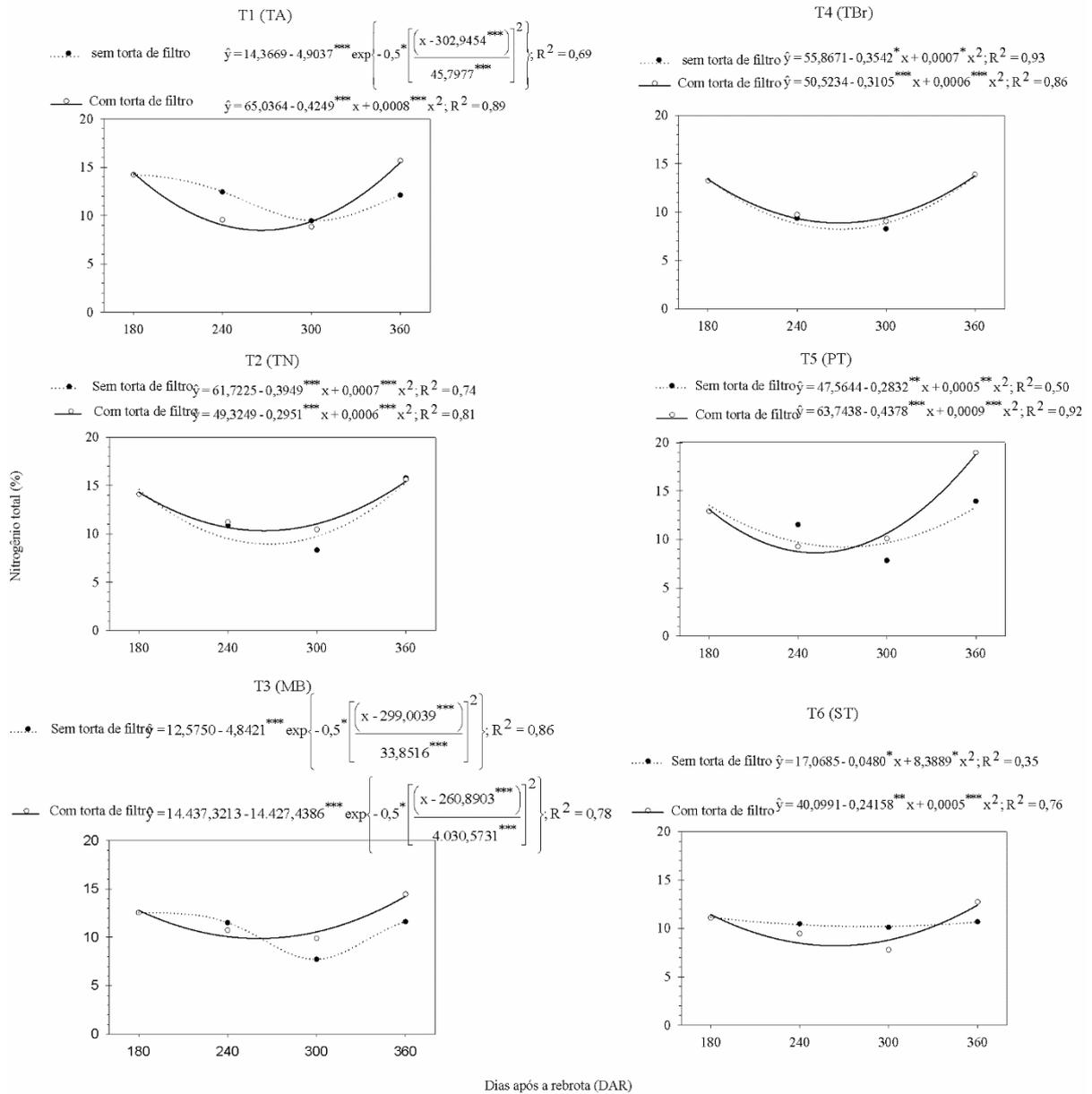


Figura 9. Teor de nitrogênio na folha +1 em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ns Não Significativo

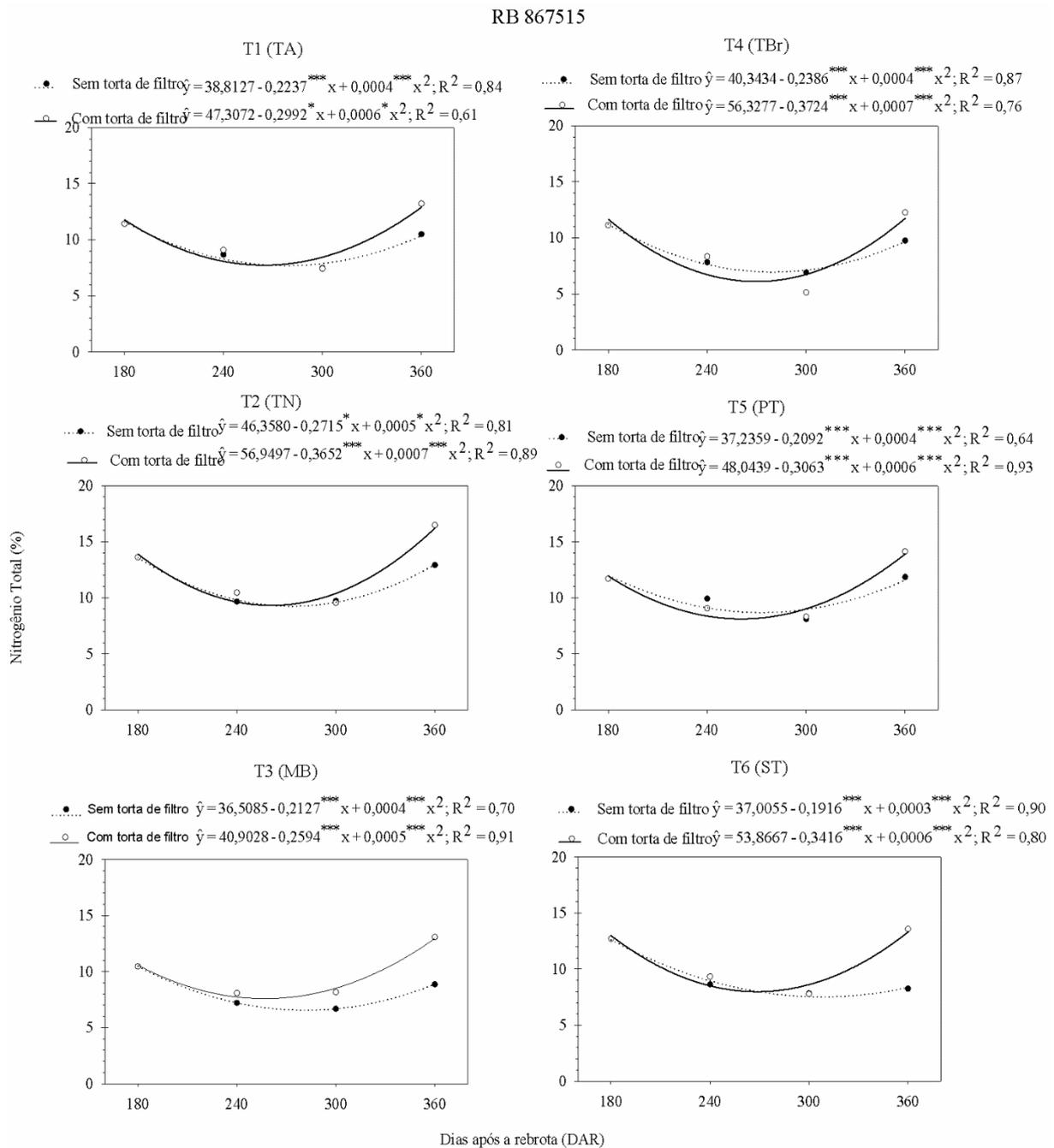


Figura 10. Teor de nitrogênio na folha +1 em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ns Não Significativo

3.4.3.3 Tratamentos inoculados e testemunhas em função da aplicação de torta de filtro

Como o pico do teor de N foi constatado no final do ciclo da cana soca, foi realizada uma análise de variância para avaliar o efeito da aplicação e torta de filtro em cada tratamento de inoculação e nas testemunhas das variedades RB92579 e RB867515 (Tabela 7). Foi possível observar que nas duas variedades houve diferença estatística para inoculação e para adição de torta de filtro, não sendo constatado efeito para a interação desses dois fatores. Na variedade 92579, os tratamentos TA, TN e ST proporcionaram os maiores teores de N na planta (Tabela 7).

Tabela 7. Teor de nitrogênio na folha +1 nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					
	RB92579		Média	RB867515		Média
	Torta de Filtro			Torta de Filtro		
Sem Torta	Com Torta		Sem Torta	Com Torta		
----- % -----						
360 dias						
TA ¹	12,11	17,11	14,61A	9,97	13,23	11,60B
TN ²	15,78	17,60	16,69 A	12,91	15,68	14,29A
MB ³	12,77	13,89	13,33B	9,17	12,21	10,69B
BKr ⁴	13,88	13,89	13,39B	9,38	12,27	10,82B
ST ⁵	12,67	16,10	14,38A	11,86	14,63	13,24A
PT ⁶	11,27	13,65	12,46B	9,55	13,23	11,18B
Média	13,08b	15,38a		10,48b	13,47a	
	F			F		
Inoculação	2,787*			6,152**		
Torta	10,684**			38,551***		
Inoc*Torta	1,047 ^{ns}			0,036 ^{ns}		
CV (%)	17,09			13,96		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott ($p > 0,05$).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Na variedade RB867515 o maior teor de N foi constatado na TN e no ST. Os demais tratamentos diferiram estatisticamente destes, mas mesmo diferentes ainda podem ser considerados satisfatórios por apresentarem teores de N próximos a TN, inclusive a TA, demonstrando ter havido contribuição de N por outra via que não a mineral (Tabela 7). Ressalte-se também o desempenho da bactéria *Stenotrophomonas* sp, porque demonstrou ter sido a bactéria mais eficiente na fixação de N.

O efeito da torta de filtro sobre o teor de N nas plantas evidenciou que houve contribuição desse resíduo para a cana-de-açúcar. O aporte de resíduo vegetal proporcionou esse aumento de N no final do ciclo.

Como a torta de filtro foi adicionada ao solo no início do período de maior precipitação pluvial para que o material orgânico pudesse ser mineralizado e levando em consideração que o sistema radicular da cana-de-açúcar já se encontrava bem estabelecido, a aplicação de torta só favoreceu a absorção do N pela planta. Sem a presença de torta de filtro, a variedade RB867515 apresentou os menores teores de N (Tabela 7).

Otto et al. (2013), ao avaliarem o impacto da mineralização do N do solo em resposta a adubação nitrogenada na cultura da cana-de-açúcar, constataram retorno do N ao solo proporcionado pelo uso de subprodutos da cana-de-açúcar, como vinhaça e torta de filtro e afirmaram que é bastante satisfatório o uso desses resíduos, e que a gestão deles associados ao uso de N mineral devem ser considerados no manejo da cultura, porque muitas vezes a aplicação de N mineral pode subestimar a produção ou gerar perdas significativas em termos econômicos por não ser uma forma necessariamente barata.

Rolz et al. (2010), trabalhando com compostagem de resíduos industriais de cana-de-açúcar, como torta de filtro e bagaço, associado à borra de café, constataram que a adição isolada de torta de filtro ou de bagaço não causaram diferença significativa nas propriedades químicas e físicas do solo, porém a mistura desses resíduos bem compostada causou incremento de alguns elementos, beneficiando a cultura.

Sabe-se que o N não possui uma grande contribuição na massa seca total da cana-de-açúcar, mas seu papel é tão importante quanto o do carbono, hidrogênio e oxigênio e que constituem juntos mais de 90% da matéria seca. No solo, o N disponível às plantas é suprido pela mineralização da matéria orgânica, fixação biológica e adição de fertilizantes nitrogenados, desta forma, o efeito da torta de filtro nas duas variedades, mesmo em um curto período de tempo, foi essencial para o incremento deste elemento na planta.

Em regiões onde a precipitação pluvial é pequena ou bastante irregular, aplicar resíduos que façam cobertura da área ou incorporados ao solo contribui para elevar a produtividade da cana-de-açúcar favorecendo um aumento do teor de N para a planta (GAVA et al., 2001; COSTA et al., 2013). Assim, no final do ciclo da cana soca tanto o uso de bactérias quando a adição de torta de filtro foi essencial para a manutenção do teor de N total na planta.

3.5 Conclusões

A atividade da enzima nitrogenase foi influenciada pela inoculação de bactérias diazotróficas e adição de torta de filtro, principalmente na variedade RB92579 no final do ciclo da cana-de-açúcar. A atividade da enzima não foi inibida pela adubação nitrogenada e ainda manteve sua atividade em plantas não inoculadas e não adubadas com N, evidenciando a efetiva atuação das bactérias nativas associadas à cana-de-açúcar;

A FBN contribuiu com 25% do N da cana-de-açúcar, não foi influenciada pela aplicação de torta de filtro, porém foi inibida pelo N aplicado como fertilizante, principalmente na variedade RB867515.

A aplicação de torta de filtro potencializou a absorção de N, independente da variedade, e as plantas adubadas com N apresentaram maiores teores de N na folha diagnóstica em relação às plantas inoculadas, com exceção da cana-de-açúcar inoculada com *Stenotrophomonas* sp., nas duas variedades.

Referências

- ANJOS, I. A.; ANDRADE, L. A. B.; GARCIA, J. C.; FIGUEIREDO, P.A.M.; CARVALHO, G.J. Efeitos da adubação orgânica e da época de colheita na qualidade da matéria-prima e nos rendimentos agrícola e de açúcar mascavo artesanal de duas cultivares de cana-de-açúcar (cana planta). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.59-63, 2007.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Microbial biomass and activity in a Brazilian soil plus untreated and composted textile sludge. **Chemosphere**, Oxford, v. 64, n. 6, p. 1043-1046, 2006.
- ARAUJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, p. 1556-1560, 2014.
- BALDANI, J.I.; TEIXEIRA, K.R.S.; SCHWAB, S.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A.S.; SEGUNDO URQUIAGA; REIS, V.M.; NOGUEIRA, E.M.; ARAUJO, J.L.S.; BORGES, L.E.; SOARES, L.H.B.; VINAGRE, F.; BALDANI, V.L.D.; CARVALHO, T.L.G.; ALVES, B.J.R.; JAMES, E.K; JANTALIA, C.P.; FERREIRA, P.C.G.; VIDAL, M.S.; BODDEY, R.M. Fixação Biológica de Nitrogênio em Plantas da Família *Poaceae* (Antiga *Graminea*) In: ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em Ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa v.6, p.203-271, 2009.
- BELTÃO, B. A. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina. [s.l.] **CPRM - Serviço Geológico do Brasil**, p. 11, 2005.

BENEDUZI, A.; MOREIRAB, F.; COSTA, P. B.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AVRETO, R.; BALDANI, J. I.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, Netherlands, v. 63, n. 3, p. 94-104, 2013.

BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; RESENDE, A. S. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Benthelam, v. 252, n. 1, p. 139–149, 2003.

BODDEY, R. M.; POLIDORO, J. C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Use of the ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N_2 fixation to grasses and cereals. **Australian Journal of Plant Physiology**, Australia, v.28, n. 1, p.889-895, 2001.

BODDEY, R. M.; SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; Bio-ethanol production in Brazil. **Biofuels, Solar and Wind as Renewable Energy Systems: Benefits and Risks**, Netherlands, p. 321–356, 2007.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento - **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, dezembro/2016**. – Brasília: Conab 2016.

COSTA, L. G.; MARIN, F. R.; NASSIF, D. S. P.; PINTO, H. M. S.; LOPES-ASSAD, M. L. R. C. Simulação do efeito do manejo da palha e do nitrogênio na produtividade da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 5, p. 469-474, 2013.

DENISON, R. F.; HARTE, B. L. Nitrate Effects on Nodule Oxygen Permeability and Leghemoglobin (Nodule Oximetry and Computer Modeling). **Plant Physiology**, Rockville, v.107, n.4, p.1355-1364, 1995.

DONAGEMA, G. K. **Manual e métodos de análise de solo**. 2ª Edição, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Solos, Rio de Janeiro, 230 p, 2011.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; DOURADO NETO, D.; SIMON, J.; JONG VAN LIER, Q.; SANTOS, O. S.; MULLER, L. Physiology of biologic fixation nitrogen in soybean – a review. **Revista da FZVA**, Rio Grande do Sul, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FARIAS, A. R. B.; LIMA, D. R. M.; LIRA-CADETE, L.; RAMOS, A. P. S; SILVA, M. C. B; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Promoção de crescimento vegetal de feijão comum por bactérias isoladas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**. Recife, v. 17, n.1, p. 101-104, 2012.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, Benthelam, Australia, v. 321, n. 1-2, p. 35-59, 2009.

GAVA, G. J. C.; TRIVELIN, P. C. O.; OLIVEIRA, M. W.; PENATTI, C. P. Crescimento e acúmulo de nitrogênio em cana-de-açúcar cultivada em solo coberto com palhada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1347-1354, 2001.

- GOSAL, S.K.; KALIA, A.; UPPAL, S.K.; KUMAR, R.; WALIA, S.S.; SINGH, K.; SINGH, H. Assessing the benefits of *Azotobacter bacterization* in sugarcane: a field appraisal. **Sugar Tech**, New Delhi, v.14, p.61-67, 2012.
- HARDY, R. W. HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. **Plant physiology**, Rockville, v. 43, n. 8, p. 1185–1207, 1968.
- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, Benthalem, v. 311, n. 1-2, p. 1–18, 2008.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: **Embrapa Soja**, 2007. 69p. (Embrapa Soja. Série Documentos, 283).
- IPA– Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco**. 2ª ed. Recife, 2008. 198p.
- KENNEDY, I. R.; TCHAN, Y-T. Biological nitrogen fixation in non-leguminous fields crops: Recent advances. **Plant and Soil**, Benthalem, v. 141, n. 1-2, p. 93-118, 1992.
- KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A.T.M.A.; KECSKÉS, M.L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.36, n.8, p.1229-1244, 2004.
- KINKEL, L.L., WILSON, M., AND LINDOW, S.E. Plant species and plant incubation conditions influence variability in epiphytic bacterial population size. **Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p.1-11, 2000.
- LIMA, C. C. Disponibilidade de fósforo para a cana-de-açúcar em solo tratado com compostos orgânicos ricos em silício **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 12, p. 1222-1227, 2011.
- LIMA, D. R. M. **Bactérias fixadoras de nitrogênio associadas a plantas de cana-de-açúcar cultivadas em Pernambuco**. 2012. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). UFRPE, Recife-PE, 2012.
- LIMA, D. R. M. **Fixação biológica de nitrogênio e nutrição nitrogenada em cana planta inoculadas com bactérias diazotróficas**. 2016. 90 p. Tese de doutorado. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2016.
- MARCOS, F. C. C.; ÍÓRIO, R. P. F.; SILVEIRA, A. P. D.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; LAGÔA, A. M. M. A. Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. **Bragantia**, Campinas, 2016. Disponível em: <DOI:http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.256>
- MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2005. 107p.

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

NUNES JÚNIOR, D. O insumo torta de filtro. **IDEA News**, Ribeirão Preto, 2005.

OLIVEIRA, M. D. M., NACHILUK, K. Custo de produção de cana-de-açúcar nos diferentes sistemas de produção nas regiões do estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.41, n.1, p. 5-33, 2011.

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 Soil**, Berlin, v. 49, n.7, p. 893-904, 2013.

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. **Ciência Agrônômica**, Ceará, v.44, n. 2, p.363-370, 2013.

PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 1079-1089, 2011.

REIS JR., F.B.; SILVA, L.G.; REIS, V.M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.5, p.985-994, 2000.

REIS, V. M.; URQUIAGA .; PEREIRA, W.; HIPÓLITO, G.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; BAPTISTA, R. B.; MORAES, R. F.; SCHULTZ, N. Eficiência agrônômica do inoculante de cana-de-açúcar aplicado em três ensaios conduzidos no Estado do Rio de Janeiro durante o primeiro ano de cultivo. **Embrapa Agrobiologia -Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento-45**, Seropédica, 2009.

RESENDE, A.S.; XAVIER, R.P.; DE OLIVEIRA, O.C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugar cane and soil carbon and nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, N.E. Brazil. **Plant and Soil**, Benthelam, v. 281, n. 1-2, p. 339–351, 2006.

ROLZ, C.; LEÓN, R. DE.; CIFUENTES, R. PORRES, C. Windrow composting of sugarcane and coffee byproducts. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 12, n. 1, p. 15-20, 2010.

SANTOS, H. G. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3ª Edição, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Solos, Rio de Janeiro, 2013.

SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. B.; ALVES, J. B. R.; BALDINI, 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.

SCHULTZ, N.; SILVA, J. A. D.; SOUSA, J. S., MONTEIRO, R. C., OLIVEIRA, R. P., CHAVES, V. A., REIS, V. M. Inoculation of sugarcane with diazotrophic bacteria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, n.2, p. 407–414, 2014.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2ª Edição rev. ampl, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Informação Tecnológica, Brasília, 627 p, 2009.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C.. Atividade de micro-organismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1495-1508, 2001.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3ª ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.

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**. Benthelem, v.356, n.1-2, p. 347-400, 2011.

TEDESCO, M.J. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2ªed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

UMESH, U. N.; KUMAR, V., ALAM, M., SINHA, S. K., VERMA, K.. Integrated Effect of Organic and Inorganic Fertilizers on Yield, Quality Parameter and Nutrient Availability of Sugarcane in Calcareous Soil. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, n. 4, p. 365–369, 2013.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F.; BATISTA, R. B.;SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; MAIA E SÁ, J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S.; ALVEZ, B. J. R.; BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Pant and Soil**, Benthelem, v. 356, n. 1-2, p. 5-21, 2012.

**4 FISIOLOGIA, NUTRIÇÃO, CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE CANA-DE-
AÇÚCAR INOCULADA COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS COM E SEM
TORTA DE FILTRO**

Fisiologia, nutrição, crescimento e produtividade de cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas com e sem torta de filtro

Resumo

O N para os vegetais é um elemento necessário interferindo diretamente no seu desenvolvimento. O aporte de N para cana-de-açúcar ainda necessita ser melhor esclarecido, uma vez que o balanço de N na cultura indica que a planta absorve N de fonte não mineral, indicando que há contribuição de bactérias fixadoras neste processo. Adicionalmente, a aplicação de resíduos orgânicos pode ainda mais contribuir para incrementar esse aporte de N em cana-de-açúcar, principalmente se essas duas fontes de nutrientes se associarem, seja para potencialização uma da outra ou solução biotecnológica do resíduo enriquecido com as bactérias. De uma forma ou de outra, isso pode acarretar maiores taxas fotossintéticas, aumento do crescimento vegetativo, devido à adequada nutrição da planta, que irá refletir em maiores produtividades agrícola e industrial. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os teores das clorofilas *a* e *b*, as variáveis de crescimento vegetativo, a nutrição e a produtividade agrícola e industrial no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades de cana-de-açúcar em função da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro. Foi conduzido um experimento com duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e RB92579) inoculadas com dois isolados bacterianos (*Pantoea* sp. e *Stenotrophomonas* sp.) que foram inoculados separadamente compondo um tratamento cada e outro com a mistura dos dois gêneros bacterianos, além de três testemunhas (testemunha sem nitrogênio, testemunha com nitrogênio e testemunha residual de inoculação na cana planta). Foram realizadas quatro avaliações nos tempos 180, 240, 300 e 360 dias após a rebrota, nas quais foram avaliados os teores de clorofila *a* e *b* na folha diagnóstica e o crescimento vegetativo (diâmetro, altura da planta, número de folhas) nas plantas de cana-de-açúcar. Aos 240 dias após a rebrota foi determinado o estado nutricional (teores de N, P, K, Ca, Mg e S na folha diagnóstica) e na colheita foi mensurada a produtividade agrícola e industrial da cana-de-açúcar. A aplicação de torta de filtro favoreceu a pigmentação fotossintética apenas na variedade RB92579, independente da inoculação das bactérias diazotróficas e da aplicação de N. Os picos fotossintéticos só ocorreram aos 300 dias após a rebrota da cana soca. Nutricionalmente, a torta de filtro elevou os teores de P nas duas variedades, o teor de K na variedade RB867515 e causou um efeito deletério muito significativo no teor de Mg, independente da variedade. A adubação mineral de N elevou os teores de N na folha diagnóstica, porém não se diferenciou das plantas inoculadas com *Stenotrophomonas* sp. A adubação nitrogenada também favoreceu a nutrição do S nas duas variedades. A produtividade agrícola e industrial das plantas adubadas não se diferenciou das plantas inoculadas com bactérias diazotróficas, independente da aplicação de torta de filtro.

Palavras-chave: Fixação biológica de N. Estado nutricional da cana de-açúcar. Pigmentos fotossintéticos. Crescimento vegetativo. Resíduos orgânicos.

Physiology, nutrition, growth and productivity of sugarcane inoculated with diazotrophic bacteria with and without filter cake

Abstract

The N for plants is a necessary element interfering directly in productivity. The contribution of N to sugarcane still needs to be better clarified, since the N balance in the crop indicates that the plant absorbs N from a non-mineral source, indicating that there is a contribution of fixing bacteria in this process. In addition, the application of organic residues can further contribute to increase this contribution of N in sugarcane, especially if these two sources of nutrients are associated, either to potentiate each other or biotechnological solution of the residue enriched with bacteria. From one or the other, this may impact on higher photosynthetic rates, increased vegetative growth, due to adequate nutrition of the plant, which will reflect in greater agricultural and industrial productivity. Thus, the objective of this work was to evaluate the levels of chlorophyll a and b, the variables of vegetative growth, nutrition and agricultural and industrial productivity in the second cycle of sugarcane (cane-soca) cultivation in different varieties due to Inoculation of diazotrophic bacteria combined with application of filter cake. An experiment was conducted with two sugarcane varieties (RB867515 and RB92579) inoculated with two bacterial genera (*Pantoea* sp. and *Stenotrophomonas* sp.) that were inoculated separately, composing a treatment each with the mixture of the two genera In addition to three controls (control without nitrogen, control with nitrogen and residual control of inoculation in the cane plant). Four evaluations were performed at 180, 240, 300 and 360 days after regrowth, in which the chlorophyll levels *a* and *b* were evaluated in the diagnostic leaf and the vegetative growth (diameter, plant height, number of leaves) in sugarcane plants. After 240 days of regrowth, the nutritional status was determined, determining the levels of N, P, K, Ca, Mg and S in the diagnostic leaf and the harvest was measured the agricultural and industrial productivity of sugarcane. The application of filter cake favored the photosynthetic pigmentation only in the variety RB92579, independent of the inoculation of the diazotrophic bacteria and the application of N. The photosynthetic peaks occurred only 300 days after regrowth of soca cane. Nutritionally, the filter cake raised the P contents in the two varieties, the K content in the variety RB867515 and caused a very significant deleterious effect on the Mg content, regardless of the variety. The application of N increased the levels of N in the diagnostic leaf, but did not differ from the plants inoculated with *Stenotrophomonas* sp. N fertilization also favored S nutrition in both varieties. The agricultural and industrial productivity of the fertilized plants were not different from the plants inoculated with diazotrophic bacteria, independent of the application of filter cake.

Keywords: Biological fixation of N. Nutritional status of sugarcane. Pigments. Vegetative growth. Organic waste.

4.1 Introdução

O setor sucroalcooleiro do Brasil está entre os mais competitivos do mundo. A crescente evolução deste setor no país vem aumentando bastante, isso porque a utilização de recursos renováveis, como o etanol, tem se destacado como alternativa ao uso de combustíveis fósseis, uma vez que esse produto tem estado em alta no mercado internacional. (KORNDÖRFER; MELO, 2009). Diversos fatores podem interferir na produção e maturação da cultura da cana-de-açúcar, sendo os principais a interação edafoclimática como solo e clima, além da precipitação, o manejo da cultura e a cultivar escolhida (MARQUES; SILVA, 2008). Quando se conhece a cultura, é possível explorar com maior eficiência o local de produção para promover o melhor rendimento desta.

A cana-de-açúcar é uma planta perene da família *Poaceae* e possui metabolismo fotossintético do tipo C4, tendo como principal característica uma elevada taxa fotossintética, sendo altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química, o que reflete em elevadas produtividades obtidas pela cultura (GONÇALVES et al. 2010). A clorofila é um pigmento fotossintético dividido basicamente em clorofilas *a* e *b*. A clorofila *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos estão ligados à absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação (STREIT et al., 2005).

O próprio hábito de crescimento da cultura pode interferir na absorção de luz pela planta. A variedade de cana-de-açúcar RB867515 apresenta hábito de crescimento ereto e despalha fácil, com folhas de largura média, arqueadas e curvas. Já a variedade RB92579 possui hábito de crescimento ereto e folhas com pontas curvas, largas e difícil despalha (SIMÕES NETO, 2009).

A cana-de-açúcar é bastante exigente em adubação. A adubação é um dos fatores que determinam a produtividade, porém o grande questionamento se dá com relação aos elevados custos dos insumos tradicionais (ROSSETO; DIAS, 2005). O N é considerado um nutriente essencial para o desenvolvimento dos vegetais e tem sido reportado como um elemento importante na dinâmica da matéria orgânica do solo por sua influência nos processos de mineralização, decomposição e estabilização, que são afetados pelos diferentes manejos adotados no cultivo das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Diante deste contexto, alguns estudos indicam o beneficiamento da cultura com a utilização de materiais orgânicos empregados como a torta de filtro (FRAVET et al., 2010; DOTANIYA et al., 2016) e o uso de bactérias promotoras de crescimento bem como as fixadoras de nitrogênio como

alternativa para a complementação da adubação com N mineral (SCHULTZ et al., 2012; SCHULTZ et al., 2016).

A torta de filtro é um resíduo oriundo da fabricação de açúcar e pode ser utilizado como fonte de nutrientes para as culturas, principalmente o fósforo (SARDAR et al., 2013). As bactérias são responsáveis não só por disponibilizar nutrientes para as plantas, mas também por promover o crescimento das culturas. Especificamente, o grupo das bactérias diazotróficas são aquelas capazes de fixar o N₂ atmosférico, podendo viver livremente no solo, associadas a espécies vegetais, seja na rizosfera ou de forma endofítica (BHATTACHARJEE et al., 2008; MOREIRA et al., 2010). Estas bactérias também podem ser capazes de produzir hormônios vegetais, solubilizar fosfato e atuar como antagônicas a espécies patogênicas, além de poderem influenciar o metabolismo do N da planta, sendo consideradas como promotoras de crescimento.

A análise de crescimento é um método padrão para se medir a produtividade biológica de uma cultura, permitindo o estudo de diferentes cultivares em seu ambiente de produção (BENINCASA, 2003; ALMEIDA et al., 2008; MARAFON, 2012). Desta forma, a avaliação da performance de desenvolvimento e fisiologia dos vegetais, em particular da cana-de-açúcar, pode ser verificada por diferentes variáveis como crescimento, solutos orgânicos, pigmentos fotossintéticos, entre outros. Esses fatores que interferem na produção e qualidade da cana-de-açúcar podem ser estudados sob diferentes aspectos (MOREIRA et al., 2010). Avaliar a cultura no seu ambiente de desenvolvimento pode gerar uma enorme quantidade de informações para adequar o melhor manejo e cultivar para os específicos ambientes (solo e clima). Assim, é possível explorar ao máximo o local de produção para promover o melhor rendimento da cultura e conseqüentemente maior lucratividade ou competitividade para as agroindústrias da cana-de-açúcar.

Associar o uso de resíduos da agroindústria canavieira como a torta de filtro com a inoculação de bactérias fixadoras de N no beneficiamento da cana-de-açúcar a fim de verificar o seu efeito no crescimento e na melhoria do seu estado nutricional é uma inovação ainda pouco estudada, desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar os teores das clorofilas *a* e *b*, as variáveis de crescimento vegetativo, a nutrição e a produtividade agrícola e industrial no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca) em diferentes variedades em função da inoculação de bactérias diazotróficas combinadas com aplicação de torta de filtro.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Descrição da área experimental

O experimento foi conduzido em condições de campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina EECAC/UFRPE localizada no município do Carpina, Zona da Mata Norte do Estado de Pernambuco. O clima, segundo a classificação de Koppen, é do tipo As' - tropical chuvoso com déficit hídrico nos meses de verão ou verão seco e a vegetação primária é formada por florestas do tipo subcaducifólias e caducifólias (BELTRÃO et al., 2005). A precipitação pluvial média anual durante a condução do experimento foi de 899 mm (Figura 1).

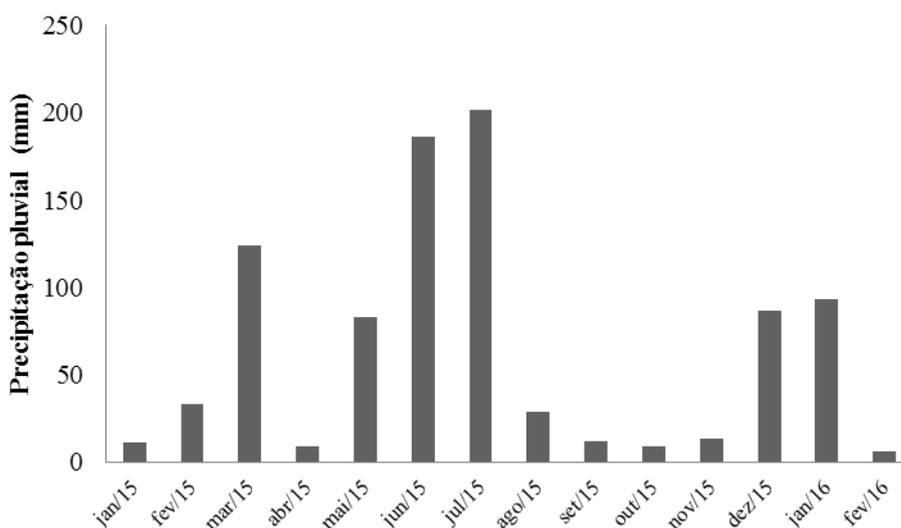


Figura 1. Precipitação pluvial durante o ensaio de campo na Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, em Carpina – PE

A área desse ensaio foi oriunda de experimento anteriormente implantado e conduzido, onde foi avaliado todo o primeiro ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana planta) (LIMA, 2016). Sendo assim, foi dada sequência a um campo experimental no segundo ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana soca), cultivado de janeiro de 2015 a fevereiro de 2016. O solo da área de estudo foi classificado como ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrocoeso (SANTOS et al., 2013).

Para a caracterização química e física do solo (Tabela 1), foram realizadas amostragens em duas profundidades: 0,0-0,2 m e 0,2-0,4 m, sendo retiradas três amostras simples para formar uma amostra composta nas áreas das parcelas experimentais.

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo da área experimental em diferentes profundidades

Atributo	Profundidade	
	0,0 – 0,20 m	0,20 -0,40 m
pH água (1:2,5)	5,8	5,4
(H+Al) (cmol _c dm ⁻³)	2,63	2,77
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,73	2,25
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,01	0,01
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,19	0,32
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,03	0,03
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,18	0,11
P (mg dm ⁻³)	2,87	2,42
NT (%) ¹	0,29	0,22
COT (g kg ⁻¹) ²	3,34	2,96
CTC _{efetiva} (cmol _c dm ⁻³) ³	3,12	2,69
CTC _{potencial} (cmol _c dm ⁻³) ⁴	5,59	5,16
V (%) ⁵	52,86	46,38
m (%) ⁶	6,11	11,81
Areia Total (g kg ⁻¹)	743	679
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	564	531
Areia Fina (g kg ⁻¹)	179	147
Silte (g kg ⁻¹)	65	109
Argila (g kg ⁻¹)	192	212
Classe Textural	Franco-arenosa	Franco-arenosa
Ds (kg dm ⁻³) ⁷	1,40	1,36
Dp (kg dm ⁻³) ⁸	2,47	2,53
PT (%) ⁹	43,24	46,29
θ _{CC} (Mg Mg ⁻¹) ¹⁰	0,08	0,10
θ _{PMP} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,03	0,03

¹Nitrogênio total; ²Carbono orgânico total; ³Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁴Capacidade de troca de cátions potencial; ⁵Saturação por bases; ⁶Saturação por alumínio; ⁷Densidade do solo; ⁸Densidade das partículas; ⁹Porosidade total; ¹⁰Umidade gravimétrica na capacidade de campo; ¹¹Umidade gravimétrica no ponto de murcha permanente.

Para caracterização química do solo, foi aferido o pH em água na proporção (1:2,5), foram determinados os cátions Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺, extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e dosados por espectrofotometria de absorção atômica. Os cátions Na⁺ e K⁺ e o P foram extraídos com Mehlich-1, sendo o Na⁺ e o K⁺ dosados por fotometria de chama, e o P dosado por colorimetria. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria (SILVA et al., 2009).

Foram determinados também o carbono orgânico total (COT) por combustão úmida com K₂Cr₂O₇ e titulado com sulfato ferroso amoniacal (SILVA et al., 2009) e o N total do

solo por digestão sulfúrica e posterior destilação pelo método Kjeldahl de acordo com a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

De posse dos dados dessas análises químicas, foram calculadas a saturação por bases (V), a saturação por alumínio (m), a capacidade de troca de cátions efetiva ($CTC_{efetiva}$) e a capacidade de troca de cátions potencial ($CTC_{potencial}$). As análises químicas do solo foram realizadas no laboratório de Química do Solo da UFRPE.

Para caracterização física do solo, foram determinadas granulometria, densidade do solo (Ds), densidade das partículas (Dp) e umidades na capacidade de campo (θ_{cc}) e ponto de murcha permanente (θ_{PMP}) (DONAGEMA et al., 2011).

Com os resultados da granulometria do solo foi possível definir a classe textural e com as densidades foi calculada a porosidade total do solo. As análises físicas do solo foram realizadas no Laboratório de Análises de Solos da EECAC-UFRPE.

4.2.2 Descrição do experimento

O experimento foi constituído da inoculação de diferentes bactérias (*Pantoea* sp, *Stenotrophomonas* sp e uma mistura dessas estirpes) e três testemunhas, na presença e na ausência de torta de filtro e duas variedades de cana-de-açúcar, RB92579 e RB867515. As bactérias utilizadas no ensaio foram oriundas da coleção de bactérias do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) da UFRPE. Elas foram escolhidas por apresentarem características promissoras para a fixação biológica de N, produzir ácido indol acético (AIA), produzir molécula *quorum sensing* e solubilizar fosfato inorgânico (LIMA, 2012) (Tabela 2).

Desta forma, o delineamento experimental escolhido foi em blocos casualizados, constando de três tratamentos de inoculação e três testemunhas, na presença e na ausência de torta de filtro, em duas variedades de cana-de-açúcar, formando um arranjo fatorial (6 x 2 x 2), com quatro repetições, perfazendo um total de 96 parcelas experimentais.

Tabela 2. Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), isoladas de plantas de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco

Linagem	Gênero	Nicho	Variedade
UAGC 865	<i>Pantoea</i> sp (PT)	Rizosfera	RB92579
UAGC 869	<i>Stenotrophomonas</i> sp (ST)	Rizosfera	RB867515
Mistura bacteriana	<i>Pantoea</i> sp + <i>Stenotrophomonas</i> sp (MB)	-	-

Esse ensaio em cana soca foi oriundo de experimento realizado em cana planta que foi composto por quatro tratamentos de inoculação de diferentes estirpes bacterianas: *Pantoea* sp., *Stenotrophomonas* sp, *Burkholderia* sp e uma mistura bacteriana com essas três estirpes. Foram também utilizados dois tratamentos não inoculados: uma testemunha absoluta (TA) não adubada com N e uma testemunha nitrogenada adubada com N (TN). O ensaio foi realizado com duas variedades de cana-de-açúcar: RB92579 e RB867515.

O ensaio em cana soca teve as mesmas testemunhas do ensaio em cana planta, acrescido de uma testemunha oriunda da parcela em que foi inoculada *Burkholderia* sp no experimento em cana planta. Como no ensaio em cana soca não se inoculou essa estirpe bacteriana, se considerou essa parcela como uma testemunha residual da inoculação de *Burkholderia* sp na cana planta (TBr). A inoculação com *Burkholderia* sp não foi realizada porque houve contaminação dessa estirpe.

As parcelas no ensaio da cana soca foram compostas por seis sulcos com três metros de comprimento, espaçados por 1,10 m, totalizando 19,8 m². Essas parcelas foram oriundas do ensaio em cana planta que possuíam 39,6 m² e foram divididas para aplicação da torta de filtro. Nas laterais do ensaio foram marcadas 12 parcelas com as mesmas dimensões das parcelas experimentais do ensaio em cana planta para que houvesse o crescimento de plantas espontâneas que foram utilizadas como plantas de referência para a avaliação da fixação biológica de N pelo método da abundância natural do isótopo $\delta^{15}\text{N}$.

Após a colheita da cana planta foi realizada uma nova adubação de cobertura da cana soca com 100 kg ha⁻¹ de N para a testemunha nitrogenada e 100 kg ha⁻¹ de K para todos os tratamentos (IPA, 2008). As fontes de N e K utilizadas foram sulfato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente. Não foi realizada calagem, porque o pH da camada superficial (0,0-0,2 m) ainda estava em torno de 5,5, o teor de Ca trocável com 2,73 cmol_c dm⁻³ e a saturação por alumínio com 6,11% (Tabela 1).

Após a adubação de cobertura foi realizada uma nova re-inoculação com as estirpes bacterianas (Tabela 2), 30 dias após o início da rebrota da cana soca, utilizando as mesmas bactérias do ensaio com cana planta, exceto *Burkholderia* sp.

As linhagens bacterianas foram repicadas em placas de Petri (devidamente esterilizadas) contendo o meio TSA (Trypcase Soy Agar) (FARIAS, 2012; LIMA, 2012) para se obter as colônias isoladas. Após este processo, foi preparado meio TSA líquido para servir de pré-inóculo onde as bactérias foram inoculadas e incubadas por 24 horas sob agitação constante (150 rpm). Depois de pronto, o pré-inóculo foi transferido para Erlenmeyers de

1.000 mL contendo meio TSA líquido mantido sob agitação constante (150 rpm) por 72 horas. Após este período, os recipientes foram conduzidos para a área experimental e *in loco*, foi realizada a diluição das bactérias em água, na proporção de 1:50 (BENEDUZI et al., 2013) para atingir 10^8 unidades formadoras de colônias – UFC mL⁻¹ e serem distribuídas nas parcelas correspondentes a cada tratamento de inoculação (LIMA, 2012).

Aos 180 dias após a rebrota foram aplicados 20 Mg ha⁻¹ de torta de filtro *in natura*, diferenciando as parcelas desse tratamento. A torta de filtro foi aplicada nesse período porque correspondeu ao período de maior precipitação pluvial (Figura 1). A torta de filtro foi cedida pela Usina Petribu S/A (Tabela 3).

Tabela 3. Atributos químicos da torta de filtro em base seca utilizada no experimento

Atributos	Torta de filtro
pH _{água} (1:2,5)	4,3
Ca (g kg ⁻¹)	0,19
Mg (g kg ⁻¹)	0,04
Na (g kg ⁻¹)	0,08
K (g kg ⁻¹)	6,37
P (g kg ⁻¹)	12,82
N total (g kg ⁻¹)	1,68
Relação C/N (g kg ⁻¹ /g kg ⁻¹)	54
COT (g kg ⁻¹) ¹	90,22
CO _{FAH} (g kg ⁻¹) ²	13,70
CO _{FAF} (g kg ⁻¹) ³	5,06
CO _{FHU} (g kg ⁻¹) ⁴	11,32
SH (g kg ⁻¹) ⁵	30,08

¹Carbono orgânico total; ²Carbono orgânico na fração ácidos húmicos; ³Carbono orgânico na fração ácidos fúlvicos; ⁴Carbono orgânico na fração humina; ⁵Substâncias húmicas.

O pH foi determinado em água na proporção 1:2,5. O Ca, Mg, Na, K e P foram extraídos por digestão nitro-perclórica (SILVA et al., 2009). Os elementos Na e K foram dosados por fotometria de chama, Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e P dosado por colorimetria.

O N total foi determinado por digestão sulfúrica e posterior destilação por Kjehldahl (SILVA et al., 2009). O COT foi determinado por digestão via úmida com dicromato de potássio e titulado com sulfato ferroso amoniacal.

As frações ácido húmico, ácido fúlvico, humina e Substâncias húmicas foram determinadas de acordo com a metodologia proposta por Mendonça e Matos (2005).

Os tratos culturais do cultivo da cana soca foram realizados de forma manual, uma vez que o uso de herbicidas poderia interferir no desenvolvimento e na atividade das bactérias diazotróficas. Segundo Procópio et al. (2011) o impacto de herbicidas em bactérias diazotróficas reduziram a capacidade de atuação delas em promover o crescimento das culturas em estudo.

4.2.3 Avaliações no campo

4.2.3.1 Determinação dos teores de Clorofila *a* e *b*

A determinação dos teores de clorofila *a* e *b* foram realizadas aos 180, 240, 300 e 360 dias após a brotação da cana soca. A amostragem consistiu na coleta de folhas +1 quando completamente expandidas de três plantas escolhidas aleatoriamente na parcela útil do ensaio, formando uma amostra composta.

As amostras foram acondicionadas em recipiente com gelo e levadas para laboratório onde imediatamente foi pesado 0,1 g de cada amostra, picotadas com tesoura em fragmentos mínimos e adicionadas em tubos de ensaio rosqueados e protegidos da luz com papel alumínio, contendo 10 mL de acetona 80% e mantidos sob refrigeração para a extração da clorofila, segundo metodologia proposta por Lichtenthaler & Buschamann (2001).

Após um período de extração de 24 horas, os extratos foram mantidos em temperatura ambiente e homogeneizados em agitador tipo vórtex. Os pigmentos fotossintéticos foram quantificados em espectrofotômetro nos seguintes comprimentos de onda: 663 nm para clorofila *a* e 647 nm para clorofila *b* e seus teores expressos em mg g^{-1} .

4.2.3.2 Estado nutricional da cana-de-açúcar

Para a determinação do estado nutricional foram coletadas aos 240 dias após a rebrota folhas +1 quando completamente expandidas de três plantas escolhidas aleatoriamente na parcela útil do ensaio, formando uma amostra composta. Nesse tempo, que coincidiu com o final do período chuvoso (Figura 1), as plantas estavam em plena atividade metabólica e as exigências nutricionais estavam maximizadas. Adicionalmente, a torta de filtro foi adicionada aos 180 dias após a rebrota, ou seja, no início do período das chuvas. Como um dos objetivos do trabalho era realizar uma avaliação da aplicação da torta, o estudo nutricional foi postergado para atender esse objetivo.

As amostras foram secas em estufa a uma temperatura de 65 °C até peso constante. Posteriormente estas amostras foram trituradas em moinho de facas tipo Willey para posteriormente ser realizada digestão nitro-perclórica e obtenção dos extratos para a dosagem dos nutrientes.

No extrato, foram determinados os nutrientes Ca, Mg, K, P e S. O Ca e o Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, o K por fotometria de chama, o P e o S por colorimetria e turbidimetria, respectivamente. Para determinação de N foi realizada uma digestão sulfúrica utilizando 0,1 g da amostra e posterior destilação por Kjeldahl. Todas as análises em material vegetal seguiram a metodologia proposta por Silva et al. (2009).

4.2.3.3 Crescimento vegetativo

Antes da colheita da cana-de-açúcar, para a avaliação do crescimento vegetativo foram amostradas dez plantas aleatoriamente na parcela útil e avaliados o diâmetro do colmo, a altura da planta e o número de folhas.

O diâmetro do colmo foi medido com um paquímetro digital (Diginess) sempre a uma altura de 10 cm do solo. A altura da planta foi medida com uma trena desde a base da planta, rente ao solo, até o colarinho da folha +1 e para avaliar o número de folhas, foram contadas as folhas com mais de 20% de área verde visível e completamente expandidas.

4.2.3.4 Produtividade industrial e agrícola

No momento que antecedeu a colheita da cana soca, aos 360 dias após a rebrota, foram retiradas amostras de dez plantas aleatoriamente na parcela útil para determinação dos dados tecnológicos, realizada no laboratório da usina Petribu S/A. As variáveis agroindustriais determinadas e a produtividade agrícola foram utilizadas para calcular a produção de açúcar por hectare (TPH) e Açúcares totais recuperáveis (ATR), conforme Lima Neto et al. (2013).

A produtividade agrícola em Toneladas de Colmo por Hectare (TCH) foi avaliada no momento da colheita, pesando-se os colmos das quatro linhas centrais, com auxílio de dinamômetro acoplado a garra de uma carregadeira de cana-de-açúcar. As parcelas foram separadas em com e sem torta para cada tratamento e foi desprezado 0,5 m de cada lado da parcela para reduzir o efeito de bordadura.

4.3 Análise estatística

Os dados da clorofila *a* e *b*, os dados de crescimento, o estado nutricional, a produtividade agrícola e industrial e o açúcar total recuperável foram submetidos à análise da variância (ANAVA). Quando os efeitos principais e as interações foram significativos até o nível de 5% de probabilidade, realizou-se teste de médias de Scott-Knott até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito da interação tratamento de inoculação e torta de filtro na clorofila *a* e *b* foi avaliado aos 300 dias após a rebrota da cana soca, separadamente para cada variedade, porque os picos do pigmento ocorreram no final do ciclo de cultivo.

Para avaliar o efeito dos tratamentos de inoculação versus as testemunhas dos teores de clorofila *a* e *b* na presença e ausência de torta de filtro, foram realizados contrastes ortogonais separadamente para cada variedade no tempo de 300 dias após a rebrota da cana soca. Os contrastes foram testados pelos testes F e t até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito dos tratamentos de inoculação e da torta de filtro no teor de clorofila *a* e *b* foram avaliados aos 180, 240, 300 e 360 dias após a brotação da cana soca como medida repetida no tempo separadamente para cada variedade, ajustando-se equações de regressão e testando-se os parâmetros pelo teste t até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito da interação tratamento de inoculação e torta de filtro no estado nutricional foi avaliado aos 240 dias após a brotação da cana soca, separadamente para cada variedade, porque os picos do pigmento ocorreram no final do ciclo de cultivo da cana soca.

Para avaliar o efeito dos tratamentos de inoculação versus as testemunhas nos nutrientes na presença e ausência de torta de filtro foram realizados contrastes ortogonais separadamente para cada variedade no tempo 240 dias após a brotação da cana soca para as variáveis N e P. Os contrastes foram testados pelos testes F e t até o nível de 5% de probabilidade.

O efeito da interação tratamento de inoculação e torta de filtro nos dados de crescimento, produtividade agrícola e industrial e açúcar total recuperável foram avaliados aos 360 dias após a brotação da cana soca, separadamente para cada variedade. As testemunhas e os tratamentos inoculados foram contrastados na presença e na ausência de torta de filtro.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Teores de clorofila *a* e *b* nas folhas de cana-de-açúcar

O contraste entre os tratamentos inoculados e as testemunhas dos teores de clorofila *a* em cana-de-açúcar aos 300 DAR na variedade RB92579 não apresentou diferença significativa com a aplicação da torta de filtro (Figuras 2A e C).

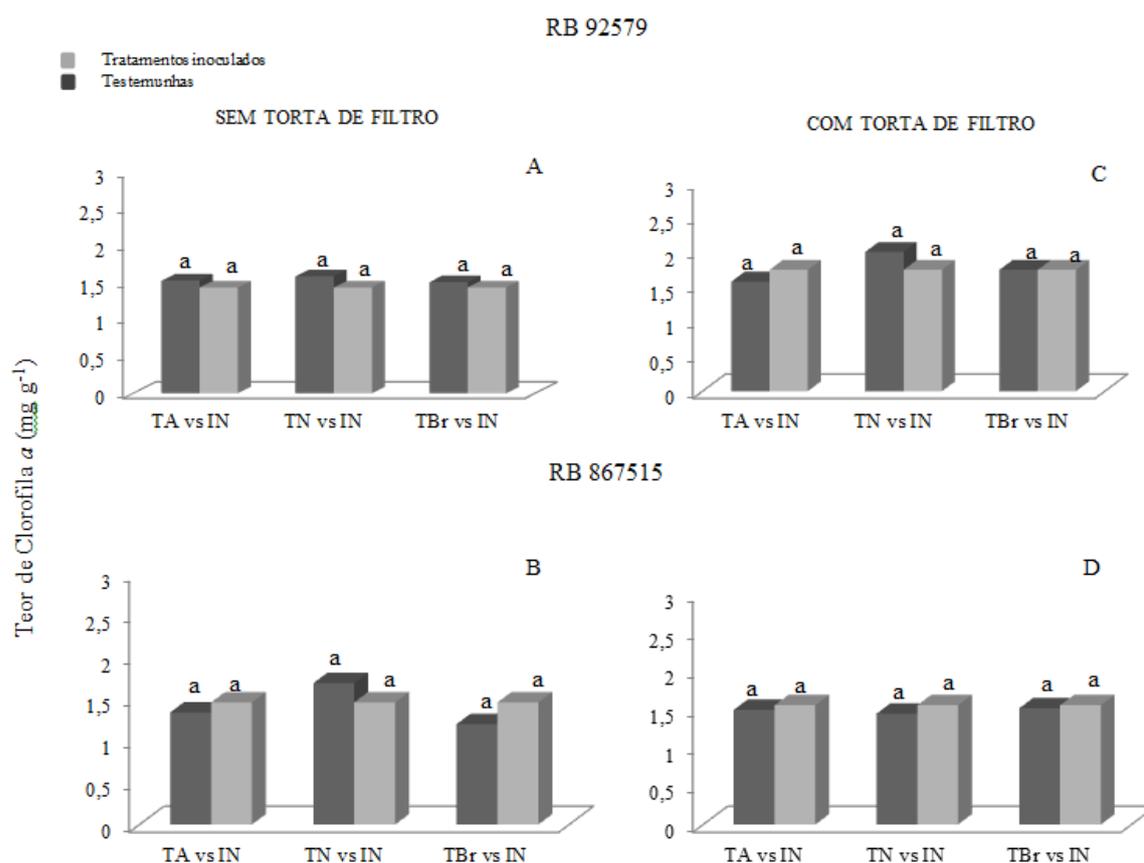


Figura 2. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de clorofila *a* aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Mesmo a testemunha em que não se adicionou N (TA), quando contrastada com o grupo dos inoculados manteve o teor de clorofila *a* em um nível que se equiparou aos inoculados. Isso indicou que a população de bactérias nativas atuou satisfatoriamente, mantendo os teores de clorofila *a* adequados para o desenvolvimento das plantas, uma vez que não apresentaram sintomas de deficiência.

No contraste TN versus IN pôde-se observar que os inoculados atuaram sobre esta variável se equiparando a testemunha que recebeu adubação convencional, ou seja, que recebeu adubação mineral. Esse resultado pode ser importante, porque mostra que a adubação nitrogenada pode ser reduzida, devido aos efeitos terem sido semelhantes quando não se aplicou N. Quando foi adicionada torta de filtro na variedade RB92579 o comportamento se manteve, não tendo influência significativa nos contrastes (Figura 2C), porém os teores de clorofila *a* foram semelhantes, sem diferença dos inoculados para a TN.

Na variedade RB867515 também não houve diferença significativa entre os contrastes dos tratamentos inoculados e as testemunhas, independente da aplicação de torta de filtro (Figuras 2B e D). O comportamento dessa variedade foi semelhante ao demonstrado pela variedade RB92579.

O comportamento da clorofila *b* foi semelhante ao constatado na clorofila *a* para as duas variedades estudadas (Figuras 3A, B, C e D).

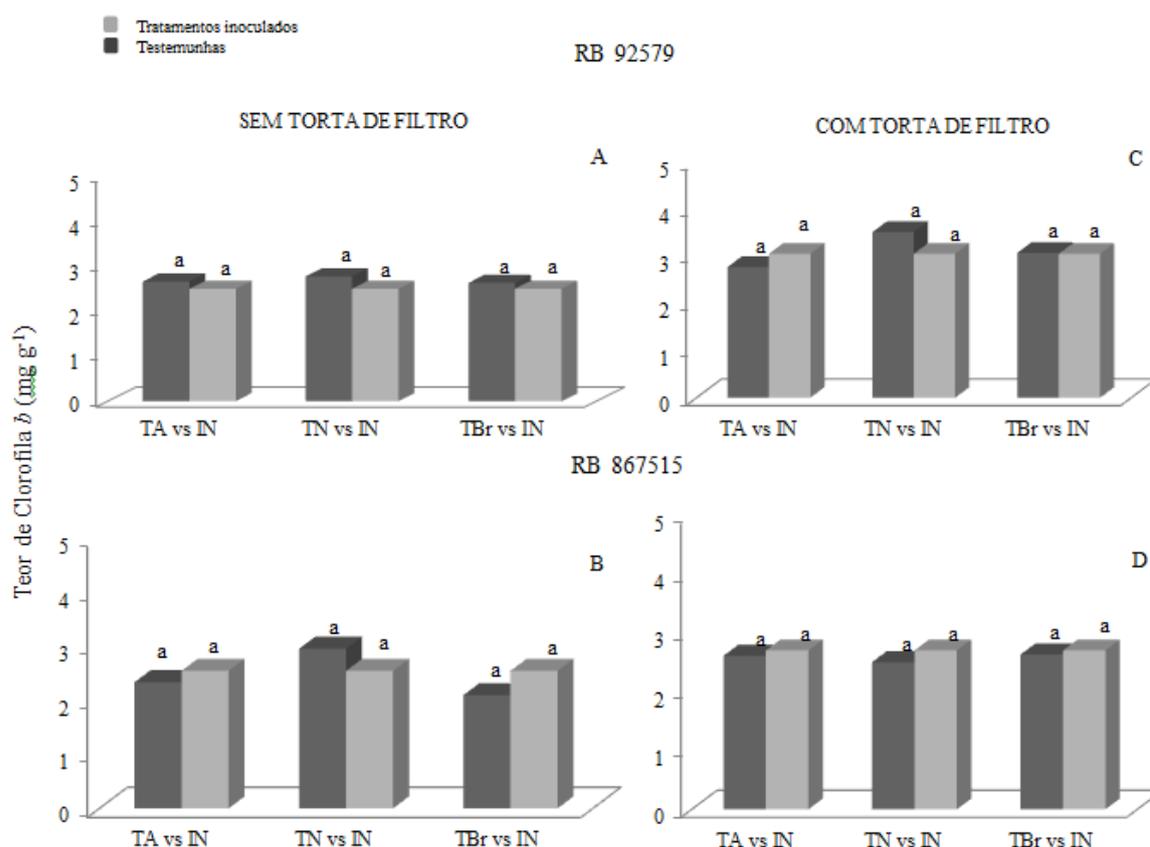


Figura 3. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de clorofila *b* aos 300 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Não apresentar diferença significativa entre os tratamentos inoculados e a TN para os pigmentos fotossintéticos não quer dizer, necessariamente que o resultado foi inadequado, porque ficou evidenciado que houve um desempenho satisfatório da inoculação das bactérias diazotróficas. As plantas de cana-de-açúcar mantiveram seus pigmentos fotossintéticos ativos semelhantemente a TN, demonstrando assim que o N está sendo fornecido e suprimindo a demanda da planta, através de alguma fonte, seja ela mineralização da matéria orgânica ou FBN.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais (STREIT, 2005). Plantas que apresentam teores adequados de clorofila se desenvolvem de maneira adequada atingindo no final do seu ciclo boas produtividades.

Plantas não adubadas com N nesse estudo, não representaram redução de crescimento da cana-de-açúcar e nem diminuição dos teores dos pigmentos fotossintéticos. Garcia et al. (2013), avaliando a inoculação de uma mistura de 5 estirpes bacterianas (*Herbaspirillum seropedicae*, *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Burkholderia tropica* e *Azospirillum amazonense*) em duas variedades de cana-de-açúcar em um Neossolo Quartzarênico, observaram que os teores das clorofilas não foram reduzidos nos tratamentos inoculados, indicando que a inoculação com os diferentes gêneros bacterianos em plantas de cana-de-açúcar foram promissoras, não sendo observado clorose nas folhas, nem redução no desenvolvimento vegetativo das plantas da variedade RB867515.

Na ausência de adubação de N mineral em quantidades suficientes para as plantas, pode-se inferir que a substituição de parte do adubo por matéria orgânica (mineralização do N) ou por adição e contribuição da ação de bactérias na FBN que ocorrem livremente no solo ou em associação com espécies vegetais, podem suprir o N para a cana-de-açúcar.

Os dados do teor de clorofila *a* na variedade RB92579 em função do tempo de cultivo se ajustaram de maneira geral aos modelos matemáticos polinomial quadrático e de sino (Figura 4).

RB 92579

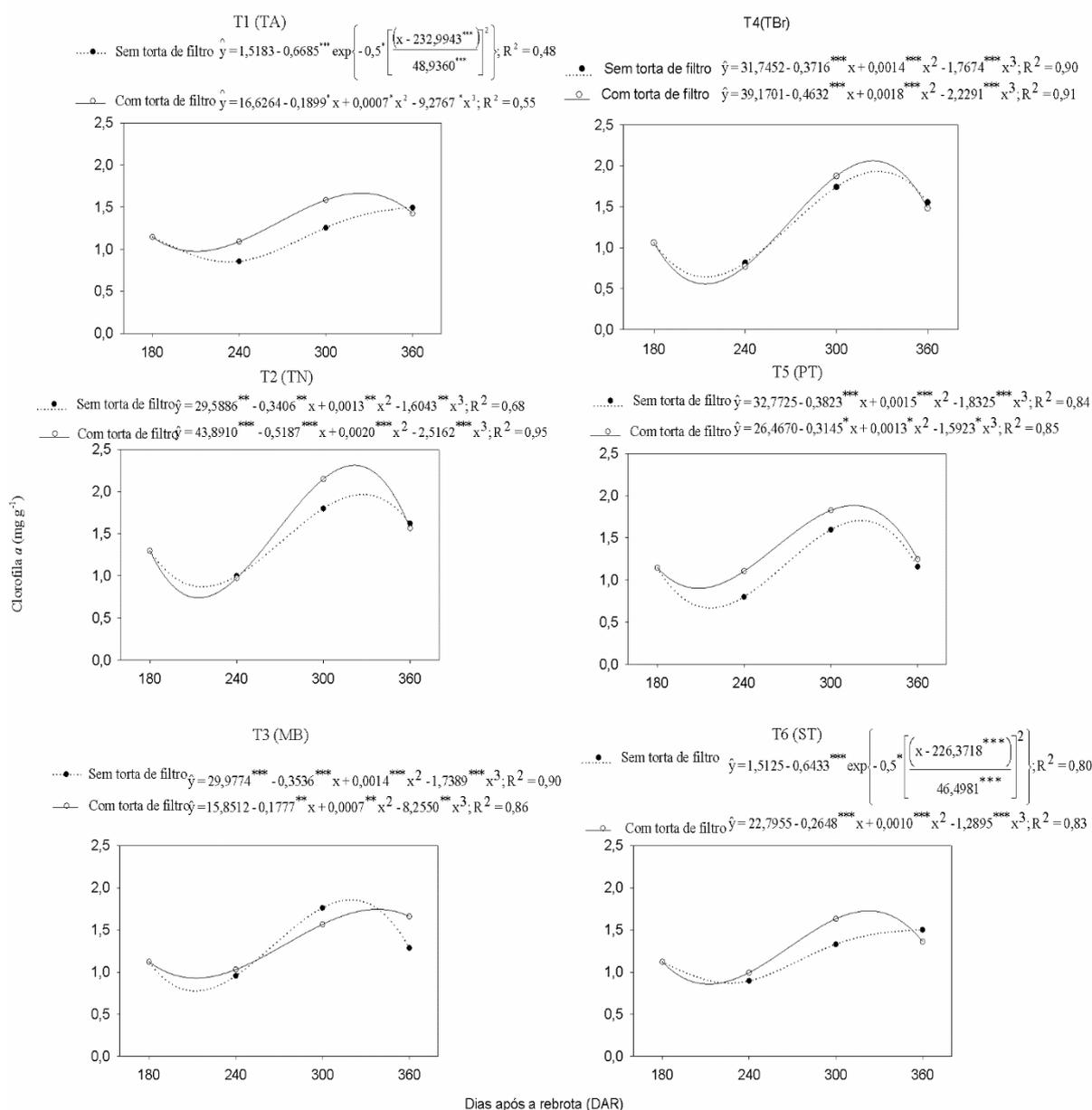


Figura 4. Teor de clorofila *a* em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo

A clorofila *a* em todos os tratamentos inoculados e nas testemunhas avaliadas na variedade RB92579 apresentou pico aos 300 DAR com e sem aplicação de torta de filtro, diminuindo no final do ciclo. Quando se aplicou torta de filtro, em geral, o pico de maior teor de clorofila *a* foi maior exceto pra a MB (Figura 4). Estes dados corroboram com os encontrados por Girio et al. (2015) quando avaliaram o índice SPAD (que reflete os teores de clorofila) e descreveram que o teor de clorofila diminuiu ao longo do tempo, independente do suprimento de N. Ainda segundo esses autores, esta redução significa um efeito de diluição do N absorvido pelas plantas, em razão do maior acúmulo de matéria seca com o tempo.

Os dados do teor de clorofila *a* na variedade RB867515 em função do tempo apresentou ajustes nos modelos matemáticos: polinomial quadrático, polinomial cúbico, e modelo exponencial (Figura 5). Como ocorreu com a variedade RB92579, os picos de clorofila *a* foram constatados aos 300 DAR, o que justifica a escolha dos contrastes realizados aos 300 DAR para clorofila. Com o tempo, o teor de clorofila decresceu e quando se avaliou a aplicação de torta de filtro para cada tratamento, observou-se que para a TA, TN, MB e PT sem torta de filtro, os teores de clorofila *a* foram maiores (Figura 5).

Apenas os dados da TN não se ajustaram quando se adicionou torta de filtro. Os resultados desse trabalho diferem dos descritos por Gonzaga (2012) que ao avaliar a estimativa do teor de clorofila em cana-de-açúcar via SPAD, utilizando bactérias diazotróficas, não encontraram efeito significativo da inoculação sob a clorofila.

Ainda segundo este autor, houve redução do teor de clorofila no final do ciclo, porém esta redução foi atribuída a degradação da molécula, como consequência da deficiência hídrica, provocando na planta um estresse abiótico resultando na perda da cor verde das folhas. Os teores de clorofila dependem principalmente das características genéticas da planta e qualquer tipo de estresse, seja ele biótico ou abiótico pode interferir sobre os teores de clorofila, o que pode explicar esta diferença observada neste trabalho (O'Neil et al., 2006).

RB 867515

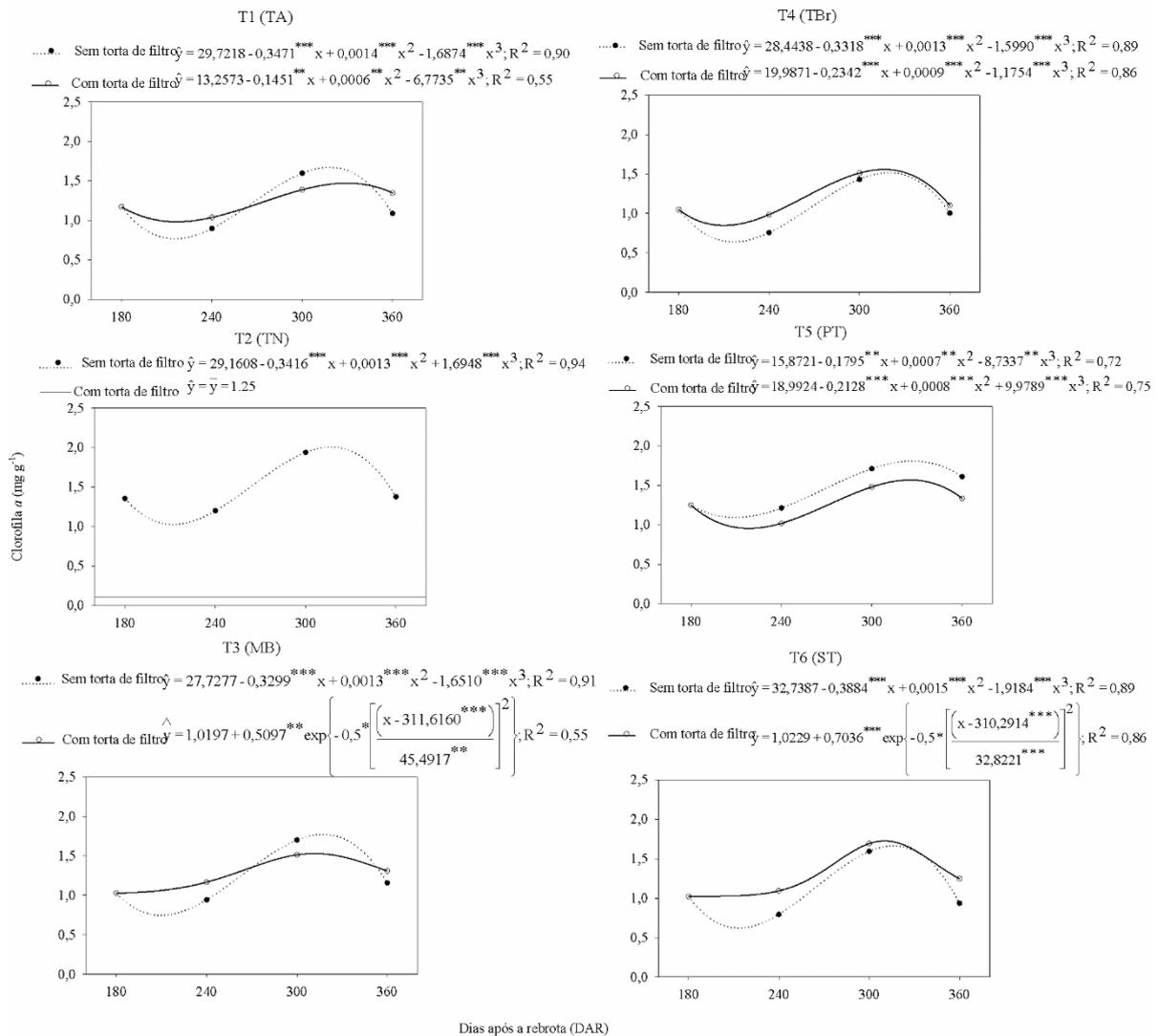


Figura 5. Teor de clorofila *a* em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo

O comportamento da clorofila *b* na variedade RB92579 foi semelhante ao ocorrido com a clorofila *a* (Figura 6).

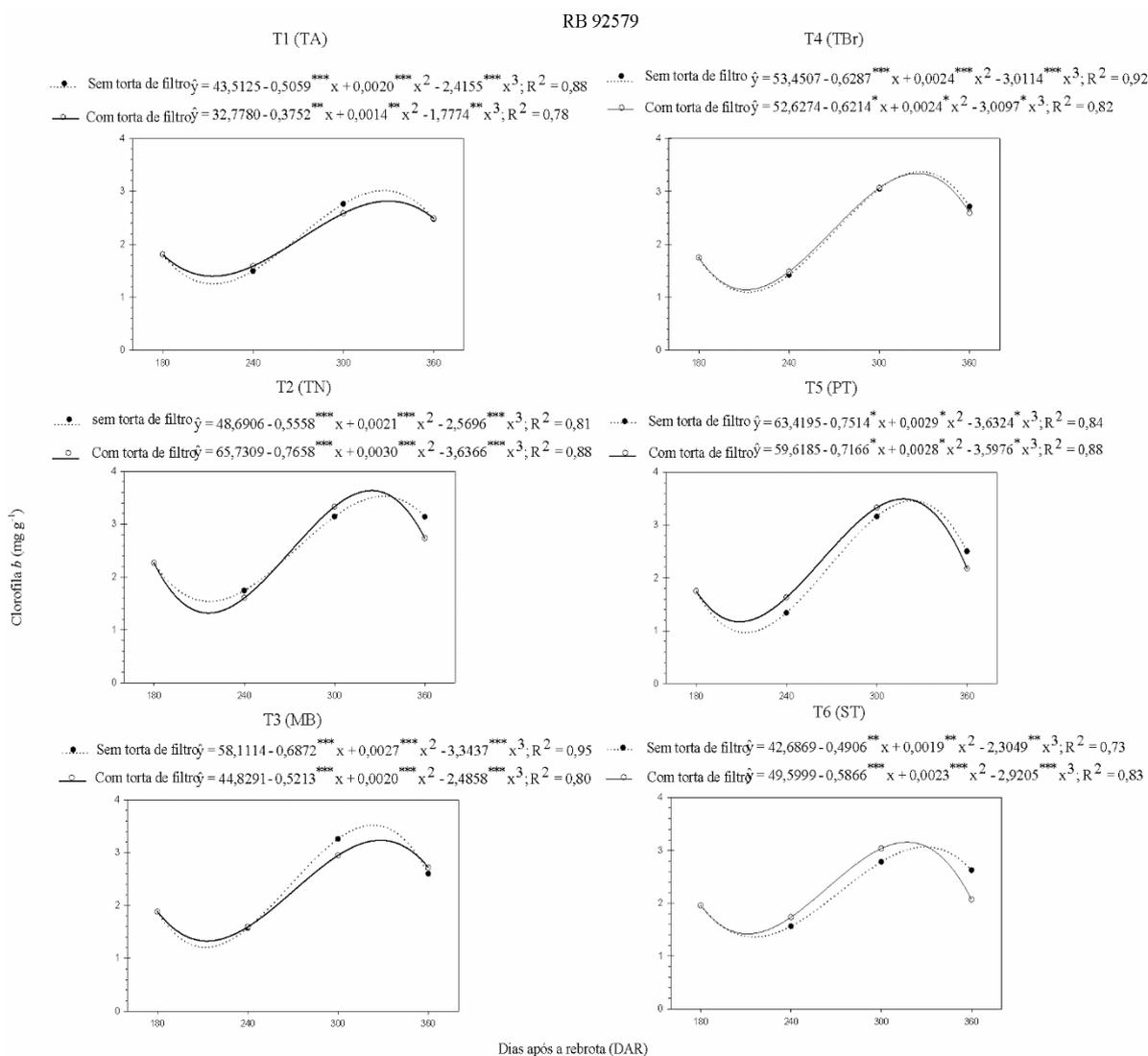


Figura 6. Teor de clorofila *b* em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB92579. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ns Não Significativo

A clorofila *b* na variedade RB867515 também apresentou picos aos 300 DAR, mas o tratamento MB foi o único que não se ajustou matematicamente a nenhum modelo, sendo seus teores iguais às suas médias (Figura 7).

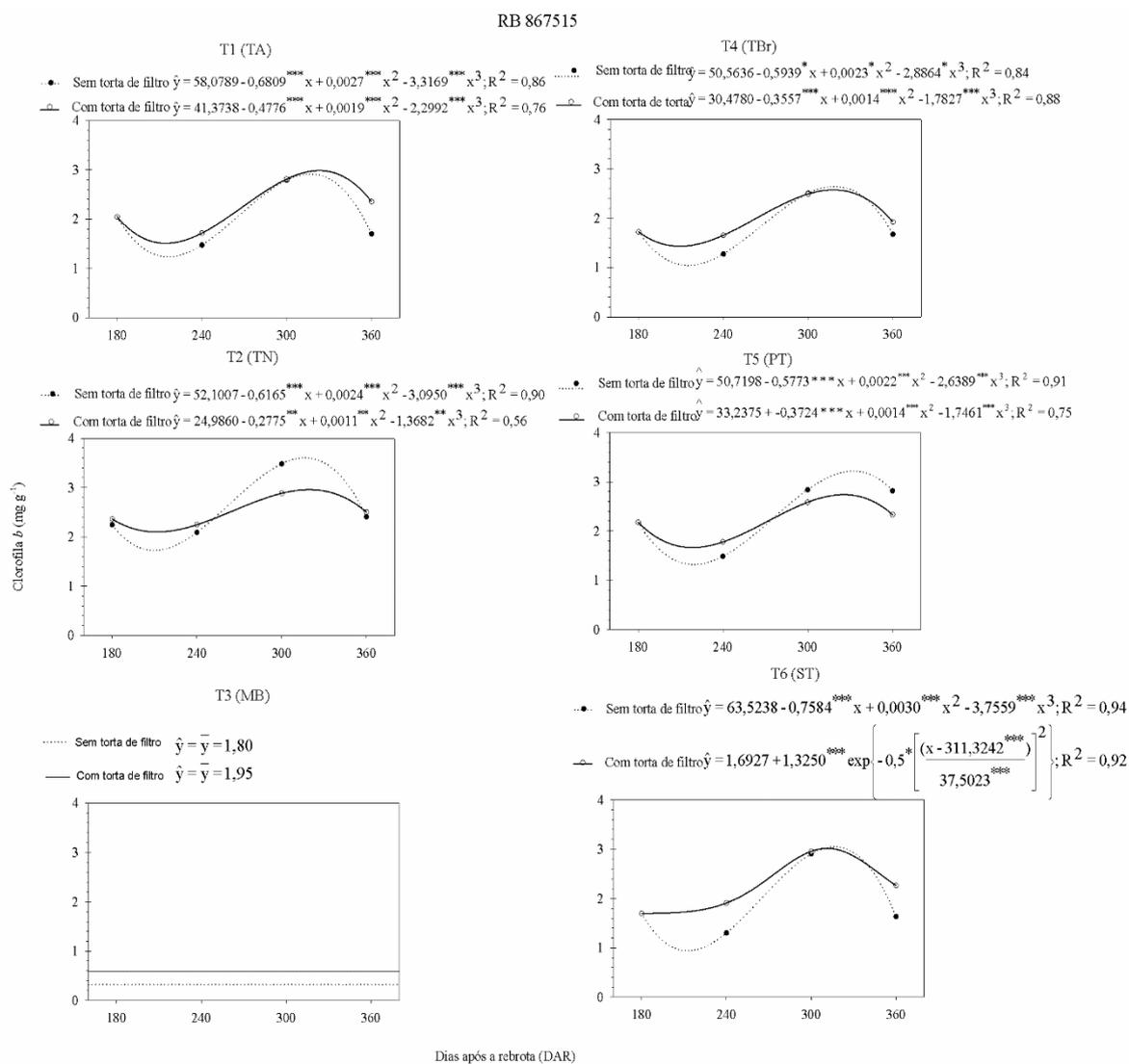


Figura 7. Teor de clorofila *b* em função do tempo de cultivo nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na variedade RB867515. (PT - Tratamento inoculado com a bactéria *Pantoea* sp.; ST - Tratamento inoculado com a bactéria *Stenotrophomonas* sp.; MB - Tratamento inoculado com a mistura das bactérias *Pantoea* sp + *Stenotrophomonas* sp.; TA - Testemunha absoluta; TN - Testemunha nitrogenada; TBr - Testemunha *Burkholderia* residual). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo

Como as clorofilas *a* e *b* apresentaram seus teores mais elevados aos 300 DAR, foi realizada uma análise de variância nesse tempo para avaliar o efeito da aplicação da torta de filtro nos tratamentos inoculados e nas testemunhas (Tabela 4).

Tabela 4. Teor de clorofila *a* e *b* nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 300 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					
	RB92579		Média	RB867515		Média
	Torta de Filtro			Torta de Filtro		
Sem Torta	Com Torta	mg g ⁻¹				
Clorofila <i>a</i>						
TA ¹	1,53	1,58	1,56	1,34	1,49	1,42
TN ²	1,59	2,01	1,80	1,69	1,44	1,55
MB ³	1,32	1,68	1,50	1,28	1,35	1,32
TBr ⁴	1,51	1,75	1,63	1,20	1,51	1,36
PT ⁵	1,56	1,83	1,69	1,51	1,61	1,56
ST ⁶	1,43	1,73	1,58	1,59	1,69	1,64
Média	1,49b	1,76a		1,44	1,52	
	F			F		
Inoculação	0,717 ^{ns}			0,924 ^{ns}		
Torta	6,967*			0,509 ^{ns}		
Inoc*Torta	0,244 ^{ns}			0,471 ^{ns}		
CV (%) ⁷	21,99			26,04		
Clorofila <i>b</i>						
TA	2,67	2,77	2,72	2,34	2,62	2,48
TN	2,79	3,51	3,15	2,96	2,51	2,74
MB	2,30	2,94	2,62	2,25	2,36	2,30
TBr	2,64	3,07	2,86	2,10	2,64	2,37
ST	2,73	3,19	2,96	2,63	2,82	2,72
PT	2,51	3,03	2,77	2,78	2,96	2,87
Média	2,61b	3,09a		2,51	2,65	
	F			F		
Inoculação	0,721 ^{ns}			0,924 ^{ns}		
Torta	6,972*			0,504 ^{ns}		
Inoc*Torta	0,247 ^{ns}			0,473 ^{ns}		
CV (%)	22,00			26,05		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coefficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott ($p > 0,05$).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Desta forma, para os teores de clorofila *a* na variedade RB92579 houve efeito significativo apenas para a torta, pôde-se perceber que, em média, ao se adicionar torta de filtro, houve um aumento no teor de clorofila *a* para todos os tratamentos, se comparada aos mesmos tratamentos sem a adição de torta de filtro (Tabela 4).

A TN foi o tratamento que apresentou o maior valor em termos absolutos para clorofila *a*, mesmo não havendo diferença estatística, e ao se adicionar a torta de filtro, houve efeito no teor da clorofila *a*, em que a ordem decrescente de acúmulo entre os tratamentos foi $TN > PT > TBr$.

A torta de filtro, neste caso, promoveu um aumento no teor de clorofila *a* na variedade RB92579 (Tabela 4). O mesmo comportamento foi observado para a clorofila *b* nesta mesma variedade, sendo também verificado efeito significativo para a torta de filtro (Tabela 4). A torta de filtro influenciou positivamente no aumento do teor da clorofila *b*. Neste caso a ordem decrescente de acúmulo foi: $TN > ST > TBr$. Nos dois casos, a TA foi a que apresentou menor média em termos absolutos, porém o houve efeito da aplicação de torta de filtro.

Ao se avaliar a variedade RB867515, pôde-se perceber que não houve efeito tanto para inoculação, quanto para a aplicação de torta de filtro, bem como para a interação entre os fatores estudados (Tabela 4). Isso demonstrou que essa variedade responde de forma diferente da RB92579. Chaves et al. (2015) ao avaliarem o desenvolvimento inicial de duas variedades de cana-de-açúcar (RB867515 e IACSP 95-5000) inoculadas com bactérias diazotróficas (*Gluconacetobacter diazotrophicus*; *Herbaspirillum seropedicae*; *Herbaspirillum rubrisubalbicans*; *Burkholderia tropica*; e *Azospirillum amazonense*) isoladas e misturadas, encontraram em seus resultados que, tanto as variedades, como os diferentes genótipos bacterianos influenciaram a resposta da cana-de-açúcar.

Apesar de não haver diferença estatística, também houve, em termos absolutos, maiores valores no teor de clorofila *a* e *b* na variedade RB867515 com a adição de torta de filtro. Os pigmentos fotossintéticos são essenciais para a conversão de energia luminosa em energia química, sendo assim, as plantas conseguem promover seu crescimento e produtividade, apresentando relação direta com a quantidade de luz interceptada pela folha. Desta forma, os tratamentos empregados neste trabalho foram considerados eficientes em manter o teor de pigmentos fotossintéticos.

4.4.2 Estado nutricional da cana-de-açúcar

Aos 240 DAR foi realizado um estudo do estado nutricional da cultura, em que foram determinados os teores dos nutrientes na folha +1, indicando como cada variedade se comportou quanto à absorção desses nutrientes. Na variedade RB92579 o teor de N na folha +1 não diferiu estatisticamente nem entre os tratamentos inoculados, nem entre as testemunhas, independente da presença de torta de filtro (Tabela 5).

A aplicação da torta de filtro não influenciou os teores de N (Tabela 5). Como o resíduo tem pouco N em sua composição (Tabela 3), não deve ser uma fonte desse nutriente. Por outro lado, a aplicação de torta de filtro não potencializou a ação de FBN das bactérias e também não provocou nenhum efeito deletério. Como os tratamentos foram semelhantes, pôde-se observar que os tratamentos que não receberam adubação nitrogenada, conseguiram obter esse nutriente de outra forma que não a mineral, reforçando, assim, a hipótese que houve contribuição no aporte de N para a cana-de-açúcar pela atuação de bactérias diazotróficas, tanto em relação a população nativa (TA), como também nos tratamentos de inoculação com as bactérias isoladas e a mistura das bactérias.

De acordo com Reis e Teixeira (2006), a incorporação de N, via FBN, nos diferentes ecossistemas faz parte dos ciclos naturais e o entendimento deste processo biológico deve ser mais bem compreendido, seja pelo equilíbrio entre a enzima nitrogenase e o oxigênio, ou pela compreensão da atuação das bactérias propriamente ditas. O N é o nutriente mais requerido pela planta, principalmente na fase vegetativa, mas na maturação, o N em excesso, pode causar efeito prejudicial para a cana-de-açúcar uma vez que pode reduzir o conteúdo de sacarose do colmo, bem como proporcionar o chamado “consumo de luxo” promovendo um crescimento vegetativo exagerado. Devido a sua importância para a cultura, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas avaliando as respostas da cana-de-açúcar em função da aplicação de N, sendo observados resultados controversos (BOLOGNA-CAMPBELL, 2007; FRANCO et al., 2011).

Tabela 5. Teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 240 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					
	RB92579		Média	RB867515		Média
	Sem Torta	Com Torta		Sem Torta	Com Torta	
Nitrogênio (g kg ⁻¹)						
TA ¹	12,46	10,39	11,42	8,40	9,10	8,75B
TN ²	11,44	11,23	11,34	10,32	10,01	10,16A
TM ³	11,51	10,74	11,13	7,21	8,08	7,64C
TBr ⁴	9,33	10,57	9,95	7,38	8,33	7,85C
ST ⁵	11,09	10,46	10,78	9,94	9,06	9,50A
PT ⁶	9,69	10,15	9,92	8,64	8,68	8,66B
Média	10,92	10,59		8,65	8,87	
	F			F		
Inoculação	1,678 ^{ns}			9,258 ^{***}		
Torta	0,605 ^{ns}			0,782 ^{ns}		
Inoculação*Torta	1,177 ^{ns}			1,362 ^{ns}		
CV (%)	13,69			10,17		
Fósforo (g kg ⁻¹)						
TA ¹	6,875	8,345	7,61	7,55	7,12	6,70B
TN ²	6,595	9,785	8,19	10,55	8,22	8,50 ^a
MB ³	5,945	7,79	6,87	7,66	7,445	6,91B
TBr ⁴	5,275	8,155	6,71	6,29	7,385	6,31B
ST ⁵	7,095	8,18	7,63	7,55	8,23	7,26B
PT ⁶	4,595	8,215	6,40	6,52	7,38	6,40B
Média	6,065b	8,41a		7,69b	7,63 ^a	
	F			F		
Inoculação	2,198 ^{ns}			5,224 ^{**}		
Torta	39,361 [*]			18,099 ^{***}		
Inoculação*Torta	1,249 ^{ns}			2,121 ^{ns}		
CV (%)	17,91			14,03		
Potássio (g kg ⁻¹)						
TA ¹	28,53Ab	34,73Ba	31,63	29,06	32,84	30,95 ^a
TN ²	27,27Ab	37,00Aa	32,13	27,45	33,81	30,63 ^a
MB ³	28,99Aa	25,56Db	27,28	26,17	27,87	27,02 ^a
TBr ⁴	27,61Aa	29,28Ca	28,45	25,78	31,14	28,46 ^a
ST ⁵	27,35Ab	37,37Aa	32,36	27,42	29,44	28,43 ^a
PT ⁶	26,89Ab	32,36Ba	29,62	24,36	26,69	25,53B
Média	27,77	32,72		26,71b	30,31 ^a	
	F			F		
Inoculação	11,569 ^{***}			2,674 [*]		
Torta	94,661 ^{***}			11,999 ^{**}		
Inoculação*Torta	16,961 ^{***}			0,572 ^{ns}		
CV (%)	5,82			12,61		
Cálcio (g kg ⁻¹)						
TA ¹	26,25	23,24	24,74	28,71	29,12	28,92
TN ²	27,17	25,43	26,30	31,46	30,02	30,74
MB ³	27,65	26,63	27,14	26,45	27,71	27,08
TBr ⁴	24,48	30,82	27,65	26,15	27,05	26,60
ST ⁵	23,21	24,55	23,88	31,41	30,40	30,90
PT ⁶	22,93	24,71	23,82	27,26	26,02	26,64
Média	25,28	25,90		28,57	28,39	
	F			F		
Inoculação	1,122 ^{ns}			2,318 ^{ns}		
Torta	0,229 ^{ns}			0,030 ^{ns}		
Inoculação*Torta	1,125 ^{ns}			0,202 ^{ns}		
CV (%)	17,42			13,06		

Continuação tabela 5						
	Magnésio (g kg ⁻¹)					
TA ¹	13,13Aa	4,22Ab	8,67	11,85	6,62	9,23
TN ²	8,93Ba	5,07Ab	7,01	12,80	5,65	9,22
MB ³	6,92Ba	5,07Aa	6,00	11,02	8,12	9,57
TBr ⁴	5,90Ba	5,40Aa	5,65	13,82	7,02	10,42
ST ⁵	7,42Ba	3,92Ab	5,67	11,87	6,45	9,16
PT ⁶	6,52Ba	5,42Aa	5,97	11,55	5,30	8,42
Média	8,14	4,85		12,15a	6,52b	
	F			F		
Inoculação	4,931**			1,625 ^{ns}		
Torta	57,643***			181,480***		
Inoculação*Torta	8,279***			2,241 ^{ns}		
CV (%)	23,09			15,48		
	Enxofre (g kg ⁻¹)					
TA ¹	3,26Aa	2,69Ba	2,97	2,96	2,86	2,91B
TN ²	2,70Bb	3,47Aa	3,08	3,17	4,16	3,66 ^a
MB ³	2,46Ba	2,47Ba	2,47	3,23	2,73	2,98B
TBr ⁴	2,48Ba	2,64Ba	2,56	2,64	2,54	2,59B
ST ⁵	3,54Aa	2,77Bb	3,16	3,05	2,94	2,99B
PT ⁶	2,39Bb	3,55Aa	2,97	2,90	2,62	2,76B
Média	2,81	2,93		2,99	2,97	
	F			F		
Inoculação	2,624*			4,844**		
Torta	0,812 ^{ns}			0,021 ^{ns}		
Inoculação*Torta	4,489**			2,381 ^{ns}		
CV (%)	17,33			15,85		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coefficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott (p>0,05).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Para a variedade RB867515, houve significância para a inoculação. A TN e ST apresentaram os maiores teores de N. Houve efeito de variedade para esta variável, porque o comportamento da RB867515 foi distinto da RB92579 (Tabela 5). O desempenho da bactéria *Stenotrophomonas* sp no aporte de N se evidenciou e não diferiu das plantas que foram adubadas com N.

Não houve diferença significativa para o efeito torta de filtro, mas as médias dos tratamentos que receberam torta de filtro como apoio para as bactérias, bem como para a nutrição da cana-de-açúcar foram relativamente maiores. Mesmo com pouco tempo de aplicação, houve efeito positivo da torta de filtro, havendo incremento de N nas folhas da cana-de-açúcar.

Este efeito da torta de filtro corrobora os efeitos positivos descritos por Fravet et al. (2010), que constataram que a aplicação de torta de filtro na linha plantio e em superfície deve ser recomendada por favorecer variáveis de produtividade sem que haja necessidade de incorporação. Visualmente, as plantas não apresentaram sintomas de deficiência de N, inclusive a TA, indicando que o suprimento de N para a planta, nesse caso, foi oriundo da

população nativa do solo. A deficiência de N causa efeitos generalizados sobre toda a planta, com definhamento das folhas mais velhas da cana-de-açúcar, atrasa o desenvolvimento vegetativo e as pontas e margens das folhas mais velhas tornam-se necróticas, secando prematuramente, reduzindo assim a produtividade da cultura, o que não foi observado neste estudo.

Quando se comparou a média dos teores de N dos tratamentos inoculados com as testemunhas na variedade RB92579 não se observou diferença para os contrastes, independente da presença ou ausência de torta de filtro (Figuras 8A e C).

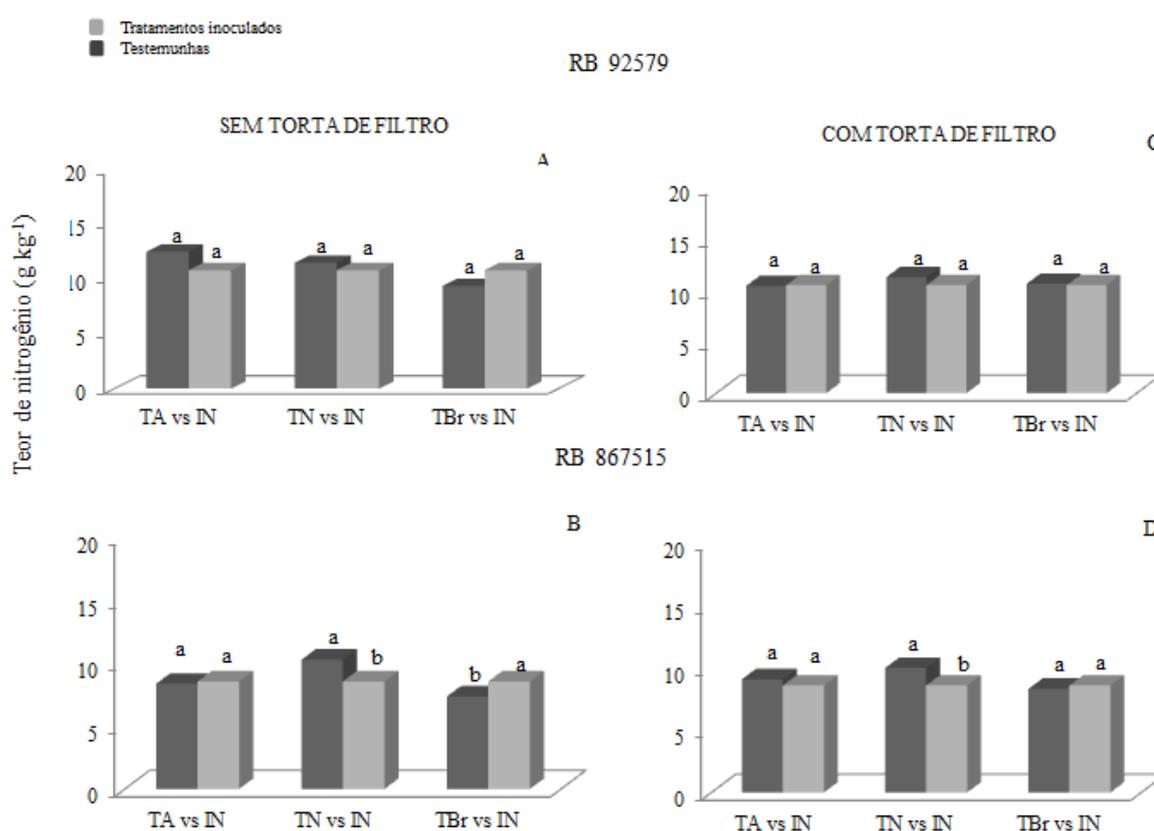


Figura 8. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de N aos 240 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Nessa variedade, os tratamentos inoculados foram importantes na contribuição do N para a planta, porque não diferiram da TN. Este resultado pode proporcionar redução da adubação nitrogenada em socaria, pois as bactérias diazotróficas foram capazes de aportar N para a cultura. Com torta de filtro o grupo dos inoculados contrastados foi semelhante a TN,

mais um indicativo que houve FBN para esta variedade. O contraste TA versus IN também demonstrou que houve FBN, porque os contrastes não diferiram do grupo dos inoculados, desta forma o suporte de N foi proveniente de outra via que não a convencional. Mesmo comportamento para o contraste TBr versus IN, onde as bactérias só foram inoculadas no primeiro ciclo de cultivo da cana-de-açúcar (cana planta) e não foram repostas na socaria, porém a população remanescente foi suficiente para auxiliar no fornecimento de N.

Diferente do que ocorreu com a variedade RB92579, na variedade RB867515 houve efeito significativo o teor de N para os contrastes TN versus IN e TBr versus IN sem aplicação de torta de filtro, bem como para TN versus IN com aplicação de torta de filtro (Figuras 8B e D). No primeiro contraste (TN versus IN) sem torta de filtro, a TN apresentou a maior média de N comparativamente ao grupo dos tratamentos inoculados. Neste caso a adubação convencional foi mais eficiente em fornecer N para esta variedade ou a FBN foi menor. O efeito se inverte ao se contrastar a TBr versus IN, em que o grupo dos inoculados forneceu mais N do que a testemunha que só foi inoculado na cana planta, sugerindo que houve pouco efeito residual da inoculação, sendo necessária inoculações em cada novo ciclo de cultivo.

A TA versus IN não diferiu estatisticamente, independente da presença de torta de filtro, indicando que houve fornecimento de N pela ação das bactérias diazotróficas e promotoras de crescimento vegetal. Quando se adicionou torta de filtro, houve diferença apenas no contraste entre a TN versus IN. A adição de adubação mineral superou a atividade das bactérias diazotróficas na variedade RB867515.

Na avaliação do teor de P na folha +1, observou-se que houve incremento desse nutriente com a adição de torta de filtro para as duas variedades. Mesmo o P sendo um nutriente que as plantas necessitam em menor quantidade, a sua disponibilidade para as plantas é imprescindível. A torta de filtro é um resíduo capaz de disponibilizar P para as plantas (Moore et al., 2016), e é utilizada em cana-de-açúcar para complementar a adubação fosfatada, devido aos elevados teores desse nutriente nesse resíduo (Tabela 3).

Na variedade RB92579, não houve efeito para inoculação, mas todos os tratamentos com a aplicação de torta de filtro apresentaram teores de P maiores do que sem a adição de torta de filtro (Tabela 5). As bactérias diazotróficas, além de realizar FBN podem também solubilizar fosfato inorgânico no solo. Nesse caso, esperava-se que as plantas dos tratamentos inoculados tivessem mais P, devido a esta outra característica das bactérias, mas isso não foi observado neste trabalho.

Na variedade RB867515 houve efeito para aplicação de torta de filtro e também houve efeito para os tratamentos inoculados e testemunhas (Tabela 5). Apenas a TN apresentou um maior teor de P entre os tratamentos, ressaltando que a nutrição nitrogenada beneficiou a absorção de P e as bactérias nessa variedade também não solubilizaram fosfato inorgânico. Lira-Cadete et al., (2012) identificaram em sua pesquisa que 74% das linhagens de bactérias diazotróficas foram capazes de solubilizar fosfato inorgânico apresentando índices de solubilização diferentes. A torta de filtro também elevou os teores de P na planta, devido aos elevados teores de P nesse resíduo (Tabela 3).

Ao se contrastar as testemunhas versus o grupo dos tratamentos inoculados (MB, ST e PT), as variedades se comportaram de maneira distinta. Na variedade RB92579 não houve diferença entre os contrastes sem torta de filtro (Figura 9A), mas ao se adicionar torta de filtro, houve efeito no contraste TN versus IN, sendo que a TN apresentou maior teor de P na folha +1 do que o grupo dos tratamentos inoculados (Figura 9C). As plantas adubadas com N incrementaram a absorção de P proveniente da torta de filtro.

De maneira geral, a torta de filtro colaborou com o aporte de P para as plantas, porque este é o nutriente de maior importância neste resíduo. Estudos realizados por Lira Cadete et al., (2012) verificaram que o tecido vegetal e a variedade de cana-de-açúcar podem influenciar na interação entre bactérias diazotróficas que sejam solubilizadoras de fosfato.

Na variedade RB867515, quando não se adicionou torta de filtro, as plantas apresentaram maiores teores de P (Figura 9B), indicando que as bactérias podem ter solubilizado fosfato inorgânico do solo e N proveniente do adubo nitrogenado não favoreceu uma maior absorção de P. Quando se adicionou torta de filtro esse efeito solubilizador das bactérias pode ter continuado, porque mesmo as plantas adubadas com N tendo acesso a uma maior quantidade de P da torta, os tratamentos inoculados ofertaram P, porque o contraste entre TN versus IN não foi significativo (Figura 9D), como na variedade RB92579.

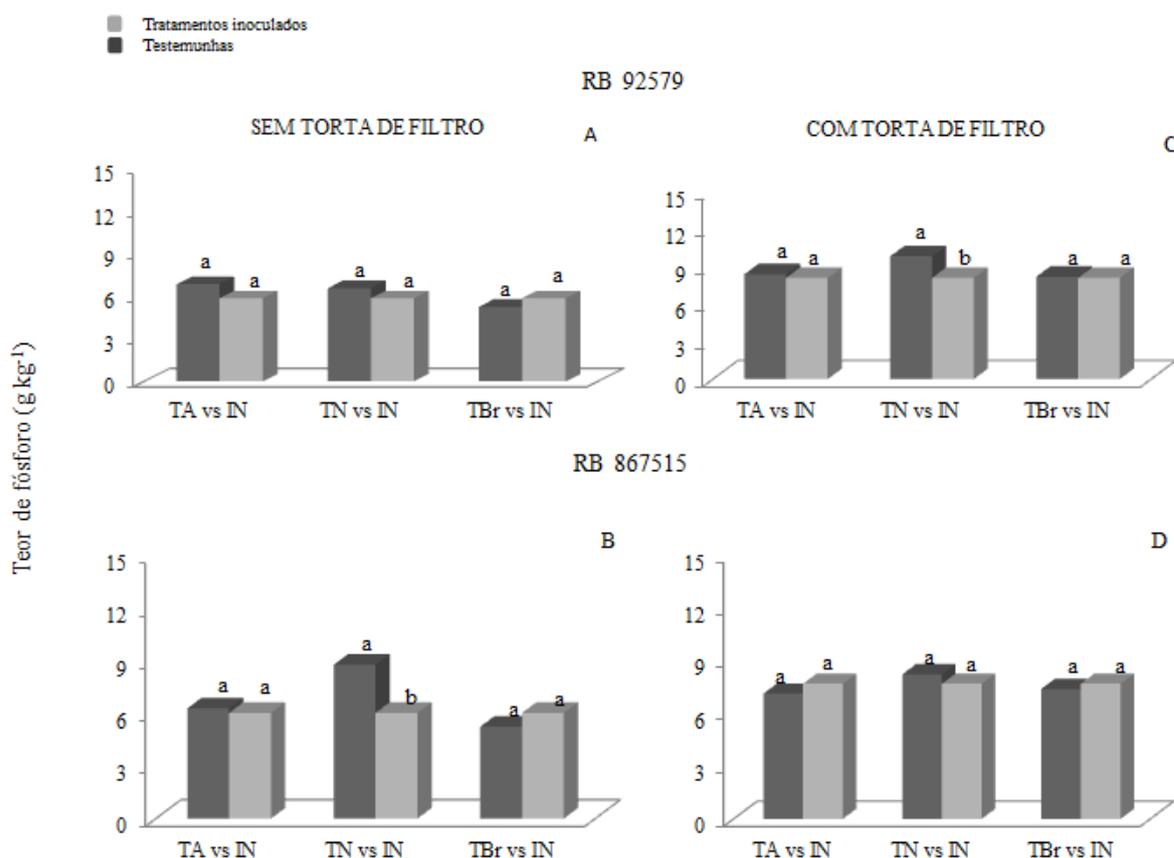


Figura 9. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas nos teores de P aos 240 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Assim, pode-se inferir que houve contribuição tanto das bactérias diazotróficas quanto da torta de filtro aplicada ao solo para a absorção de P pela planta.

Com relação ao teor de K na folha +1, este nutriente se mostrou mais sensível aos tratamentos empregados neste estudo (Tabela 5). Na variedade RB92579 houve efeito significativo para todas as fontes de variação, ou seja, para inoculação, torta e a interação inoculação/torta (Tabela 5). Os tratamentos inoculados e as testemunhas na ausência de torta de filtro, não diferiram entre si. Na presença de torta de filtro, a TN e o ST diferiram dos demais, concentrando os maiores teores de K na folha +1. Na variedade RB867515, o efeito da interação não foi observado, mas houve efeito dos fatores isolados: inoculação e torta de filtro (Tabela 5).

O K é um nutriente importante para a cana-de-açúcar, sendo o mais extraído pela cultura, principalmente pela cana soca, uma vez que desempenha várias funções como

regulação da turgidez do tecido, ativação enzimática, abertura e fechamento de estômatos, transporte de carboidratos, transpiração, resistência a geadas, seca, doenças e ao acamamento (KORNDÖRFER; OLIVEIRA, 2005).

Quando se adicionou torta de filtro, foi possível observar que houve um maior acúmulo de K na folha +1 da cana-de-açúcar. A torta em ambas as variedades favoreceu o acúmulo de K para a cultura. Apesar do K não ser o nutriente de maior importância na torta de filtro, este resíduo promoveu aumento do teor deste nutriente na cana-de-açúcar.

Almeida Júnior et al. (2011) avaliando a absorção de nutrientes em cana-de-açúcar adubada com torta de filtro encontraram em seus resultados que a torta de filtro aumentou o acúmulo de K e P na parte aérea da cana-de-açúcar, corroborando os dados encontrados neste estudo. Como a torta de filtro forneceu mais P para as plantas, isso pode ter proporcionado sistema radicular mais bem desenvolvidos, favorecendo a absorção de outros nutrientes, como K.

Com relação ao teor de Ca na folha +1 de cana-de-açúcar, tanto na variedade RB92579, como na RB867515 não houve diferença entre os tratamentos inoculados e as testemunhas, bem como para aplicação de torta de filtro (Tabela 5). De maneira geral, as médias de cada tratamento inoculado que recebeu torta de filtro foram relativamente maiores do que os mesmos tratamentos sem torta de filtro. Apenas a TA, TN e MB apresentaram valores mais altos em termos absolutos. Excluindo-se o efeito de inoculação, os teores de Ca obtidos neste trabalho foram superiores aos descritos por Almeida Junior et al. (2011) que constataram em plantas sem adubação mineral e com a dose máxima de torta de filtro empregada teores de Ca de $6,05 \text{ g kg}^{-1}$.

O Ca é um elemento constituinte da parede celular dos vegetais, dando estrutura às células e facilitando a absorção de água devido a sua função plasmolítica (LAVIOLA et al., 2007). Como é um nutriente de pouca mobilidade no floema, em algumas culturas, sua deficiência se manifesta de formas diferentes, como no tomateiro, a deficiência de Ca causa um sintoma bastante característico chamado de “fundo preto” (SILVA et al., 2016).

Em cana-de-açúcar, os sintomas característicos são visualizados principalmente nas folhas mais novas, que ficam esbranquiçadas e enrolam para baixo, formando um gancho, o que não foi verificado no campo e comprovado com o teor do nutriente determinado na folha diagnóstica.

Ao se avaliar os teores de Mg na folha +1, houve efeito significativo para inoculação, aplicação de torta de filtro e a interação inoculação/torta na variedade RB92579 (Tabela 5). A

TA apresentou o maior teor de Mg na folha dentre os tratamentos inoculados. Ao verificar os tratamentos com a torta de filtro, não houve diferença entre eles, mas a aplicação de torta na MB, TBr e PT foi significativa.

Para a variedade RB867515, houve efeito apenas para a torta de filtro. A não adição de torta proporcionou os maiores teores de Mg foliar. Esta variedade também foi responsável por acumular mais Mg em média do que a RB92579, o que pode indicar efeito varietal.

A aplicação de torta de filtro provocou um efeito deletério muito significativo nos teores de Mg das plantas, principalmente da variedade RB867515. Como as maiores quantidades de P na torta favoreceram a absorção de K, pelos maiores teores desse nutriente encontrados nas folhas das plantas em que se adicionou torta de filtro, pode ser que o K tenha exercido um efeito antagônico na absorção de Mg. Essa é uma constatação importante porque a aplicação de torta de filtro pode provocar desbalanço nutricional. Por outro lado, a aplicação de torta de filtro não provocou redução nos pigmentos fotossintéticos (Tabela 4), que se relacionam diretamente com o Mg. Portanto, por serem contraditórios esses dados ainda não permitem conclusões precipitadas sobre o efeito da torta de filtro sobre os teores de Mg nas plantas de cana-de-açúcar desse estudo.

Quanto ao teor de enxofre na folha +1, na variedade RB92579 houve significância para inoculação e para a interação inoculação/torta (Tabela 5). O ST e a TA apresentaram os maiores teores de S sem torta, seguidos pelos demais tratamentos. Esperava-se, neste caso, que a TN apresentasse maior teor de S na folha, porque a fonte de N utilizada foi no experimento foi o sulfato de amônio, mas não ocorreu. Isso só foi observado quando se adicionou torta de filtro, com a TN tendo apresentado maior teor de S, juntamente com a PT. Na variedade RB867515 o efeito significativo foi observado apenas para a inoculação, onde a TN apresentou o maior teor de S na folha +1. Raij e Cantarella (1996) consideram o teor de S ideal na folha de cana-de-açúcar na faixa de 1,0 – 3,5 g kg⁻¹; desta forma, os resultados obtidos neste trabalho mostram a importância dos tratamentos inoculados para a absorção deste nutriente pela planta.

4.4.3 Crescimento vegetativo

Ao se avaliar a altura das plantas aos 360 DAR, pode-se perceber que não houve efeito significativo nos tratamentos analisados na presença e ausência de torta de filtro nas variedades RB92579 e RB867515 (Tabela 6). As testemunhas não diferiram dos tratamentos inoculados.

Nas duas variedades era de se esperar que a TA apresentasse média inferior que a TN por não ter sido adubada com N, porém isso não ocorreu, o que demonstra a contribuição de bactérias nativas do solo para suprir a necessidade da cultura, fazendo com que as plantas de cana-de-açúcar crescessem satisfatoriamente. O mesmo fato foi observado por Araújo (2014), que apesar de ter trabalhado com a cultura do milho (*Zea Mays* L) não constatou efeito significativo da adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* para altura de planta, altura de inserção de espiga e diâmetro do colmo.

O suprimento de N de maneira não satisfatória pode gerar deficiência na planta, se tornando um importante fator limitante do crescimento vegetal, porque este elemento compõe diversas moléculas no vegetal, como aminoácidos e proteínas que são fundamentais para o desenvolvimento da cultura (TAIZ; ZEIGER, 2002).

Tabela 6. Altura, diâmetro e número de folhas nas plantas nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					
	RB92579		Média	RB867515		Média
	Sem Torta	Com Torta		Sem Torta	Com Torta	
	Altura (m)					
TA ¹	2,20	2,10	2,15	2,27	2,34	2,30
TN ²	2,32	2,24	2,28	2,41	2,50	2,45
TM ³	2,11	2,19	2,15	2,30	2,28	2,29
TBr ⁴	2,16	2,14	2,14	2,35	2,44	2,39
TP ⁵	2,33	2,16	2,24	2,38	2,31	2,35
TS ⁶	2,21	2,34	2,28	2,37	2,28	2,33
Média	2,22	2,20		2,35	2,36	
	F			F		
Inoculação	0,890 ^{ns}			0,873 ^{ns}		
Torta	0,256 ^{ns}			0,032 ^{ns}		
Inoc*Torta	0,671 ^{ns}			0,434 ^{ns}		
CV (%)	8,90			7,86		
	Diâmetro (mm)					
TA ¹	23,44	24,06	23,75	26,21	25,61	25,91B
TN ²	26,02	24,35	25,17	27,02	30,02	28,53 ^a
MB ³	23,54	25,10	24,32	26,76	26,88	26,82B
TBr ⁴	23,28	24,52	23,90	25,32	26,66	25,99B
ST ⁵	24,04	23,34	23,69	25,82	25,26	25,56B
PT ⁶	24,49	24,35	24,42	25,64	24,82	25,23B
Média	24,13	24,28		26,13	26,54	
	F			F		
Inoculação	1,157 ^{ns}			3,230 [*]		
Torta	0,121 ^{ns}			0,565 ^{ns}		
Inoc*Torta	1,369 ^{ns}			1,264 ^{ns}		
CV (%)	6,08			7,15		
	Número de folhas					
TA ¹	9,0	9,0	9,0	7,0	7,0	7,0B
TN ²	9,0	9,0	9,0	8,0	8,0	8,0A
MB ³	8,0	10,0	9,0	8,0	8,0	8,0A
TBr ⁴	9,0	9,0	9,0	8,0	7,0	7,0B
ST ⁵	9,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0A
PT ⁶	8,0	9,0	8,0	8,0	7,0	7,0B
Média	8,0	9,0		8,0	8,0	
	F			F		
Inoculação	0,867 ^{ns}			3,587 [*]		
Torta	0,754 ^{ns}			0,239 ^{ns}		
Inoc*Torta	1,659 ^{ns}			1,243 ^{ns}		
CV (%)	7,78			7,62		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott (p>0,05). *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

As variedades de cana-de-açúcar apresentaram uma boa adaptabilidade e desta forma mesmo a TA foi capaz de manter o crescimento.

O diâmetro do colmo na variedade RB92579 não apresentou diferença significativa entre as testemunhas e os tratamentos inoculados, com e sem torta de filtro, bem como sua interação (Tabela 6). A TA e os tratamentos inoculados mantiveram o diâmetro do colmo como a TN, demonstrando a viabilidade do uso de bactérias diazotróficas no desenvolvimento da cultura. O mesmo comportamento foi observado em estudo em cana planta realizado por Lima (2016).

O crescimento da variedade RB867515 não foi influenciado pela inoculação, onde a maior média de diâmetro do colmo foi observada para a TN, independente da aplicação de torta de filtro, sendo seguida pelo tratamento MB. Mesmo não havendo efeito significativo para torta de filtro, observou-se que a torta proporcionou uma melhoria nesta variável para as duas variedades, podendo ser considerada como um componente auxiliar na atividade dos micro-organismos do solo. Segundo Kraiser et al. (2011), quando os tratamentos inoculados se assemelham a TN, pode-se inferir que houve efeito positivo promovido pela inoculação, sendo a cultura beneficiada nutricionalmente.

No número de folhas, apenas a variedade RB867515 apresentou significância entre os tratamentos de inoculação, onde as maiores médias foram para TN, MB e ST. Assim, pode-se ressaltar os tratamentos inoculados como possuindo efeito positivo para o desenvolvimento da cana-de-açúcar, o que pode representar ganhos econômicos expressivos.

O comportamento das variedades podem ser melhor visualizados na análise dos contrastes ortogonais, onde os tratamentos inoculados se mantiveram semelhantes a TN, não diferindo estatisticamente, independentemente da presença de torta de filtro (Figura 10A, B, C e D). A variedade RB867515 apresentou plantas maiores, mas os contrastes também não detectaram diferença estatística.

Miura et al (2016), observando a resposta da comunidade bacteriana em solos com aplicação de bagaço de cana-de-açúcar em cobertura, identificaram que as bactérias são capazes de sustentar a produtividade, modificando o ciclo de nutrientes no solo, não sendo apenas a adubação convencional uma única fonte para a nutrição das plantas.

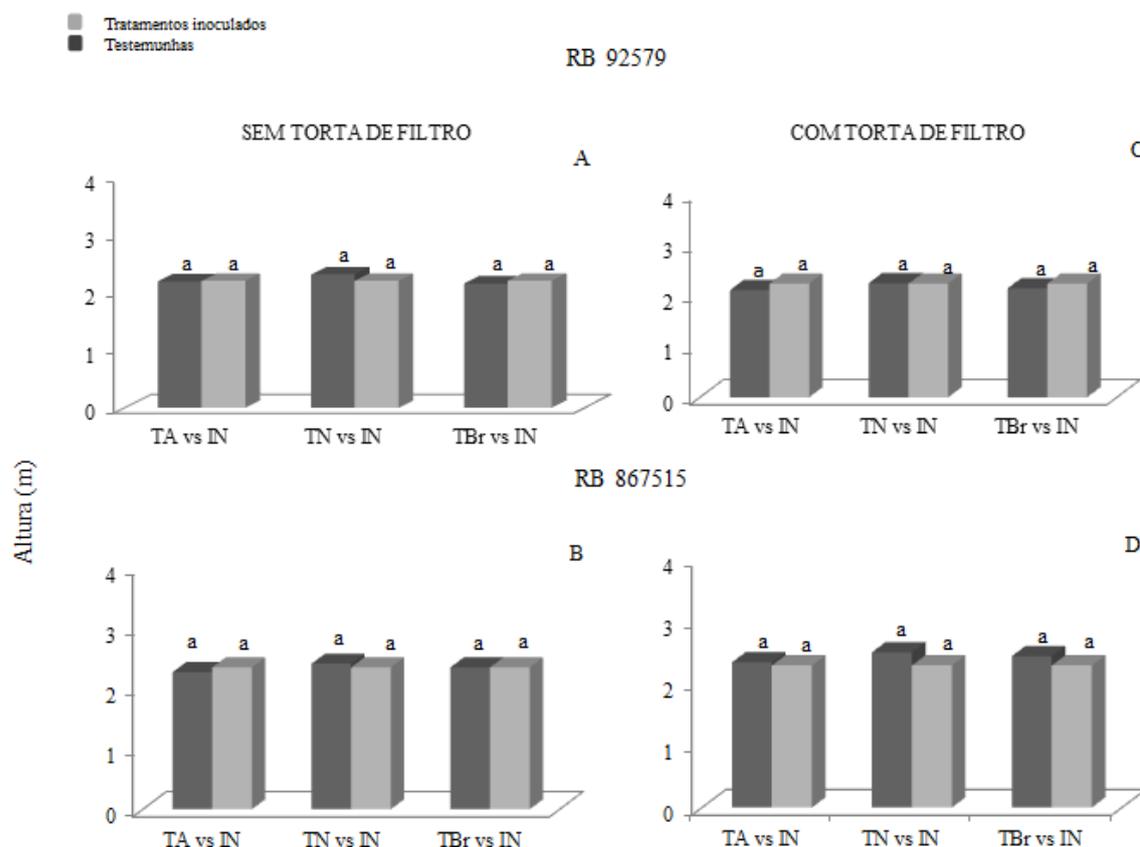


Figura 10. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas na altura das plantas 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p>0,05$)

Plantas que apresentam bom crescimento apresentam uma boa área foliar, o que resulta em uma maior captação de luz solar, fazendo com que a planta produza compostos vitais para o seu desenvolvimento, bem como proporcionando maior acúmulo de biomassa. A avaliação do crescimento é um método considerado simples e capaz de descrever as condições morfofisiológicas da espécie avaliada em diferentes intervalos de tempo (BENINCASA, 2003), permitindo identificar variações no desenvolvimento da cultura (MARAFON, 2012; CIVIERO, 2014).

Para a variável diâmetro do colmo, ao se contrastar TN versus IN, sem torta de filtro para a variedade RB92579, houve diferença estatística, onde a TN apresentou o melhor desempenho (Figura 11A).

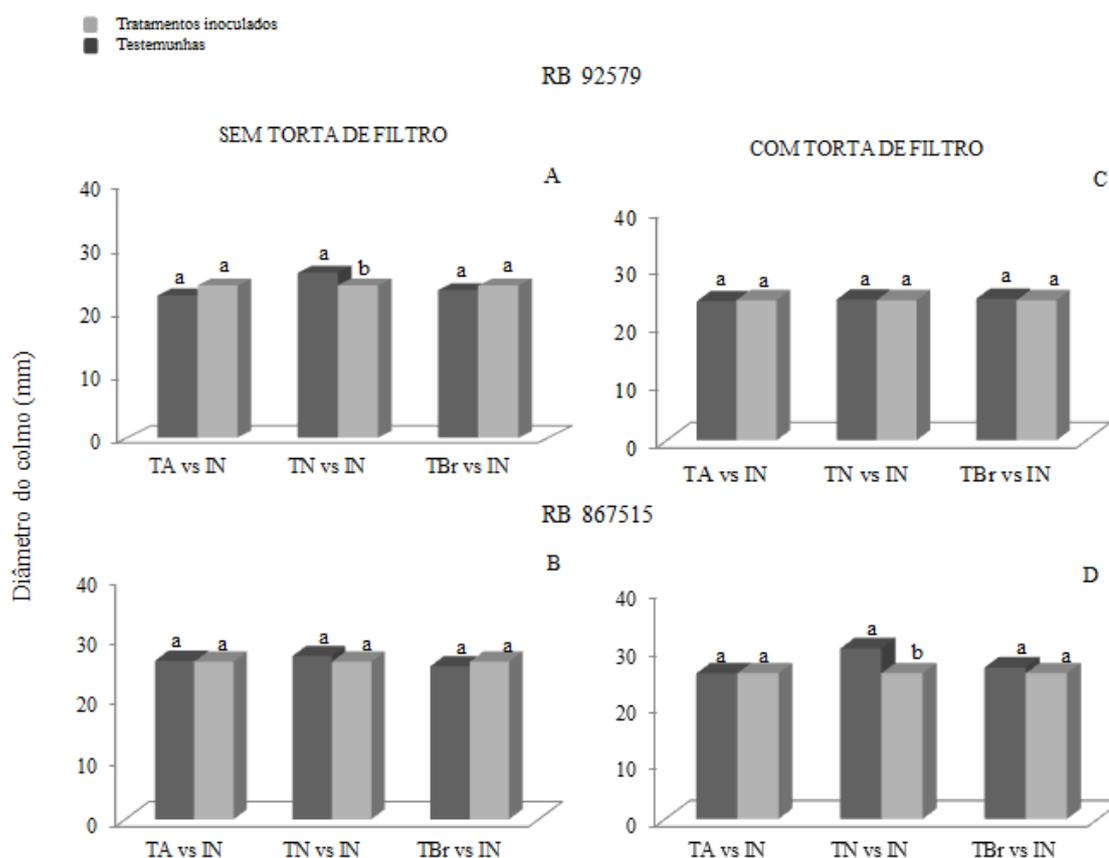


Figura 11. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para diâmetro do colmo aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Quando foi adicionada a torta de filtro, essa diferença foi diluída não sendo mais possível observar diferença entre os tratamentos (Figura 11C). A torta de filtro pode ter proporcionado uma melhoria no ambiente e incrementado a atividade microbiana, inclusive para a TA, onde a população nativa deve ter sido responsável por promover maior liberação de nutrientes para a planta. O comportamento para a variedade RB867515 foi inverso ao demonstrado pela RB92579, onde o maior efeito do TN foi observado com a aplicação de torta de filtro (Figura 11D).

O entendimento da dinâmica de crescimento dos colmos é uma variável importante para a avaliação da produtividade, porque apresenta maior correlação positiva com a produção, contudo, as diferentes variedades, bem como o ambiente em que a cultura está inserida pode fazer variar bastante esta informação (MARAFON, 2012).

O contraste ortogonal para o número de folhas mostrou que o comportamento da variedade RB92579 independente da aplicação de torta de filtro não diferiu (Figura 12). A variedade RB867515 no contraste TN versus IN diferiu. De maneira geral, o número de folhas foi satisfatório neste estudo representando bem o desenvolvimento da cultura, demonstrando as diferenças presentes entre variedades.

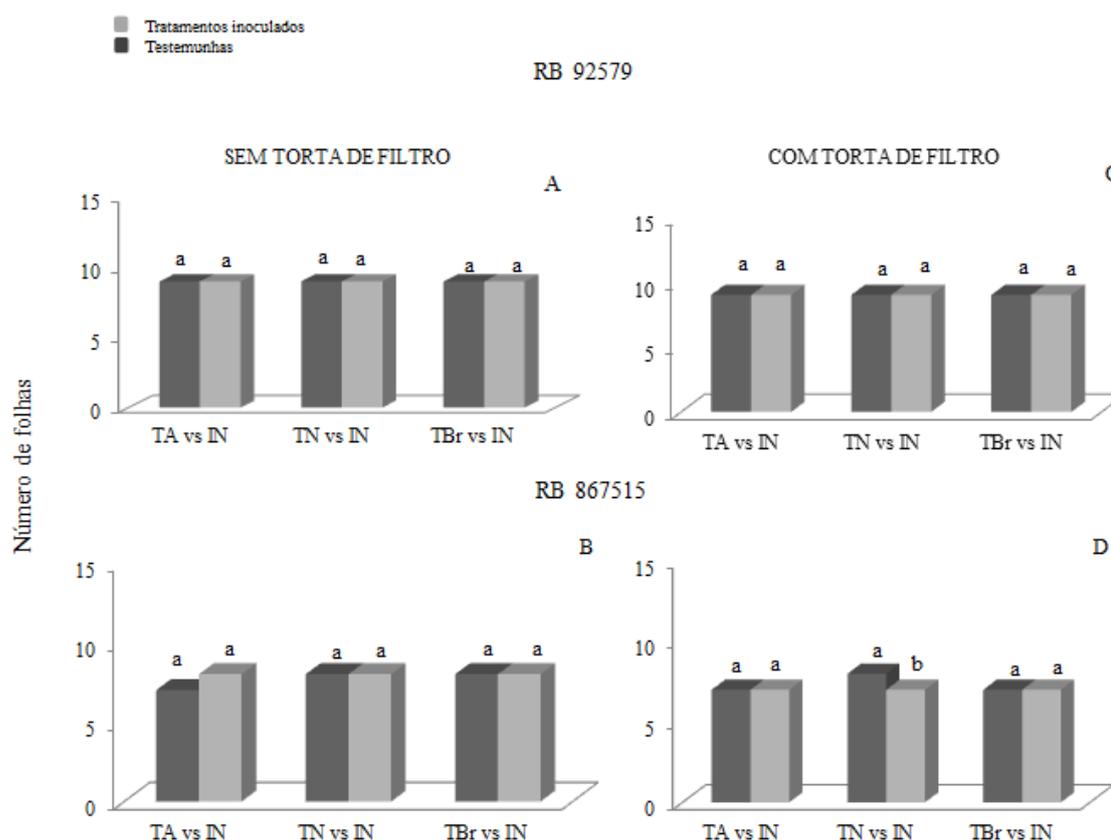


Figura 12. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para número de folhas aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

A utilização de compostos orgânicos, como a torta de filtro, pode reduzir o uso de adubação convencional, proporcionando energia para a atuação de bactérias, tanto de vida livre, como as que necessitem de uma base para se estabelecer, utilizando esses compostos e consequentemente beneficiando a planta associada na interação. MIURA et al. (2016) avaliando a comunidade microbiana em cultivo de cana-de-açúcar observaram que a resposta dos microrganismos bem como a sua funcionalidade são afetados por processos importantes

que ocorrem no solo como sequestro de carbono e o ciclo de nutrientes dependendo da prática de manejo e dos resíduos orgânicos incorporados.

4.4.4 Produtividade agrícola e industrial

A produtividade de colmos (TCH) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos nas duas variedades estudadas. As médias variaram de 51 a 60 Mg ha⁻¹ na variedade RB92579 (TS e TN, respectivamente) e de 48 a 59 Mg ha⁻¹ na variedade RB867515 (Tabela 7).

Esse resultado foi considerado positivo e bastante representativo, pois o uso de bactérias diazotróficas proporcionou produtividade semelhante a testemunha nitrogenada, independente da aplicação de torta de filtro. Se esse resíduo não proporcionou maior atuação das bactérias, também não provocou efeito deletério, podendo ser um bom veículo para carreamento das bactérias, como substrato de inoculação.

Tabela 7. Produtividade agrícola e industrial dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas e nas testemunhas com e sem aplicação de torta de filtro em cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 aos 360 dias após a rebrota, análise da variância, média e coeficiente de variação dos dados

Tratamentos de inoculação	Variedade					
	RB92579		média	RB867515		média
	Sem Torta	Com Torta		Sem Torta	Com Torta	
TCH (Mg ha ⁻¹)						
TA ¹	55,65	53,69	54,67	59,17	53,85	56,51
TN ²	57,36	63,24	60,30	58,31	59,09	58,70
TM ³	46,41	61,99	54,20	44,92	51,34	48,13
TBr ⁴	56,28	54,24	55,25	49,67	57,29	53,48
TP ⁵	51,78	62,14	56,96	60,81	57,76	59,29
TS ⁶	48,68	54,24	51,46	52,91	52,59	52,75
Média	52,69	58,26		54,30	55,32	
	F			F		
Inoculação	0,468 ^{ns}			0,936 ^{ns}		
Torta	2,474 ^{ns}			0,083 ^{ns}		
Inoc*Torta	0,633 ^{ns}			0,347 ^{ns}		
CV (%)	22,09			22,45		
TPH (Mg ha ⁻¹)						
TA ¹	7,74	7,63	7,69	8,23	7,59	7,91
TN ²	6,77	8,39	7,58	8,51	7,76	8,14
MB ³	6,05	8,11	7,08	6,12	7,38	6,75
TBr ⁴	7,62	7,58	7,60	6,85	7,91	7,38
ST ⁵	7,90	8,60	8,25	8,23	7,69	7,95
PT ⁶	7,51	7,05	7,27	7,17	7,80	7,48
Média	7,27	7,89		7,52	7,69	
	F			F		
Inoculação	0,429 ^{ns}			0,592 ^{ns}		
Torta	1,572 ^{ns}			0,101 ^{ns}		
Inoc*Torta	0,689 ^{ns}			0,477 ^{ns}		
CV (%)	22,92			24,69		
ATR (Kg Mg ⁻¹)						
TA ¹	133,58	138,25	135,92A	133,93	136,09	135,01
TN ²	116,53	128,83	122,68B	138,98	128,66	133,82
MB ³	125,47	129,18	127,33B	131,76	138,32	135,04
TBr ⁴	131,13	136,91	134,92A	131,70	134,92	133,31
ST ⁵	144,44	135,07	139,75A	128,95	129,35	129,15
PT ⁶	146,65	127,67	137,16A	130,26	143,38	136,82
Média	132,97	132,65		132,59	135,12	
	F			F		
Inoculação	2,502 [*]			0,483 ^{ns}		
Torta	0,009 ^{ns}			0,680 ^{ns}		
Inoc*Torta	1,982 ^{ns}			1,062 ^{ns}		
CV (%)	8,74			7,92		

¹Testemunha Absoluta; ²Testemunha Nitrogenada; ³Mistura bacteriana (*Stenotrophomonas* sp + *Pantoea* sp); ⁴Testemunha *Burkholderia* residual; ⁵Inoculação com *Stenotrophomonas* sp; ⁶Inoculação com *Pantoea* sp; ⁷Coeficiente de variação = Desvio padrão/Média x 100.

Letras maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas indicam que os efeitos estudados não diferem pelo teste de Scott Knott (p>0,05).

*, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

Dee et al. (2003) compararam os efeitos de diferentes resíduos da indústria da cana-de-açúcar (cinza de caldeira e torta de filtro) na atividade microbiana e identificaram que houve imobilização do N mineral do solo e que os resíduos utilizados foram efetivos no aumento de produtividade e esta relação atividade microbiana/resíduos é bastante complexa.

Os contrastes ortogonais da produtividade agrícola (TCH) e industrial (ATR) demonstraram que independente da aplicação de torta de filtro, não houve diferença entre os contrastes TA versus IN, TN versus IN e TBr versus IN nas duas variedades avaliadas (Figura 13A, B, C, D e Figura 14A, B, C e D).

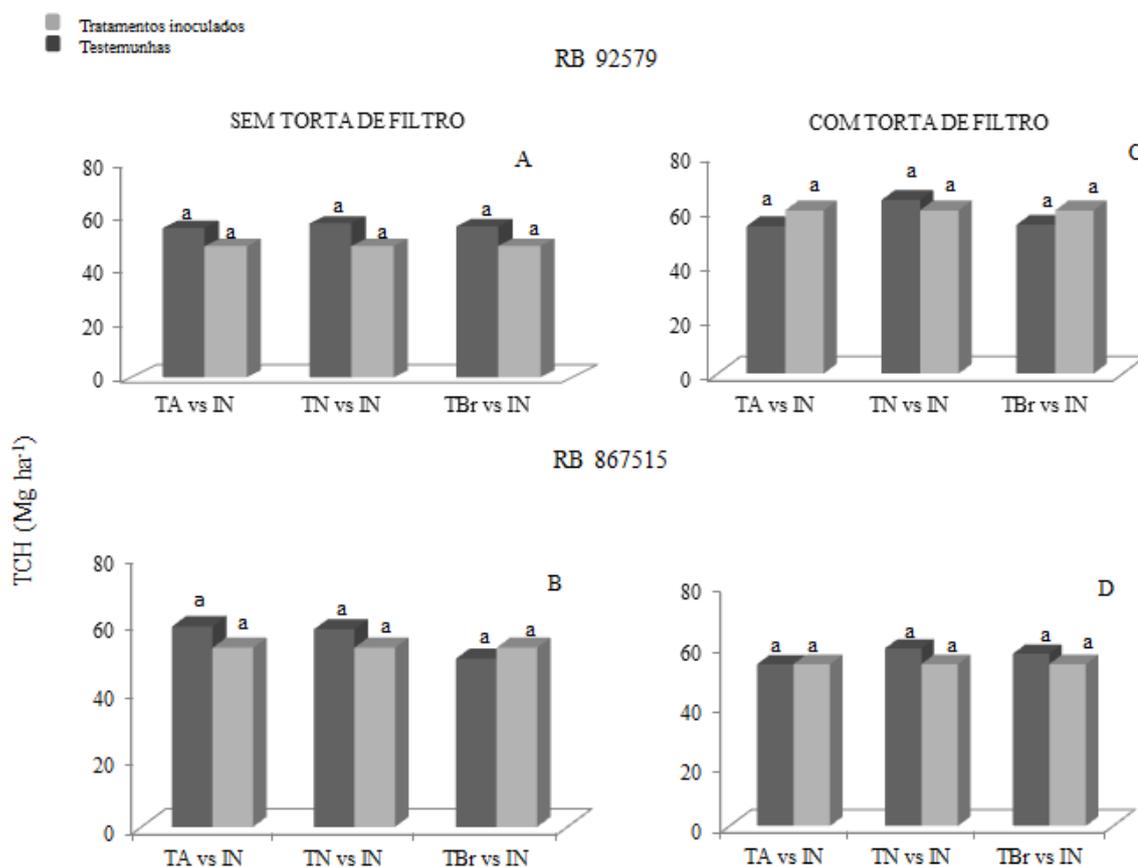


Figura 13. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para produtividade agrícola (TCH) aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

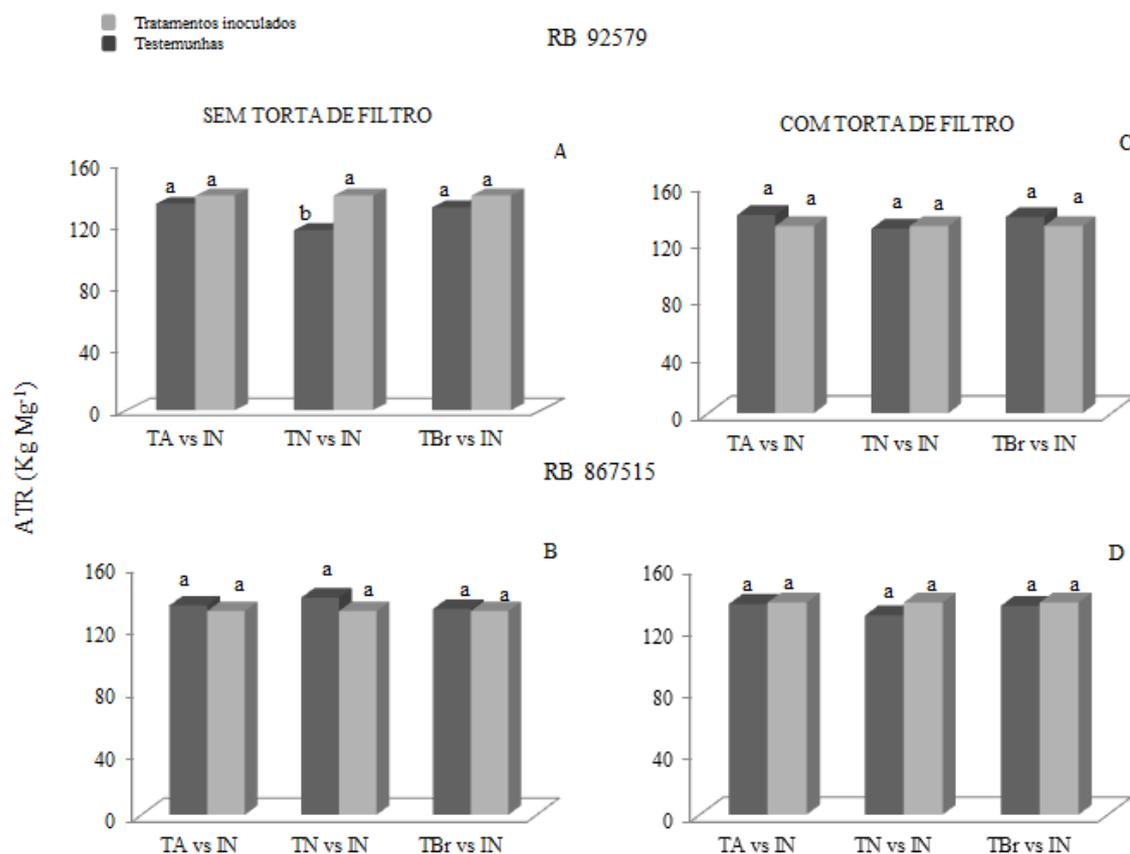


Figura 14. Contraste ortogonal entre as médias dos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas versus a média das testemunhas para produtividade industrial (ATR) aos 360 dias após a rebrota de cana-de-açúcar no segundo ciclo de cultivo (cana soca) nas variedades RB92579 e RB867515 com e sem aplicação de torta de filtro. (TA vs IN – Testemunha absoluta versus Tratamentos inoculados); (TN vs IN – Testemunha nitrogenada versus Tratamentos inoculados); (TBr vs IN – Testemunha *Burkholderia* residual versus Tratamentos inoculados). Letras iguais nas colunas de cada contraste indicam que não houve diferença significativa pelo teste t ($p > 0,05$)

Os dados apresentados neste trabalho diferiram dos resultados encontrados por Fravet et al. (2010), em que a aplicação de torta de filtro diminuiu os sólidos solúveis totais (Brix) do caldo e o Pol da cana, entretanto, foi observado que houve aumento na produtividade de colmos por hectare (TCH) e na produtividade de sacarose por hectare (TPH).

Os dados encontrados nesta pesquisa mostram que a produtividade dos tratamentos inoculados bem como da população nativa foram semelhantes a testemunha nitrogenada, logo, o uso de bactérias pode representar uma alternativa para o cultivo da cana-de-açúcar, principalmente agregada a aplicação de torta de filtro. Sharker et al. (2016) ressaltaram a

importância do uso correto de resíduos, bem como da importância do valor agregado a esta utilização.

Silva et al. (2014) observaram que para TPH e TCH, as variedades SP85-1115, IACSP96-3060, RB867515 e IAC91-1099 obtiveram as maiores médias no primeiro ciclo, com destaque para IACSP96-3060 se comparadas ao segundo ciclo, quando os tratamentos foram submetidos a um ambiente com irrigação plena. De fato, uma boa nutrição e irrigação capacitam as variedades responsivas para melhor manifestarem seu potencial genético (SILVA et al., 2009).

Outro fator importante para alcançar boas produtividades tem relação com o regime hídrico. A variação climática anual na região Nordeste do Brasil tem sido uma das principais causas de redução da produtividade agrícola (ABREU et al., 2013). A disponibilidade de água é essencial para o crescimento e a produtividade da cana-de-açúcar, porque sua deficiência ou excesso pode influir diretamente na produção da cultura. Desta forma, os níveis de produtividade agrícola nos estados do Nordeste ainda são baixos e isso pode estar associado ao déficit hídrico sofrido pela cultura no período de setembro a fevereiro como ocorrido neste ensaio.

Melo et al. (2009), avaliando a produtividade de 19 genótipos de cana-de-açúcar em unidade agroindustrial na Zona da Mata Sul de Pernambuco, identificaram que as variáveis TCH e TPH foram as que mais refletiram a variação fenotípica constatada, devido às causas genéticas, porém, o efeito do ciclo de colheita da cana-de-açúcar foi altamente significativo, indicando o comportamento específico entre os genótipos, durante os ciclos.

Santos et al. (2011) avaliaram a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar em Argissolo Vermelho Distroférrico, adubada com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel inferindo que o uso de torta de filtro associada a doses de fosfato solúvel, elevaram a TPH da cana-de-açúcar, podendo a torta substituir parcialmente a adubação química fosfatada e proporcionar incremento na produção de sacarose.

Para a quantidade de açúcar teórico recuperável (ATR), houve efeito significativo apenas para a variedade RB92579, independente de torta de filtro (Tabela 7). Dentre os atributos tecnológicos analisados, a variável ATR é fundamental para a indústria e para os produtores, porque é em função desta variável que as unidades industriais elaboram o preço pago aos produtores.

Os tratamentos inoculados bem como a testemunha absoluta apresentaram as maiores concentrações de ATR e o menor valor foi obtido pela testemunha nitrogenada, seguida pela

mistura de bactérias. O resultado deste trabalho corrobora os dados obtidos por Santos (2014), onde foi constatado que a adubação nitrogenada causou efeito depressivo do ATR da cana-de-açúcar em Argissolo Amarelo.

Para a variedade RB867515 não foi detectada significância entre os tratamentos inoculados, a aplicação de torta filtro e nem a interação inoculação/torta. Silva et al. (2014) encontraram valores de ATR distintos, de acordo com a variedade de cana-de-açúcar no primeiro ciclo de avaliação. Constataram que as variedades IACSP96-3060 e SP89-1115 apresentaram ATR de 138,17 e 145,38 kg Mg⁻¹ de colmos, respectivamente.

Quando observou-se os contrastes, ficou evidente que na variedade RB92579, a adubação nitrogenada não foi adequada para concentrar açúcares (ATR), causando redução, quando essa testemunha foi contrastada com os tratamentos inoculados (Figura 14A). Os tratamentos inoculados se destacaram e a inoculação das bactérias não se limitou apenas em fornecer N por meio da FBN. A quantidade de N nas plantas inoculadas foi semelhante ao TN, o que levaria a crer que a produtividade também fosse. No entanto, ela foi maior nos inoculados, provavelmente por promover outros benefícios para a cana-de-açúcar, como solubilização de fosfato e produção de ácido indol acético (AIA).

Foi interessante perceber que a variedade RB867515 não diferiu entre testemunhas e inoculados, porém era de se esperar que a TA nas duas variedades alcançassem as menores médias, mas não ocorreu. A TA produziu açúcar nas mesmas proporções que os tratamentos de inoculação e foi superior ao tratamento nitrogenado. Os valores elevados de ATR encontrados neste trabalho nas duas variedades estudadas na TA, independente da adição de torta de filtro, podem estar relacionados, segundo Schultz et al. (2012), a fatores inerentes ao ciclo da cana-de-açúcar e às condições de implantação e condução do ensaio.

4.5 Conclusões

A aplicação de torta de filtro favoreceu a pigmentação fotossintética apenas na variedade RB92579, independente da inoculação das bactérias diazotróficas e da aplicação de N. Os picos fotossintéticos ocorreram aos 300 dias após a rebrota da cana soca.

Nutricionalmente, a torta de filtro elevou os teores de P nas duas variedades, o teor de K na variedade RB867515 e causou um efeito deletério muito significativo no teor de Mg, independente da variedade.

A aplicação de N elevou os teores de N na folha diagnóstica, porém não se diferenciou das plantas inoculadas com *Stenotrophomonas* sp. A adubação nitrogenada também favoreceu a nutrição do S nas duas variedades.

A produtividade agrícola e industrial das plantas adubadas não se diferenciaram das plantas inoculadas com bactérias diazotróficas, independente da aplicação de torta de filtro.

Referências

ABREU, M. L.; SILVA, M. A.; TEODORO, I.; HOLANDA, L. A.; SAMPAIO NETO, G. D. Crescimento e produtividade de cana-de-açúcar em função da disponibilidade hídrica dos Tabuleiros Costeiros de Alagoas. **Bragantia**, Campinas, p. 262-270, 2013.

ALMEIDA, A. C. S.; SOUZA, J. L.; TEODORO, I.; BARBOSA, G. V. S.; MOURA FILHO, G.; FERREIRA JÚNIOR, R. A. Desenvolvimento vegetativo e produção de variedades de cana-de-açúcar em relação a disponibilidade hídrica e unidades térmicas. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 32, n. 5, p. 1441-1448, 2008.

ALMEIDA JUNIOR, A. B.; NASCIMENTO, C. W. A.; SOBRAL, M. F.; SILVA, F. B. V.; GOMES, W. A. Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 10, p. 1004-1013, 2011.

ARAÚJO, E. O. **Quantificação da contribuição de bactérias diazotróficas na absorção de nitrogênio pela cultura do milho**. 2014. 160p. Tese de doutorado. Mato Grosso do Sul: Universidade Federal da Grande Dourados. 2014.

BELTÃO, B. A. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina. [s.l.] **CPRM - Serviço Geológico do Brasil**, p. 11, 2005.

BENEDUZI, A.; MOREIRAS, F.; COSTA, P. B.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AVRETO, R.; BALDANI, J. I.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**. Netherlands, v. 63, n. 3, p. 94-104, 2013.

BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas: noções básicas. Jaboticabal: **FUNEP**, 2003, 41p.

BHATTACHARJEE, R.B; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 80, n. 2, p.199-209, 2008.

BOLOGNA-CAMPBELL, I. **Balço de nitrogênio e enxofre no sistema solo-cana-de-açúcar no ciclo de cana-planta**. Universidade de São Paulo - Piracicaba, 2007. 127 p.

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

CIVIERO, J.C. **Arranjo de plantas em cana-de-açúcar: comportamento do sistema radicular, análise de crescimento, componentes morfológicos e de produção**. 2014. 192p. Tese de Doutorado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2014.

DEE, B. M.; HAYNES, R. J.; GRAHAM, M. H. Changes in soil acidity and the size and activity of the microbial biomass in response to the addition of sugar mill wastes. **Biology and Fertility Soil**, Berlin, v. 37, p. 47-54, 2003.

DOTANIYA, M. L.; DATTA, S. C.; BISWAS, D. R.; DOTANIYA, C. K.; MEENA, B. L.; RAJENDIRAN, S.; REGAR, K. L.; LATA MANJU. Use of sugarcane industrial by-products for improving sugarcane productivity and soil health. **International Journal Recycling of Organic Waste Agriculture**, Amsterdam, v. 5, n.1, p. 185-194, 2016.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, -2.ed. ver. Amp – Brasília, EMBRAPA Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

FARIAS, A. R. B.; LIMA, D. R. M.; LIRA-CADETE, L.; RAMOS, A. P. S; SILVA, M. C. B; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRAI, J. Promoção de crescimento vegetal de feijão comum por bactérias isoladas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**. Recife, v. 17, n. único, p. 101-104, 2012.

FRANCO, H. C. J.; OTTO, R.; FARONI, C. E.; VITTI, A. C.; De OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O. Nitrogen in sugarcane derived from fertilizer under Brazilian field conditions. **Field Crops Research**, Netherlands, v. 121, n. 1, p. 29–41, 2011.

FRAVET, P. R. F.; SOARES, R. A. B.; LANA, R. M. Q.; LANA, A. M. Q.; KORNDORFER, G. H. Efeito de doses de torta de filtro e modo de aplicação sobre a produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 618 – 624, 2010.

GARCIA, J. C.; VITORINO, R.; AZANIA, C. A. M.; SILVA, D. M. BELUCI, L. R. Inoculação de bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar, variedade RB867515. **Nucleus**, Cuba, v.10, n.1, p. 99-107, 2013.

GIRIO, L. A. S.; DIAS, F. L. F.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S.; SCHULTZ, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M. A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial da cana-de-açúcar provenientes de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n.1, p. 33-43, 2015.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas a deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 4, p. 378-386, 2010.

GONZAGA, G. B. M. **Avaliação do crescimento inicial da cana-de-açúcar, variedade RB867515, sob o efeito de bactérias endofíticas.** 2012, 53p. Alagoas: Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, 2012.

IPA– Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco.** 2ª ed. Recife, 2008. 198p.

KORNDÖRFER, G. H.; MELO, S. P. de. Fontes de fósforo (fluida ou sólida) na produtividade agrícola e industrial da cana-de-açúcar. **Ciência e Agrotecnologia.** Lavras-MG, v. 33, n. 1, p. 92-97, 2009.

KORNDÖRFER, G. H.; OLIVEIRA, LA de. **O potássio na cultura da cana-de-açúcar. Potássio na agricultura brasileira.** Piracicaba: ESALQ/USP, p. 469-490, 2005.

KRAISER, T.; GRAS, D. E.; GUTIÉRREZ, A. G.; GONZÁLEZ, B.; GUTIÉRREZ, R. A. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n.4, p. 1455-1466, 2011.

LAVIOLA, B. G.; MARTINEZ, H. E. P.; SOUZA, R. B.; ALVAREZ V., V. H. Dinâmica de cálcio e magnésio em folhas e frutos de *Coffea arábica*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n.1, p. 319 – 329, 2007.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, 2001.

LIMA NETO, J. F. et al. Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v. 18, n. 1, p. 8–13, 2013.

LIMA, D. R. M. **Fixação biológica de nitrogênio e nutrição nitrogenada em cana planta inoculadas com bactérias diazotróficas.** 2016. 90 p. Tese de doutorado. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2016.

LIMA, D. R. M. **Bactérias fixadoras de nitrogênio associadas a plantas de cana-de-açúcar cultivadas em Pernambuco.** 2012. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). UFRPE, Recife-PE, 2012.

LIRA-CADETE, L.; FARIAS, A. R. B.; RAMOS, A. P. S.; COSTA, D. P.; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Variabilidade genética de bactérias diazotróficas associadas a plantas de cana-de-açúcar capazes de solubilizar fosfato inorgânico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n.1, p. 122-129, 2012.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas.** Piracicaba: Ceres, 1980.

MARAFON, A. C.; Análise Quantitativa de Crescimento em Cana-de-Açúcar: uma Introdução ao Procedimento Prático. Aracaju, **EMBRAPA**, 2012. 29 p. (Documentos, 168).

MARQUES, T. A.; SILVA, W. H. Crescimento vegetativo e maturação em três cultivares de cana-de-açúcar. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 8, n. 1, p. 54 – 59, 2008.

- MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 295-301, 2001.
- MELO, L. J. O. T.; SILVA, M. A.; ECHER, F. R. Desempenho agroindustrial de cultivares de cana-de-açúcar na zona da mata litoral sul de Pernambuco. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 684-691, 2009.
- MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**, Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2005. 107p.
- MIURA, T.; NISWATI, A.; SWIBAWA, I. G.; HARYANI, S.; GUNITO, H.; ARAI, M.; YAMADA, K.; SHIMANO, S.; KANECO, N.; FUJIE, K. Shifts in the composition and potential functions of soil microbial communities responding to a no-tillage practice and bagasse mulching on a sugarcane plantation. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, n. 52, p. 307-322, 2016.
- MOORE, C. C. S.; NOGUEIRA, A. R.; KULAY, L. Environmental and energy assessment of the substitution of chemical fertilizers for industrial wastes of ethanol production in sugarcane cultivation in Brazil. **The International Journal Life Cycle Assessment**, Landsberg, DOI <10.1007/s11367-016-1074-0, 2016>.
- MORAIS, R. F.; QUESADA, D. M.; REIS, V.M. ; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Scchum.) **Plant and Soil**, Benthelem, v. 356, n. 1-2, p.23-34, 2012.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Minas Gerais: Editora UFLA, 2006. 729p.
- MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Piauí, v.2, n.1, p.74-99, 2010.
- O'NEIL, P. M.; SHANAHAM, J. F.; SCHEPERS, J. S.. Use of chlorophyll fluorescence assessment to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, Shelton, v. 46, p. 681-687, 2006.
- PROCÓPIO, S. O.; FERNANDES, M. F.; TELES, D. A.; SENA FILHO, J. G. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar à bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 1079-1089, 2011.
- RAIJ, B. VAN; CANTARELLA, H. Outras culturas industriais. In: Raij, B. van; C. H.; Quaggio, J. A.; Furlani, A. M. C. (coord.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundação IAC, 1996. p.233-236.
- REIS, V. M. TEIXEIRA, K. R. S. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.

ROSSETO, R.; DIAS, F. L. F. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar: indagações e reflexões. **Informações Agronômicas**, n. 110, p. 6-11, 2005.

SANTOS, D. H., SILVA, M. D. A., TIRITAN, C. S., FOLONI, J. S., ECHER, F. R. Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, p. 443-449, 2011.

SANTOS, R. L. **Molibdênio no metabolismo e na fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar**. 2014. 135p. Tese de doutorado. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2014.

SANTOS, H. G. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3ª Edição, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Solos, Rio de Janeiro, 2013.

SARDAR, S, ILYAS, S.U.; MALIK, S.R.; JAVAID, K. Compost fertilizer production from sugar press mud (SPM). **International Journal of Microbiology Research**, Oxford, v.2, n.1, p. 20–27, 2013.

SCHULTZ, N. MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. 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.

SCHULTZ, N.; MONTE, J. A.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; MARTINS, D. S. Avaliação do estado nutricional de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com fertilizante nitrogenado. **Anais da Semana Científica Johanna Döbereiner**, 2013.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Produtividade e diluição isotópica de ¹⁵N em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1594-1601, 2016.

SHARKER, T. C.; AZAM, S. Md. G. G.; BONANOMI, G. Recent advances in sugarcane industry solid by-products valorization. **Waste Biomass Valor**, Netherlands, p. 1-26, < DOI 10.1007/s12649-016-9665-3>, 2016.

SILVA, J. R.; OLIVEIRA LEMES, E.; CHOZE, R.; ANDRADE, E. D. Análise do controle de qualidade na produção de ketchup e criação de um novo produto. **Revista Latino-Americana de Inovação e Engenharia de Produção**, Paraná, v. 4, n.5, p. 87-103, 2016.

SILVA, M. A.; ARANTES, M. T.; RHEIN, A. F. L.; GAVA, G. J. C.; KOLLN, O. T. Potencial produtivo da cana-de-açúcar sob irrigação por gotejamento em função de variedades e ciclos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 3, p. 241-249, 2014.

SILVA, M.F.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; REIS, V. M. Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 44, n. 11, p. 1437-1443, 2009.

SIMÕES NETO, D. E. Variedades de cana-de-açúcar no estado de Pernambuco, contribuição do melhoramento genético clássico da RIDESA-UFRPE. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 5 e 6, p. 125-146, 2009.

SOLOMON, S. Sugarcane by-products based Industries in India. **Sugar Tech**, New Delhi, v.13, n. 4, p. 408-416, 2011.

STREIT, N.M., CANTERLE, L.P., CANTO, M.W., HECKTHEUER, L.H.H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p. 748-755. 2005.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3ª ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.

TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2ªed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).

TELLECHEA, F. R. F.; MARTINS, M. A.; SILVA, A. A.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; MARTINS, M. L. L. Use of sugarcane filter cake and nitrogen , phosphorus and potassium fertilization in the process of bioremediation of soil contaminated with diesel. **Environmental Science Pollution Research**, Amsterdam, v. 23, n. 18, p. 18027-18033, 2016.

**5 DECOMPOSIÇÃO DE RESÍDUOS DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA
INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS EM DIFERENTES SOLOS**

Decomposição de resíduos da agroindústria canavieira inoculados com bactérias diazotróficas em diferentes solos

Resumo

A decomposição é um processo de mineralização da matéria orgânica e depende de fatores como o ambiente físico, a composição do material a ser decomposto e a comunidade de micro-organismos envolvida. A fixação biológica de N em cana-de-açúcar tem sido estudada e comprovada na maioria desses estudos. Uma das dificuldades desse processo é encontrar soluções para a inoculação de bactérias diazotróficas em plantas de cana-de-açúcar no campo, que seja o mais eficiente possível. Uma das alternativas pode ser o uso dos resíduos produzidos pela própria indústria da cana-de-açúcar, como substratos para essa inoculação. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de decomposição de resíduos da agroindústria canavieira enriquecidos com bactérias diazotróficas coletadas, isoladas e identificadas na própria cultura, bem como monitorar os teores de C, N e relação C/N do resíduo em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes. Um experimento foi montado em casa-de-vegetação constando de oito tratamentos: composto (torta de filtro + cinzas de caldeira), torta de filtro isolada e (composto + vinhaça), inoculados e não inoculados com bactérias diazotróficas em dois solos de texturas contrastante (arenoso e argiloso) e quatro repetições. As bactérias inoculadas foi uma mistura das estirpes *Pantoea* sp. e *Stenotrophomonas* sp. Os resíduos foram acondicionados em sacos de decomposição (*litter bags*) e realizadas cinco coletas nos tempos 0, 20, 40, 60, 80 e 100 dias após o início do período de decomposição. Foram avaliados a constante de decomposição (k) da massa remanescente, os teores de N, C e a relação C/N dos resíduos. A massa remanescente dos resíduos da agroindústria canavieira diminuiu com o tempo de decomposição, que se intensificou quando os resíduos foram combinados e inoculados com bactérias diazotróficas. A decomposição da torta de filtro pode ser intensificada quando utilizada combinada com vinhaça e/ou bactérias diazotróficas. A taxa de mineralização do nitrogênio total no início da decomposição dos resíduos foi maior do que a do carbono orgânico total, principalmente nos tratamentos com vinhaça e bactérias diazotróficas, incrementando a relação C/N, que só se reduziu na segunda metade do período de decomposição.

Palavras-chave: Taxa de decomposição de resíduos. Inoculação de bactérias. Relação C/N. Dinâmica do carbono orgânico.

Decomposition of sugarcane agroindustry residues inoculated with diazotrophic bacteria in different soils

Abstract

The decomposition is a process of mineralization of organic matter and depends on factors such as the physical environment, the composition of the material to be decomposed and the community of microorganisms involved. The biological fixation of N in sugarcane has been studied and proven in most of these studies. One of the difficulties of this process is to find solutions for the inoculation of diazotrophic bacteria in sugarcane plants in the field, which is as efficient as possible. One of the alternatives may be the use of residues produced by the sugarcane industry itself, as substrates for this inoculation. So, the objective this work was to evaluate the rate of decomposition of sugarcane agroindustry residues enriched with diazotrophic bacteria collected, isolated and identified in the crop, as well as to monitor the C, N and C/N ratio of the residue as a function of time of decomposition in contrasting textured soils. An experiment was brought in a greenhouse consisting of eight treatments: compost (filter cake + boiler ash), filter cake and compost + vinasse, inoculated and not inoculated with diazotrophic bacteria in two contrasting soils (sandy and clayey) and four replicates. As bacteria inoculated into a mixture of the strains *Pantoea* sp. and *Stenotrophomonas* sp. The residues were packed in *litter bags* and five collections were carried out at 0, 20, 40, 60, 80 and 100 days after the start of the decomposition period. The decomposition constant (k) of the remaining mass, the N, C content and the C/N ratio of the residues were evaluated. The remaining mass of the sugar cane agroindustry residues decreased with the decomposition time, which intensified when the residues were combined and inoculated with diazotrophic bacteria. The decomposition of the filter cake may be enhanced when used in combination with vinasse and/or diazotrophic bacteria. The total nitrogen mineralization rate at the beginning of the waste decomposition was higher than that of the total organic carbon, especially in the vinasse and diazotrophic bacteria treatments, increasing the C/N ratio, which was only reduced in the second half of the decomposition period.

Keywords: Rate of decomposition of residues. Inoculation of bacteria. C/N ratio. Organic carbon dynamic.

5.1 Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta perene pertencente à família *Poaceae* que possui como principal característica a abundante capacidade de perfilhamento na fase inicial de crescimento (OLIVEIRA et al., 2004). A produção de açúcar e álcool da agroindústria da cana-de-açúcar vem aumentando significativamente nos últimos anos e na medida em que ocorre esse incremento, aumenta também a geração de resíduos oriundos da indústria sucroalcooleira que, se dispostos de forma incorreta, podem trazer grandes prejuízos ambientais (ROLZ et al., 2010).

Os principais resíduos gerados na indústria da cana-de-açúcar são o bagaço, a torta de filtro e a vinhaça. O bagaço tem se destinado a produção de energia, como biomassa energética, com pouca utilização agrícola. A torta de filtro é um resíduo oriundo da filtração a vácuo do lodo retido nos clarificadores, portanto só é gerado quando se produz açúcar. Este resíduo é um composto orgânico rico em fósforo (P), cálcio (Ca), e micronutrientes, como cobre (Cu), zinco (Zn) e ferro (Fe) que são essenciais para as culturas, possuindo ainda uma relação C/N elevada (SANTOS et al., 2014).

O principal nutriente da torta de filtro é o P (MOORE et al., 2016). O P da torta de filtro é orgânico e pode ser liberado para o solo de forma gradativa por mineralização realizada por micro-organismos do solo. Nunes Júnior (2008) relatou que a torta de filtro é um produto orgânico excelente para a recuperação de solos com baixa fertilidade, disponibilizando o P para o ambiente, porém possui baixo teor de potássio (K), o que sugere a combinação desse resíduo com a vinhaça, que é gerada em abundância pela indústria sucroalcooleira.

A vinhaça é o principal efluente líquido gerado na fabricação de álcool e aguardente na agroindústria canavieira, após a fermentação do mosto e destilação do vinho. Da mesma forma que a torta de filtro, sua composição pode ser bastante variável, apresentando baixo pH, forte odor característico e coloração marrom escura. A vinhaça é rica em K prontamente disponível para as plantas (BEBÉ et al., 2009; ZOLIN et al., 2011), característica muito importante na utilização desse resíduo como insumo agrícola.

Devido à natureza orgânica desses resíduos, os efeitos benéficos deles para o solo têm sido objeto de estudos a algum tempo (BEBÉ et al., 2009; ZOLIN et al., 2011). A torta de filtro decomposta, bem como a vinhaça podem alterar as características químicas e físicas do solo quando aplicadas em quantidades suficientes e adequadas para atender as exigências nutricionais da cultura. As características intrínsecas dos resíduos, associadas às condições

edafoclimáticas, alteram a sua velocidade de decomposição, refletindo sobre a disponibilidade de nutrientes ao solo (AITA; GIACOMINI, 2003).

Segundo Andreotti et al. (2015), por se tratar de um processo biológico, a dinâmica da decomposição de resíduos vegetais irá depender de uma série de fatores, dentre eles a fertilidade e o pH do solo, o manejo da cultura, o material vegetal depositado, dentre outro. Desta forma a compreensão da dinâmica de decomposição dos resíduos vegetais bem como a taxa de liberação de nutrientes é essencial para compreender quais os benefícios provenientes do processo em condições edafoclimáticas distintas.

A atividade biológica do solo é responsável por atuar em processos considerados fundamentais no ecossistema, como decomposição de resíduos vegetais e animais, ciclagem de nutrientes e relações simbióticas, entre outras (MONSON et al., 2006). Cerca de 90% da biomassa microbiana do solo é composta por fungos e bactérias, onde, deste total, a comunidade bacteriana do solo possui maior abundância, sendo estimada em 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC's) por grama de solo, sendo o crescimento e o desenvolvimento dos micro-organismos dependente da interação de fatores bióticos e abióticos do sistema.

Estudos que associem a decomposição de resíduos a tipos específicos de bactérias não são comuns, e com bactérias diazotróficas ainda menos, mas para que haja decomposição é necessário que haja a atuação de micro-organismos que acessem o material, liberando nutrientes. As bactérias diazotróficas são responsáveis por promover a fixação biológica do N atmosférico (FBN) e esses micro-organismos podem alterar a estrutura populacional de outros organismos ao longo da cadeia trófica, afetando processos vitais do solo, como a decomposição e a ciclagem de nutrientes. Restrição no uso desses micro-organismos pode impactar o sistema agrícola à maior dependência por fertilizantes minerais (MOREIRA et al., 2010).

Desta forma, a utilização de resíduos da indústria sucroalcooleira tem sido uma alternativa viável para a utilização na agricultura, não sendo apenas uma estratégia de marketing, e sim uma alternativa em relação aos custos elevados dos adubos minerais solúveis tradicionais e por proporcionar incrementos na produtividade, gerando subsídio para o melhor aproveitamento destes resíduos e, se associados a inoculação de bactérias, o processo de decomposição pode ser acelerado, otimizando a mineralização de nutrientes para o solo.

Por outro lado, as bactérias diazotróficas que têm sido estudadas como alternativa ao fornecimento de N em gramíneas, principalmente cana-de-açúcar (SCHULTZ et al., 2016) mas, precisam encontrar um substrato adequado. Pode ser que os próprios resíduos da

agroindústria canavieira sejam um potencial substrato, onde as bactérias possam crescer e atuar, exercendo suas funções, como promotoras de crescimento vegetal. Portanto, estudar essa associação bactéria diazotrófica/ resíduo é importante em busca de novos conhecimentos que possam minimizar o uso elevado de fertilizantes minerais, que impactam negativamente no ambiente de produção agrícola.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de decomposição de resíduos da agroindústria canavieira enriquecidos com bactérias diazotróficas coletadas, isoladas e identificadas na cultura da cana-de-açúcar, bem como monitorar os teores de C, N e relação C/N do resíduo em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Caracterização do local, dos solos e dos resíduos utilizados no ensaio

O experimento foi instalado em casa-de-vegetação da Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina EECAC/UFRPE localizada no município do Carpina, Zona da Mata Norte de Pernambuco. O clima, segundo a classificação de Koppen, é do tipo As' - tropical chuvoso com déficit hídrico nos meses de verão (BELTRÃO et al., 2005). A temperatura média e a umidade relativa do ar da casa-de-vegetação durante a condução do experimento foram monitoradas utilizando termo-higrômetro digital, que registrou temperaturas de 32 ± 5 °C e 52 % de umidade média relativa do ar.

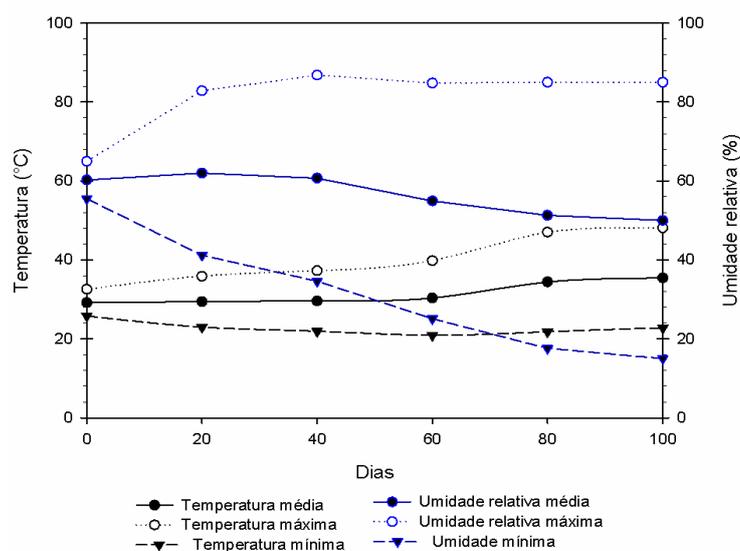


Figura 1. Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação durante o período de condução do experimento

Foram montados recipientes contendo dois tipos de solos, um de textura areia e o outro com textura muito argilosa, oriundos de áreas produtoras de cana-de-açúcar. Estes solos foram escolhidos por conterem teores de argila considerados baixo e alto respectivamente, sendo eles de 52 e 692 g kg⁻¹. O solo arenoso foi cedido pela usina Trapiche, localizada no município de Sirinhaém - Pernambuco retirado de área comercial na profundidade de 0,0 – 0,20 m. O solo argiloso foi cedido pela usina Santa Teresa localizada no município de Goiana, Zona da Mata Norte de Pernambuco, na mesma profundidade.

Os solos coletados foram colocados para secar ao ar, destorroados e peneirados em peneira com malha de 4,0 mm de abertura. Cada solo foi pesado convencionando-se que cada bandeja contivesse 10 kg de solo, onde foram enterradas as *litter bags*. Os recipientes foram previamente limpos e divididos em quadrantes para separar os tratamentos utilizando faixas de isopor impermeabilizados com filme plástico, evitando assim a contaminação de material de um quadrante para outro, conseqüentemente de um tratamento para outro. Os solos utilizados nesse ensaio foram caracterizados, tanto física como quimicamente de acordo com a metodologia preconizada por Silva et al. (2009) (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos dos solos na profundidade 0,0 – 0,20 m utilizados no experimento de decomposição

Atributos	Solos	
	Arenoso	Argiloso
pH _{água} (1:2,5)	5,1	4,8
(H+Al) (cmol _c dm ³)	2,1	2,0
Ca ²⁺ (cmol _c dm ³)	2,3	3,3
Mg ²⁺ (cmol _c dm ³)	0,3	0,8
Al ³⁺ (cmol _c dm ³)	0,1	0,5
Na ⁺ (cmol _c dm ³)	0,02	0,11
K ⁺ (cmol _c dm ³)	0,13	0,05
P (mg dm ⁻³)	32	3
N total (g kg ⁻¹)	0,60	0,50
Relação C/N (g kg ⁻¹ /g kg ⁻¹)	13	12
COT (g kg ⁻¹) ¹	8	6
SB (cmol _c dm ³) ²	2,75	4,27
CTC efetiva (cmol _c dm ³) ³	2,85	4,76
CTC potencial (cmol _c dm ³) ⁴	4,85	6,27
V (%) ⁵	57	68
m (%) ⁶	4	10
Areia Total (g kg ⁻¹)	907	256
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	659	219
Areia Fina (g kg ⁻¹)	248	37
Silte (g kg ⁻¹)	41	52
Argila (g kg ⁻¹)	52	692
Classe Textural	Areia	Muito argilosa
Ds (Mg m ⁻³) ⁷	1,58	1,16
Dp (Mg m ⁻³) ⁸	2,53	2,50
PT (%) ⁹	38	54
Θ _{cc} (Mg Mg ⁻¹) ¹⁰	0,05	0,30
Θ _{pmp} (Mg Mg ⁻¹) ¹¹	0,02	0,17

¹Carbono orgânico total; ²Soma de Bases; ³Capacidade de troca de cátions efetiva; ⁴Capacidade de troca de cátions potencial; ⁵Saturação por bases; ⁶Saturação por alumínio; ⁷Densidade do solo; ⁸Densidade de partículas; ⁹Porosidade total; ¹⁰Umidade na capacidade de campo; ¹¹Umidade no ponto de murcha permanente.

Para caracterização química do solo, foi aferido o pH em água na proporção de (1:2,5), foram determinados os cátions Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} , extraídos com KCl e dosados por espectrofotometria de absorção atômica. Os cátions Na^+ e K^+ e o P foram extraídos com Mehlich-1, sendo o Na^+ e o K^+ dosados por fotometria de chama e o P dosado por colorimetria. A acidez potencial (H+Al) foi extraída com acetato de cálcio e dosada por titulometria (SILVA et al., 2009).

Foram analisados também o carbono orgânico total (COT) por combustão úmida com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e titulado com sulfato ferroso amoniacal (SILVA et al., 2009) e o N total do solo por extração sulfúrica e posterior destilação pelo método Kjeldahl de acordo com a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995).

De posse dos resultados destas análises, foram calculadas a saturação por bases (V), a saturação por alumínio (m), a capacidade de troca de cátions efetiva (CTC efetiva) e a capacidade de troca de cátions potencial (CTC potencial). As análises químicas do solo foram realizadas no laboratório de Química do Solo da UFRPE.

Como caracterização física do solo, foram determinadas granulometria, densidade do solo (Ds), densidade de partículas (Dp) e umidades na capacidade de campo (Θ_{cc}) e no ponto de murcha permanente (Θ_{PMP}) (DONAGEMA et al., 2011).

Com os resultados da granulometria do solo foi possível definir a classe textural e com as densidades foi calculada a porosidade total do solo. As análises físicas do solo foram realizadas no Laboratório de Análises de Solos da EECAC-UFRPE.

O resíduo utilizado como base no experimento foi a torta de filtro, a partir dele foram desmembrados os tratamentos, sendo eles a torta de filtro enriquecida com cinza de caldeira e a torta acrescida de vinhaça. Tanto a torta de filtro como a vinhaça foram cedidas pela Usina Petribu. Os resíduos foram caracterizados quimicamente (Tabela 2).

Tabela 2. Atributos químicos dos resíduos da agroindústria canavieira

Atributos	Resíduos		
	Composto (Torta + Cinzas)	Torta de filtro	Vinhaça
pH _{água} (1:2,5)	5,91	4,30	4,38
Ca (mg kg ⁻¹)	0,59	0,19	0,08
Mg (mg kg ⁻¹)	0,07	0,04	0,02
Na (mg kg ⁻¹)	0,02	0,08	0,01
K (mg kg ⁻¹)	5,57	6,37	3,18
P (mg dm ⁻³)	13	13	10
N total (g kg ⁻¹)	1,49	1,68	8,16
Relação C/N (g kg ⁻¹ /g kg ⁻¹)	47	54	11
COT (g kg ⁻¹) ¹	70,04	90,22	91,31
CO _{FAH} (g kg ⁻¹) ²	11,50	13,70	6,29
CO _{FAF} (g kg ⁻¹) ³	3,66	5,06	0,36
CO _{FHU} (g kg ⁻¹) ⁴	9,05	11,32	0,00
SH (g kg ⁻¹) ⁵	24,21	30,08	6,65

¹Carbono orgânico total; ²Carbono orgânico na fração ácidos húmicos; ³Carbono orgânico na fração ácidos fúlvicos; ⁴Carbono orgânico na fração humina; ⁵Substâncias húmicas.

O pH foi aferido em água, o Ca, Mg, Na, K e P foram extraídos por digestão nitro-perclórica, conforme metodologia proposta por Silva et al. (2009). O Ca e Mg foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, o Na e K por fotometria de chama e o P por colorimetria.

O N total foi extraído por digestão sulfúrica e posterior destilação em aparelho Kjeldahl. O COT foi determinado por digestão via úmida por dicromato de potássio e titulação com sulfato ferroso amoniacal. A matéria orgânica foi calculada a partir dos dados do COT, utilizando-se um fator de correção (2,0). As substâncias húmicas foram determinadas segundo metodologia descrita por Mendonça e Matos (2005).

5.2.2 Descrição dos tratamentos

Os tratamentos formaram as diferentes variações de torta de filtro (torta acrescida de cinzas e/ou vinhaça) com e sem inoculação de bactérias diazotróficas (Tabela 3).

Tabela 3. Descrição da composição dos tratamentos no ensaio de decomposição dos resíduos da agroindústria canavieira

Tratamento	Composição
P1	Composto (torta de Filtro + cinza de caldeira)
P2	Torta de Filtro
P3	Composto + Vinhaça
P4	Torta de Filtro + Vinhaça
P5	Composto + Bactérias
P6	Torta de Filtro + Bactérias
P7	Composto + Vinhaça + Bactérias
P8	Torta de Filtro + Vinhaça + Bactérias

As bactérias utilizadas no ensaio foram oriundas da coleção de bactérias do Laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) da UFRPE e foram escolhidas por apresentar potencial promissor para FBN (Tabela 4). As bactérias escolhidas formaram uma mistura das estirpes *Stenotrophomonas* sp. e *Pantoea* sp.

Tabela 4. Origem e identificação de bactérias pertencentes à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE), isoladas de plantas no segundo ciclo de cultivo (cana soca) na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar do Carpina (EECAC) em Pernambuco

Linhagem	Identificação	Origem		
		Nicho	Variedade	Tempo de cultivo
UAGC 865	<i>Pantoea</i> sp	Rizosfera	RB92579	4 meses
UAGC 869	<i>Stenotrophomonas</i> sp	Rizosfera	RB867515	4 meses
-	Mistura bacteriana	-	-	-

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, constando de oito tratamentos com resíduos da agroindústria canavieira em dois tipos de solos, na presença e ausência de inoculação e cinco tempos de avaliação, com quatro repetições, perfazendo um total de 320 unidades experimentais.

5.2.3 Ensaio experimental

As estirpes bacterianas foram repicadas em placas de petri contendo meio sólido TSA (Trypcase Soy Agar) para o crescimento e obtenção de colônias isoladas (LIMA, 2012; FARIAS, 2012).

As placas de petri foram mantidas sob refrigeração e em seguida, as colônias isoladas foram inoculadas em 500 mL de meio TSA líquido e incubadas por 24 h sob agitação constante (150 rpm) em mesa agitadora horizontal. Em seguida, esses pré-inóculos foram transferidos para Erlenmeyers de 1.000 mL contendo meio TSA líquido mantido sob agitação constante (150 rpm) por 72 h. Após esse período, os recipientes foram conduzidos para a área experimental e *in loco*, foi realizada a diluição das bactérias em água, na proporção de 1:50 (BENEDUZI et al., 2013) para atingir 10^8 unidades formadoras de colônias – UFC mL⁻¹ (LIMA, 2012) e serem aplicadas apenas nas parcelas correspondentes a cada tratamento com inoculação.

As unidades experimentais foram *litter bags* confeccionadas em material sintético (*nylon*), nas dimensões de 12 x 12 cm, tendo sua extremidade superior fechada manualmente com linha de *nylon*, ou seja, se fez necessário a utilização de material que fosse isento de algodão em sua composição. Cada *litter bag* continha aproximadamente 40 g de resíduo (base de massa seca) da agroindústria canavieira. (Figura 2).



Figura 2. Detalhe da *litter bag* de decomposição contendo resíduo, fechada manualmente (A). Recipientes com as *litter bags* identificadas e enterradas nos solos de textura contrastantes (B)

Para os tratamentos que receberam vinhaça, foi estabelecido o volume de 20 mL da vinhaça maturada para cada *litter bag* e para os tratamentos que receberam a mistura bacteriana, convencionou-se utilizar 25 mL da mistura bacteriana. Após embeber a vinhaça e as bactérias nas *litter bags*, elas foram enterradas nas bandejas com os solos arenoso e

argiloso. Para a irrigação do experimento, foi feito o teste de capacidade de pote, convencionando-se irrigar cada unidade com água até o início da drenagem.

Os tratamentos foram avaliados em cinco tempos distintos (aos 20, 40, 60, 80 e 100 dias) após o início do experimento, onde foram avaliados a perda de peso do material contido nas *litter bags*, que permitiu calcular a constante de decomposição do material (k), COT, N total e relação C/N dos resíduos.

5.2.4 Avaliações do ensaio

5.2.4.1 Avaliação da decomposição - Massa remanescente

As *litter bags* foram coletadas aos 20, 40, 60, 80 e 100 dias após o início do experimento. Em cada tempo elas foram desenterradas e acondicionadas cuidadosamente em sacos separados e levadas para laboratório para limpeza e obtenção de seu peso fresco. Após esse processo, os resíduos foram transferidos para estufa de aeração forçada de ar a uma temperatura de 65°C onde permaneciam até peso constante.

O peso do material foi mensurado em balança analítica com quatro casas decimais para a determinação da perda de peso, tendo como base o peso inicial e o peso em cada tempo de avaliação. Assim, o material remanescente em cada tempo de avaliação foi calculado de acordo com a seguinte equação:

Peso remanescente = Peso inicial – Peso final (Equação 1), em que:

Peso final – peso do material após ser decomposto em cada tempo de avaliação (g)

Peso inicial – peso do material no início de cada tempo de avaliação (g)

Foi calculada também a constante de decomposição (k) do resíduo utilizando o modelo matemático exponencial simples, segundo Rezende et al. (1999):

$$P = P_0 \times \exp^{-k \cdot t} \text{ (Equação 2), em que:}$$

P – Peso remanescente em um determinado tempo t (dias), obtido na equação 1;

P_0 – Peso inicial (g);

k – constante de decomposição do resíduo (g dia^{-1}).

Para o cálculo de tempo de meia vida, ou tempo necessário para decompor metade do material, utilizou-se a seguinte expressão:

$$t_{1/2} = \frac{0,69315}{k} \text{ (Equação 3), em que:}$$

$t_{1/2}$ - tempo de meia vida dos resíduos (dia);

0,69215 é o $\ln(2)$, obtido quando se lineariza a equação 2;

k – constante de decomposição obtida a partir do ajuste do modelo exponencial da equação 2.

5.2.4.2 Teores de C, N e relação C/N dos resíduos

Após obter a massa remanescente, as amostras dos resíduos de cada tratamento foram maceradas em almofariz de porcelana e passada em peneira de malha de 80 mm para as determinações de COT pelo método da digestão úmida com dicromato de potássio e dosado por titulometria e N total via digestão sulfúrica, destilação e condensação pelo método de Kjeldahl (SILVA et al., 2009)

De posse dos resultados dos teores de COT e N foi calculada a relação C/N dos tratamentos oriundos da decomposição.

5.3 Análise estatística

Os dados da massa remanescente, o teor de N, o teor de COT e a relação C/N dos resíduos foram submetidos à análise da variância (ANAVA).

O efeito dos tratamentos na massa remanescente, teor de COT, teor de N e a relação C/N aos 0, 20, 40, 60, 80 e 100 dias após o início do experimento de decomposição foram avaliados como análise fatorial no tempo separadamente para cada solo, ajustando-se equações de regressão e testando-se os parâmetros pelo teste t até o nível de 5% de probabilidade.

5.4 Resultados e discussão

5.4.1 Massa remanescente

Os dados da constante de decomposição da massa remanescente ajustaram-se matematicamente ao modelo exponencial simples para todos os tratamentos, exceto para o resíduo composto em solo argiloso (Tabela 5). No solo arenoso, o tratamento com torta de filtro isolada apresentou um valor para a constante de decomposição (k) muito baixo, estimando-se em mais de 1500 dias para metade do material ser decomposto. No solo argiloso, a constante (k) foi 50% superior a do solo arenoso, porém o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) foi de mais de 1000 dias. A relação C/N da torta de filtro é elevada (Tabela 2), podendo ter interferido na decomposição desse material. Como esse é um resíduo muito utilizado como insumo na agricultura canavieira, é necessário que seja utilizado com antecedência para não promover imobilização do N, prejudicando o desenvolvimento inicial do canavial.

Tabela 5. Constante de decomposição da massa remanescente, peso inicial e tempo de meia vida dos resíduos da agroindústria canavieira e coeficiente de determinação obtido por ajuste de modelo exponencial simples em solos de texturas contrastantes

Tratamentos	Parâmetros			
	Solo arenoso			
	P0 ⁽¹⁾	R ²⁽²⁾	k (mg dia ⁻¹) ⁽³⁾	$t_{1/2}$ (dia ⁻¹) ⁽⁴⁾
P1 – Composto	40	0,82	1,8***	385,08
P2 – Torta de Filtro	40	0,58	0,4***	1.732,87
P3 – Composto + Vinhaça	40	0,23	0,8***	866,43
P4 – Torta de Filtro + Vinhaça	40	0,34	0,8***	866,43
P5 – Composto + Bactérias	40	0,63	1,7***	407,73
P6 – Torta de Filtro + Bactérias	40	0,61	2,8***	247,55
P7 – Composto + Vinhaça + Bactérias	40	0,53	1,3***	533,19
P8 – Torta de Filtro + Vinhaça + Bactérias	40	0,65	4,9***	141,46
CV (%)			3,33	
	Solo argiloso			
P1 – Composto	40	-	-	-
P2 – Torta de Filtro	40	0,32	0,6***	1.155,25
P3 – Composto + Vinhaça	40	0,73	1,3***	533,19
P4 – Torta de Filtro + Vinhaça	40	0,60	1,6***	433,21
P5 – Composto + Bactérias	40	0,57	1,8***	385,08
P6 – Torta de Filtro + Bactérias	40	0,75	5,3***	130,78
P7 – Composto + Vinhaça + Bactérias	40	0,28	0,9***	770,16
P8 – Torta de Filtro + Vinhaça + Bactérias	40	0,69	4,9***	141,46
CV (%)			5,08	

¹Massa inicial; ²Coefficiente de determinação do ajuste do modelo exponencial simples, ³Constante da decomposição; ⁴Tempo de meia-vida dos resíduos; *** Significativo a 0,1% de probabilidade

Os tratamentos com torta de filtro associados a outros resíduos, como cinza de caldeira do composto e vinhaça apresentaram valores de k mais elevados. A mistura da torta com a vinhaça proporcionou um aumento na velocidade de decomposição em torno de 50% (Tabela 5).

Andreotti et al. (2015) avaliaram a decomposição de palhico de cana-de-açúcar em função de quantidades crescentes de vinhaça e obtiveram uma modificação da dinâmica de decomposição do material com a aplicação da vinhaça. Mesmo utilizando resíduos diferentes aos realizados neste estudo, pode-se inferir que a vinhaça auxilia no processo de decomposição, bem como pode contribuir para a fertilidade do solo. Assim, quanto mais elevada a taxa de decomposição, maior será a mineralização do material, proporcionando liberação de nutrientes mais rapidamente.

Quando foram avaliados os tratamentos onde foram realizadas as inoculações com a mistura de bactérias, pôde-se perceber que houve redução do tempo de decomposição, destacando-se o tratamento torta de filtro + vinhaça + bactérias, em que a taxa de decomposição foi de $4,9 \text{ mg dia}^{-1}$, indicando que metade do material levaria apenas 141 dias para ser decomposto no solo arenoso. Sem as bactérias esse tratamento levaria 866 dias (Tabela 5).

As bactérias promoveram um aumento na decomposição de mais de 6 vezes. Este fato é bastante importante, pois boa parte dos nutrientes dos resíduos estaria prontamente disponível para as plantas e que a presença de bactérias diazotróficas não só são responsáveis por promover a FBN, mas também podem atuar efetivamente intensificando a decomposição de resíduos da cana-de-açúcar. A decomposição é um processo que regula o acúmulo de material e ciclagem de nutrientes em ecossistemas, sendo fundamental para a manutenção da vida (PINTO et al., 2016).

No experimento de campo, as bactérias foram responsáveis por promover a FBN para a cultura da cana-de-açúcar, neste ensaio elas também atuaram como decompositoras, uma vez que quanto mais o material é decomposto, mais rápida será a liberação de nutrientes para a planta. Por se tratar de um processo biológico, a dinâmica da decomposição de materiais vegetais depende do manejo da cultura, da fertilidade e pH do solo, da qualidade e quantidade dos nutrientes orgânicos disponíveis e de condições climáticas (ALVARENGA et al., 2001).

Pode-se considerar então que a associação resíduo – bactéria é bastante positiva sob o ponto de vista agrônomo, pois há beneficiamento para ambas as partes, uma vez que a

atividade das bactérias é estimulada pela presença de torta de filtro e em contrapartida, a planta pode ser beneficiada pelos exudatos bacterianos.

No solo argiloso, de maneira geral, houve uma maior perda de massa se comparado ao solo arenoso, exceto para o tratamento composto + vinhaça + bactéria que apresentou um valor de k inferior ao valor encontrado no solo arenoso (Tabela 5). A constante de decomposição do resíduo torta de filtro no solo argiloso foi maior do que no solo arenoso, apresentando um tempo de meia vida com 577 dias a menos que no ambiente arenoso (Tabela 5). No caso deste ensaio, esse comportamento pode ter ocorrido devido a contaminação do solo argiloso no resíduo devido a sua natureza coloidal, mascarando os resultados.

No trabalho realizado por Santos et al., (2014), avaliando decomposição da palha da cana-de-açúcar aos 60, 120, 240 e 360 dias após a colheita da cana-de-açúcar, observaram que em ambiente de solo arenoso e clima mais seco, a decomposição foi mais acelerada em comparação ao solo argiloso. Pode ser que a umidade em que os tratamentos nesse estudo foi mantida, tenha favorecido mais o solo argiloso do que o arenoso. Independentemente do tipo de solo, qualquer material que possa ser mantido nele como aporte de nutrientes que sirvam para a nutrição da planta, bem como para a atividade de micro-organismos é importante, uma vez que o ciclo da matéria orgânica no solo é bastante dinâmico.

No tratamento torta de filtro + bactérias, a decomposição foi acelerada em 1.025 dias se comparada ao tratamento em que se utilizou apenas a torta de filtro (Tabela 5). Portanto, as bactérias foram responsáveis por acelerar o processo de decomposição do material.

Nos dois solos estudados, o tratamento torta de Filtro + vinhaça + bactérias apresentaram valores de k de $4,9 \text{ mg dia}^{-1}$ (Tabela 5). Muitos trabalhos relatados na literatura avaliam a decomposição de materiais que se depositam de maneira natural, como por exemplo, o acúmulo de serapilheira (PINTO et al., 2016; MENEZES et al., 2010) ou de materiais que são deixados em cobertura no solo após a colheita (CARVALHO, 2011; ANDREOTTI et al., 2015; GAMA-RODRIGUES et al., 2007). São escassos os trabalhos que associem bactérias diazotróficas à decomposição de resíduos da indústria sucroalcooleira, sendo fundamental que se busque conhecer mais efetivamente essa associação, visando não só uma aceleração da decomposição, mas também identificar resíduos que possam ser substrato da inoculação dessas bactérias, para favorecer o fornecimento de N em cana-de-açúcar.

5.4.2 Teores de N, COT e relação C/N remanescente dos resíduos

Para o teor de COT em função do tempo de decomposição foi possível ajustar modelos matemáticos exponenciais simples (Figura 3). Em todos os tratamentos empregados a taxa de liberação de COT foi significativa.

Nos tratamentos em que não houve a adição de vinhaça, o decréscimo no COT em função do tempo foi mais gradativo, mesmo quando se adicionou as bactérias (Figura 3 A, B, E e F). Quando se adicionou vinhaça, a perda de C do material se intensificou (Figura 3 C e D) e foi ainda mais intensa, quando se inoculou com bactérias diazotróficas (Figura 3 G e H). Gama-Rodrigues et al. (2007), trabalhando com leguminosas, encontraram as maiores taxas de liberação de C no início da decomposição, como ocorreu nesse estudo quando se adicionou vinhaça. Quando os teores de COT são reduzidos significa que parte dele pode ter sido incorporado ao solo ou se dissipado para a atmosfera.

Quando foi acrescida a vinhaça nos tratamentos, a redução do teor de COT na fase inicial foi elevada, para em seguida haver uma fase de redução lenta ao longo do tempo (Figura 2C, D, G e H). Weiler (2012), ao avaliar a decomposição de plantas de utilizadas para cobertura de solo, observou que aos 35 dias, a redução média do C nos resíduos culturais foi de 55% do C total perdido aos 140 dias após o manejo das espécies. Tal resultado foi atribuído a presença de compostos solúveis nesses materiais que são mais facilmente decomponíveis.

De maneira geral, as taxas de perda de C dos resíduos foram semelhantes entre o solo arenoso e o argiloso.

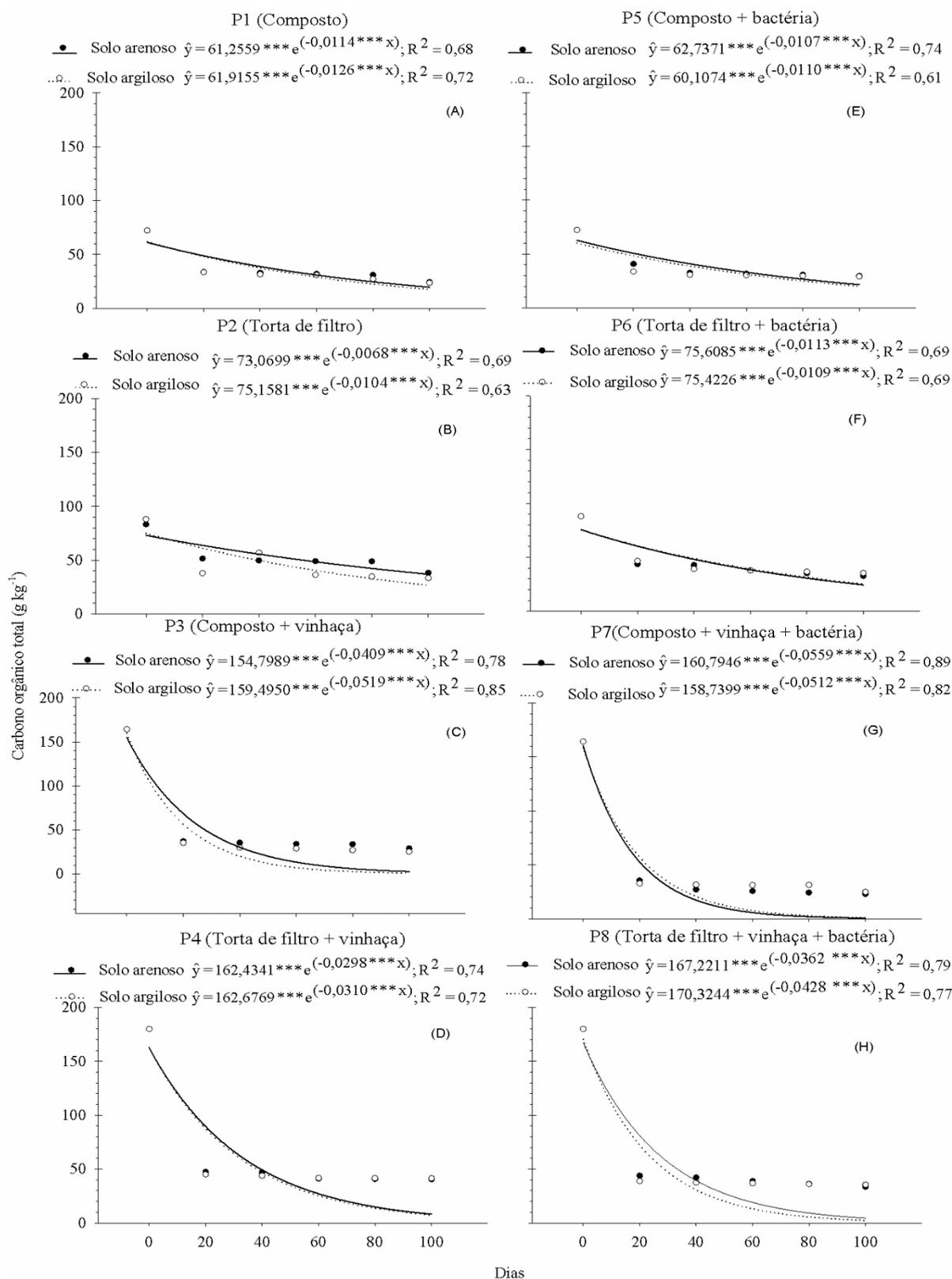


Figura 3. Teor de carbono orgânico total dos resíduos da agroindústria canieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes. *** Significativo a 0,1% de probabilidade.

Os dados de N total em função do tempo de decomposição dos resíduos só se ajustaram melhor a modelos exponenciais simples, quando foi adicionado vinhaça (Figura 4

C, D, G e H), sem diferenciação entre os solos. Diferentemente do comportamento do COT (Figura 3), a adição de bactérias não influenciou a taxa da perda de N do resíduo.

Segundo Vitti et al., (2008) a manutenção de grandes quantidades de resíduo, no caso palhada, podem atrapalhar a decomposição, sugerindo a retirada parcial dos resíduos para acelerar a decomposição e liberação do N contido nos resíduos culturais, a depender da influência do ambiente, bem como da dinâmica do processo.

Nesse tipo de ensaio, quando se adiciona planta, poderia se avaliar o benefício da decomposição do resíduo na disponibilidade de N, havendo provavelmente ganho no crescimento da planta. Torres et al. (2005) observaram que em todos os tratamentos empregados (diferentes plantas de cobertura) a cinética do processo de decomposição foi similar, decrescendo exponencialmente.

Segundo Aita e Giacomini (2003) isso ocorre porque a população e a atividade dos micro-organismos decompositores são muito influenciados pela quantidade de N no solo, e o aumento na disponibilidade de N pode favorecer a taxa de decomposição. Se forem empregados resíduos com elevados teores de N, a taxa de decomposição e mineralização é favorecida, justificando as elevadas taxas encontradas nos tratamentos com vinhaça e inoculados com bactérias diazotróficas (Figura 4 C, D, G e H). Pode ser que tenha havido um enriquecimento inicial do resíduo com N pela atividade diazotrófica das bactérias, favorecendo a decomposição.

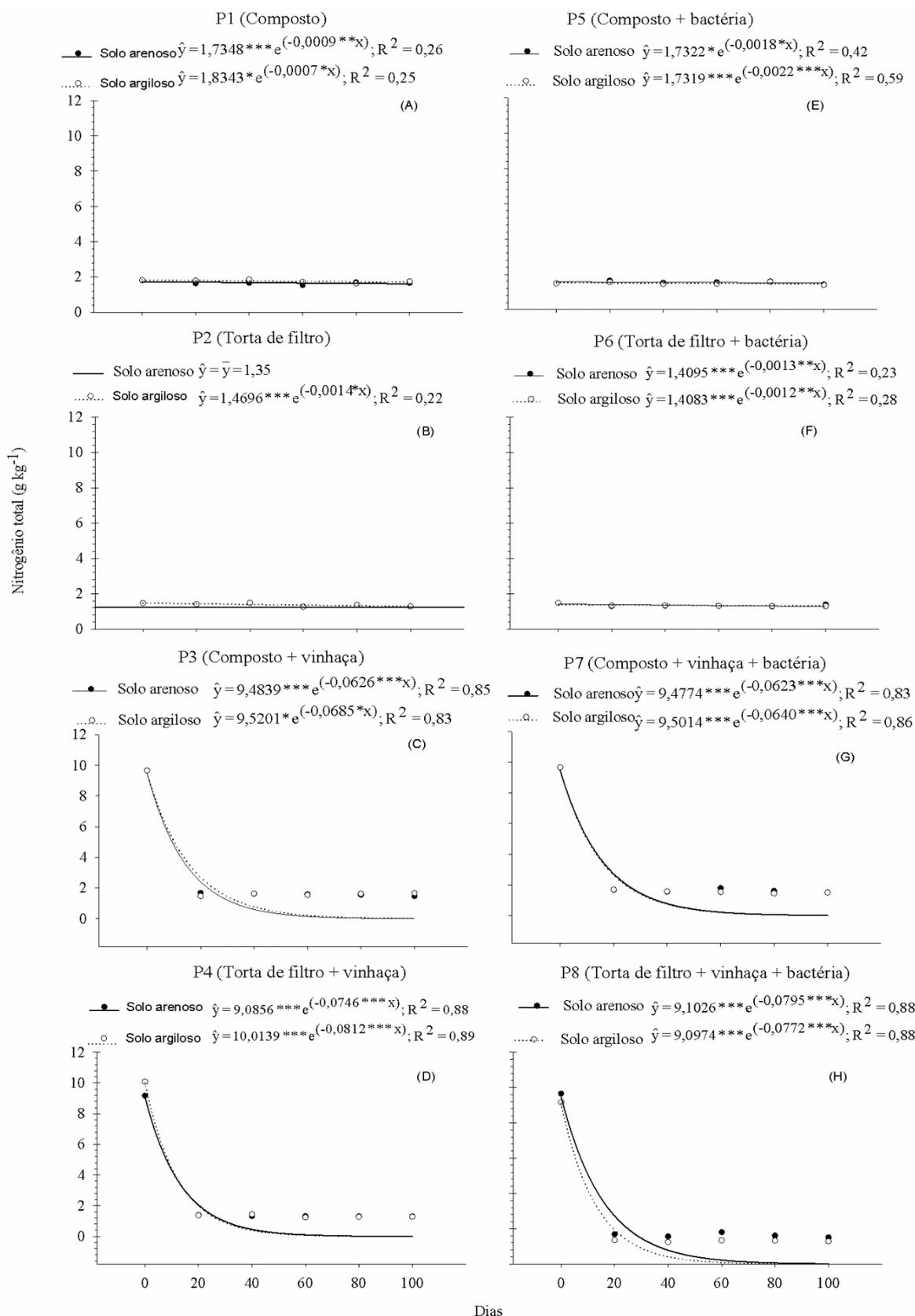


Figura 4. Teor de nitrogênio total dos resíduos da agroindústria canieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes. *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns} Não Significativo

Os dados da relação C/N em função do tempo de decomposição dos resíduos se ajustaram a modelos matemáticos exponenciais decrescentes e polinomial quadrático. Houve efeito significativo para esta variável em todos os tratamentos, exceto no tratamento torta de filtro + vinhaça, onde não foi possível ajustar os dados (Figura 5).

Quando se adicionou vinhaça e bactérias aos resíduos torta de filtro e composto, os modelos deixam de ser exponenciais decrescentes (Figura 5 A, B, E e F) e passam a ser polinomiais ascendentes (Figura 5 C e H). Ocorreu uma perda acentuada de N no início do processo de decomposição (Figura 4 C, D, G e H), maior do que a perda de COT (Figura 4 C, D, G e H), fazendo com a relação C/N cresça até em torno de 60 dias do início da decomposição. A partir desse período, há uma estabilização e a relação C/N se reduz. A vinhaça e as bactérias aceleram o processo de decomposição de COT (Figura 3) e N total (Figura 4), porém a aceleração da perda de N é mais intensa do que a de COT.

A relação C/N muito elevada dificulta a decomposição dos resíduos, o que pode provocar imobilização de nutrientes principalmente N (ASSIS et al., 2003).

Desta forma o conhecimento da decomposição de resíduos é importante para a adoção de um manejo adequado à proteção e manutenção da sustentabilidade de solo. Há muitos processos envolvidos na dinâmica do COT e do N, principalmente quando se adiciona resíduos orgânicos enriquecidos com bactérias.

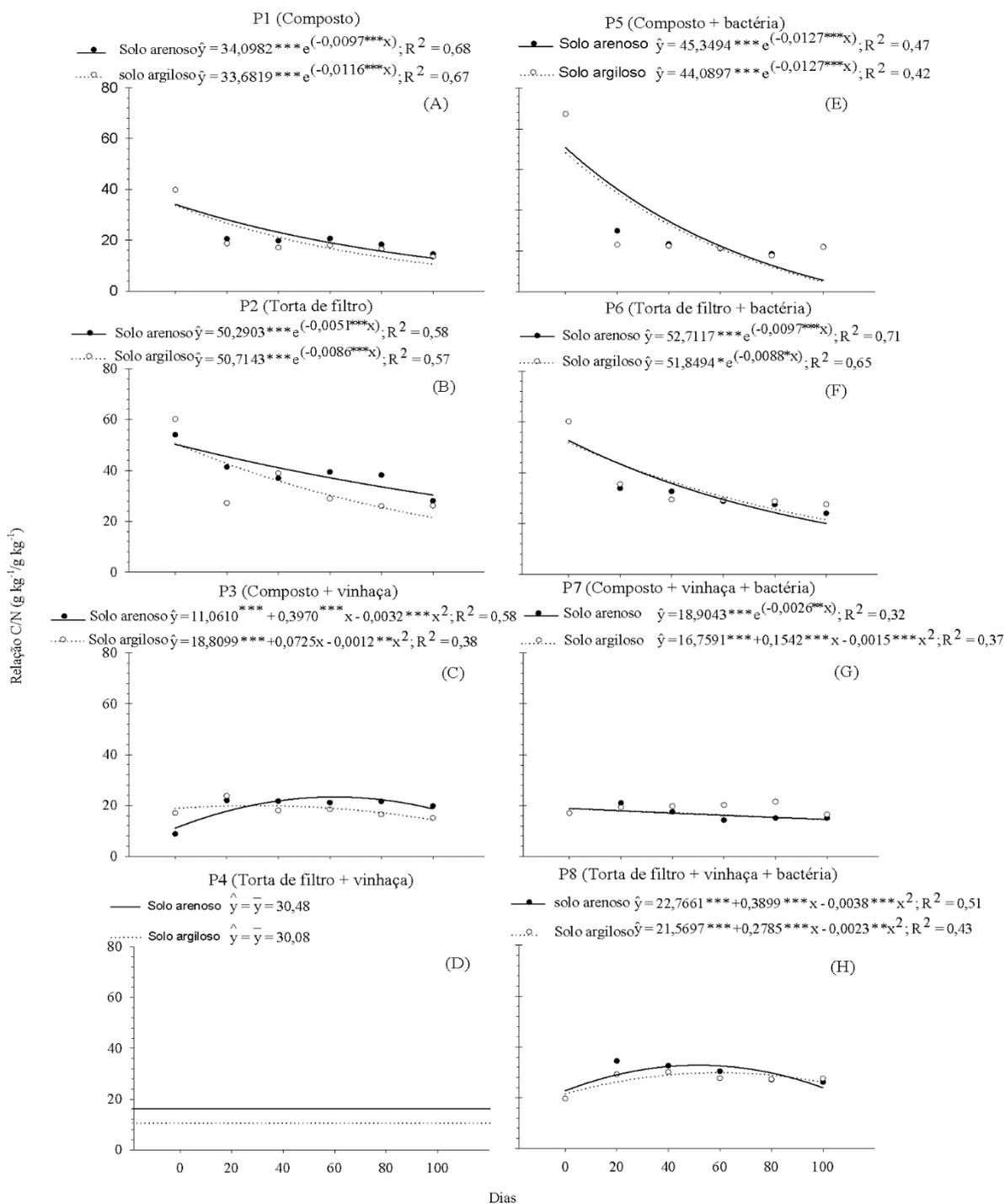


Figura 5. Relação C/N dos resíduos da agroindústria canieira em função do tempo de decomposição em solos de textura contrastantes. *, ** e *** Significativo a 5; 1; e 0,1% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}Não Significativo.

5.5 Conclusões

A massa remanescente dos resíduos da agroindústria canavieira diminuiu com o tempo de decomposição, que se intensificou quando os resíduos foram combinados e inoculados com bactérias diazotróficas.

A decomposição da torta de filtro pode ser intensificada quando utilizada combinada com vinhaça e/ou bactérias diazotróficas.

A taxa de mineralização do nitrogênio total no início da decomposição dos resíduos foi maior do que a do carbono orgânico total, principalmente nos tratamentos com vinhaça e bactérias diazotróficas, incrementando a relação C/N, que só se reduziu na segunda metade do período de decomposição.

Referências

AITA, C.; GIACOMINI, S.J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 601-612, 2003.

ALVARENGA, R. C.; LARA CABEZAS, W. A.; CRUZ, J. C.; SANTANA, D. Plantas de cobertura de solo para sistema plantio direto. **Informe Agropecuário**, Brasília, v. 22, n. 208, p. 25-36, 2001.

ANDREOTTI, M.; SORIA, J. E.; COSTA, N. R.; GAMEIRO, R. A.; REBONATTI, M. D. Acúmulo de nutrientes e decomposição do palhicho de cana em função de doses de vinhaça. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 563 – 576, 2015.

ASSIS, E. P. M.; CORDEIRO, M. A. S.; PAULINO, H. B.; CARNEIRO, M. A. C. Efeito da aplicação de nitrogênio na atividade microbiana e na decomposição da palhada de sorgo em solo de cerrado sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v. 33, n. 2, p. 107 – 112, 2003.

BEBÉ, F. V.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, G.; SILVA, B.; OLIVEIRA, V. S. Avaliação de solos sob diferentes períodos de aplicação com vinhaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 6, p. 781-787, 2009.

BELTÃO, B. A. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea - Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Carpina. [s.l.] **CPRM - Serviço Geológico do Brasil**, p. 11, 2005.

BENEDUZI, A.; MOREIRAB, F.; COSTA, P. B.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AVRETO, R.; BALDANI, J. I.; PASSAGLIA, L. M. P. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in the South of Brazil. **Applied Soil Ecology**, Netherlands, v. 63, n. 3, p. 94-104, 2013.

CARVALHO, J. M. **Tempo de decomposição de palha e contribuição da nutrição da cana-de-açúcar em função da aplicação de vinhaça e gesso**. 52 p. 2011. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção). Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2011.

DONAGEMA, G. K. **Manual e métodos de análise de solo**. 2ª Edição, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Solos, Rio de Janeiro, 230 p, 2011.

FARIAS, A. R. B.; LIMA, D. R. M.; LIRA-CADETE, L.; RAMOS, A. P. S; SILVA, M. C. B; FREIRE, F. J.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Promoção de crescimento vegetal de feijão comum por bactérias isoladas de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**. Recife, v. 17, n. único, p. 101-104, 2012.

GAMA-RODRIGUES, A. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; BRITO, E. C. Decomposição e liberação de nutrientes de resíduos culturais de plantas de cobertura em Argissolo Vermelho-Amarelona região noroeste Fluminense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p. 1421 – 1428, 2007.

LIMA, D. R. M. **Bactérias fixadoras de nitrogênio associadas a plantas de cana-de-açúcar cultivadas em Pernambuco**. 2012. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2012.

MENDONÇA, E.S.; MATOS, E.S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2005. 107p.

MENEZES, C. E. G.; PEREIRA, M. G.; CORREIA, M. E. F.; ANJOS, L. H. C.; PAULA, R. R.; SOUZA, M. E. Aporte e decomposição da serapilheira e produção de biomassa radicular em florestas com diferentes estágios sucessionais em Pinheiral, RJ. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 3, p. 439 – 452, 2010.

MONSON, R.K.; LIPSON, D.L.; BURNS, S.P.; TURNIPSEED, A.A.; DELANY, A.C.; WILLIAMS, M.W.; SCHMIDT, S.K. Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. **Nature**, London, v.439, p.711, 2006.

MOORE, C. C. S., NOGUEIRA, A. R., KULAY, L. Environmental and energy assessment of the substitution of chemical fertilizers for industrial wastes of ethanol production in sugarcane cultivation in Brazil. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, Landsberg, v. 1, p. 1-16, 2016.

NUNES JÚNIOR, D. Torta de filtro: de resíduo a produto nobre. **Revista Idea News**, v. 8, n. 92, p. 22-30, 2008.

OLIVEIRA, R. A., DAROS, E., ZAMBON, J. L. C., WEBER, H., IDO, O. T., ZUFFELLATO-RIBAS, K. C., SILVA, D. K. T. Crescimento e desenvolvimento de três cultivares de cana-de-açúcar, em cana-planta, no estado do Paraná. **Scientia Agraria**, Paraná, v. 5, n. 1, p. 87-94, 2004.

PINTO, H. C. A.; BARRETO, P. A. B.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; OLIVEIRA, F. G. R. B.; De PAULA, A.; AMARAL, A. R. Decomposição da serapilheira foliar de floresta nativa e plantios de *Pterogyne nitens* e *Eucalyptus urophylla* no sudoeste da Bahia. **Revista Ciência Florestal**, Goiás, v. 26, n. 4, p. 1141 – 1153, 2016.

REZENDE, C. P.; CANTARUTTI, R. B.; BRAGA, J. M.; GOMIDE, J. A.; PEREIRA, J. M.; FERREIRA, E.; TARRÉ, R.; MACEDOO, R.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; CADISCH, G.; GILLER, K. E.; BODDEY R. M. Litter deposition and disappearance in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**. Netherlands, v. 54, p. 99-112, 1999.

ROLZ, C.; De LÉON, R.; CIFUENTES, R.; PORRES, C. Windrow composting of sugarcane and coffee byproducts. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 12, n. 1, p. 15-20, 2010.

ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F.. Nutrição e adubação da cana-de-açúcar: indagações e reflexões. **Encarte - Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 25 n. 110, p. 6-11, 2005.

SANTOS D. H.; SILVA, M. A.; TIRITAN, C.S.; CRUSCIOL, C. A. C. The effect of filter cakes enriched with soluble phosphorus used as a fertilizer on the sugarcane ratoons. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.36, n.3, p. 365–372, 2014.

SCHULTZ, N.; PEREIRA, W.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. Produtividade e diluição isotópica de ¹⁵N em cana-de-açúcar inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 9, p. 1594-1601, 2016.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, 2ª ed. ver. Amp – Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

TEDESCO, M.J. , et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2ªed. Porto Alegre, UFRGS. 1995. 174 p. (Boletim Técnico, 5).

TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J. C.; FABIAN, A. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos de plantas de cobertura em um solo de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 609-618, 2005.

VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; CANTARELLA, H.; FRANCO, H.C.J.; FARONI, C.E.; OTTO, R.; TRIVELIN, M.O.; TOVAJAR, J.G. Mineralização da palhada e crescimento de raízes de cana-de-açúcar relacionados com a adubação nitrogenada de plantio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.2757-2762, 2008.

WEILER, D.A. **Decomposição de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo e emissões de óxido nitroso**. 2012. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

ZOLIN, C. A.; PAULINO, J.; BERTONHA, A.; FREITAS, P. S. L.; FOLEGATTI, M. V. Estudo exploratório do uso da vinhaça ao longo do tempo e características do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 22–28, 2011.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de alguma controvérsia sobre a contribuição da FBN em cana-de-açúcar, principalmente com o argumento de que esse processo não garante o suprimento de N para cultivos de média e alta produtividade, inclusive citando-se estudos realizados na África do Sul e na Austrália que evidenciaram que a FBN não é uma fonte significativa deste nutriente em cana-de-açúcar, é prudente entender que esse processo é complementar a uma adequada fertilização nitrogenada, desde que não sejam antagônicos. Contribuições significativas da FBN em cana-de-açúcar no Brasil foram constatadas e representam relevantes informações para as condições brasileiras, principalmente pela expressiva dependência que esse processo tem em relação às variedades.

É ainda incipiente a questão da inoculação em campo pelas dificuldades encontradas para o desenvolvimento de inoculantes eficientes, principalmente em socarias que rebrotam durante o período mais seco do ano, dificultando a FBN que é favorecida por condições em que haja suprimento adequado de água. Assim, essa associação das bactérias diazotróficas com resíduos da agroindústria canavieira é um tema que merece ser mais amplamente pesquisado, principalmente pelos resultados constatados nesse estudo.