

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS PRÉ-BROTADAS DE CANA ENERGIA
INOCULADAS COM *Nitrospirillum amazonense*

LETÍCIA FERNANDES TAVARES BARCELOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO - 2025

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS PRÉ-BROTADAS DE CANA ENERGIA
INOCULADAS COM *Nitrospirillum amazonense*

LETÍCIA FERNANDES TAVARES BARCELOS

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Orientador: Sílvio de Jesus Freitas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

FEVEREIRO – 2025

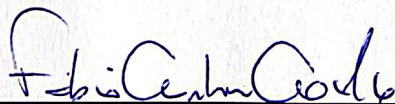
DESENVOLVIMENTO DE MUDAS PRÉ-BROTADAS DE CANA ENERGIA
INOCULADAS COM *Nitrospirillum amazonense*

LETÍCIA FERNANDES TAVARES BARCELOS

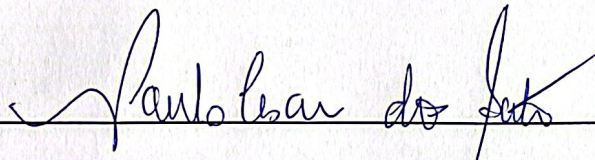
“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do
Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Aprovada em 20 de fevereiro de 2025

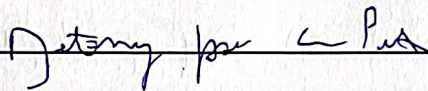
Comissão Examinadora:



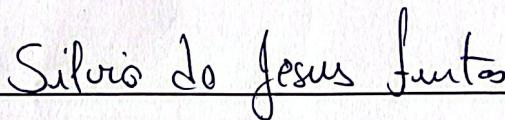
Prof. Fábio Cunha Coelho – (D.Sc., Fitotecnia) – UENF



Paulo Cesar dos Santos – (D.Sc., Produção Vegetal) - UFES



Detony José Calenzani Petri – (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



Prof. Sílvio de Jesus Freitas – (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Orientador

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

R484 Barcelos, Leticia Fernandes Tavares

Desenvolvimento de mudas pré-brotadas de cana energia inoculadas com *Nitrospirillum amazonense* / Leticia Fernandes Barcelos Ribeiro. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

43 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.

Orientador: Silvio de Jesus Freitas.

1. Cana energia. 2. *Nitrospirillum amazonense*. 3. Mudas pré-brotadas. 4.

Desenvolvimento. 5. Bioenergia . I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

Aos meus pais Everaldo e Luisane,
ao meu marido Matheus

dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo lindo caminho que até aqui escreveu para mim, e pelo privilégio de realizar seus sonhos para minha vida;

Aos meus pais Everaldo e Luisane por todo amor e apoio incondicional. Esse sonho nunca foi apenas meu, sempre nosso;

Ao meu marido Matheus por segurar a minha mão em todos os momentos dessa caminhada. Grande parte da minha conquista foi através do seu apoio, confiança e auxílio;

Ao meu orientador Sílvio pela oportunidade de aprendizado. Aos colegas Cléber e Luiz Fernando também deixo meu reconhecimento;

A todos os mestres e doutores que contribuíram com a minha formação;

À UENF por ser minha casa desde a graduação e me tornar quem sou hoje;

À Produção Vegetal pela oportunidade de conquistar esse título de mestra, à EMBRAPA por fornecer o inoculante utilizado no experimento, à UFRRJ por fornecer o material vegetal para o experimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
REVISÃO DE LITERATURA	4
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

RESUMO

BARCELOS, Leticia Fernandes Tavares; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Desenvolvimento de mudas pré-brotadas de cana energia inoculadas com *Nitrospirillum amazonense*; Orientador: D.Sc. Sílvio de Jesus Freitas.

A preocupação com a utilização de combustíveis fósseis e seus danos ao meio ambiente trouxeram a necessidade da utilização de fontes de energia renováveis. Dentre elas, a biomassa da cana-de-açúcar é uma das mais antigas utilizadas, e visando um maior rendimento energético para a geração de bioenergia, foi desenvolvida a cana energia. Atualmente, o cultivo tradicional da cana tem sido substituído pelo sistema de mudas pré-brotadas (MPB), que permitem uma melhor fitossanidade e uniformidade, além de menor gasto de material propagativo; e nas produções de mudas já tem sido utilizada a inoculação de bactérias promotoras de crescimento (BPC), que conseguem aumentar a produção de biomassa e a resistência ao estresse hídrico, permite maturação precoce, e traz diversas outras vantagens, como a diminuição do impacto ambiental causado por fertilizantes nitrogenados. Porém, os efeitos da inoculação dessas bactérias nas variedades de cana energia ainda foram pouco estudadas. Portanto, para estudar a influência e os efeitos dessas bactérias em diferentes genótipos de cana energia, foi instalado um experimento em fatorial 2x10, sendo dois tratamentos (com e sem inoculação) e dez genótipos (RB126022; RB126023; RB127004; RB127049; RB127993; RB127996; RB127998; RB127999; VERTIX11; RB126021) em um delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Do plantio até os 60 dias, os minirrebolos (cortes de até 3 cm com uma gema, retirados do terço médio do colmo) foram colocados em tubetes, e foram feitas análises de emergência (porcentagem e velocidade de emergência) através de contagem simples. Dos 60 aos 160 dias, as mudas foram transplantadas para vasos, onde ao final foram feitas as análises biométricas (altura e diâmetro do coleto), além de análises fisiológicas (teor de clorofila, rendimento quântico fotoquímico e índice de desempenho fotossintético) feitas com SPAD e POCKET, e análise de massa seca foliar, que foi feita em folhas originadas de duas podas feitas no decorrer do experimento e de uma poda ao final do experimento, que foram somadas. Os genótipos só apresentaram incrementos com a inoculação na análise de emergência, com o genótipo RB127996 – R96, e na análise de massa seca foliar, com o genótipo RB127993. Nas demais análises, os genótipos mostraram-se semelhantes

ao controle ou apresentaram queda com a inoculação. No geral, os genótipos apresentaram maior desenvolvimento no controle em comparação à inoculação. O estudo demonstrou a grande variabilidade na interação do genótipo com o inoculante, e necessidade de estudos comparativos com diferentes concentrações do inoculante e diferentes gêneros de BPC, a fim de estabelecer a melhor interação do genótipo com a BPC.

ABSTRACT

BARCELOS, Leticia Fernandes Tavares; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; february 2025; Development of Pre-Sprouted Energy Cane Seedlings Inoculated with *Nitrospirillum amazonense*; Advisor: D.Sc. Sílvio de Jesus Freitas.

Concerns about the use of fossil fuels and their environmental impacts have created a need for the adoption of renewable energy sources. Among these, sugarcane biomass is one of the oldest sources used, and to achieve higher energy yields for bioenergy production, an improved variety called "energy cane" was developed. Currently, traditional sugarcane cultivation is being replaced by the pre-sprouted seedling (MPB) system, which offers better plant health and uniformity, as well as reduced use of propagative material. In seedling production, the inoculation of plant growth-promoting bacteria (PGPB) has already been employed, as it can enhance biomass production, increase drought stress tolerance, promote early maturation, and provide several other benefits, such as reducing the environmental impact caused by nitrogen fertilizers. However, the effects of bacterial inoculation on energy cane varieties have been little studied so far. Therefore, to evaluate the influence and effects of these bacteria on different energy cane genotypes, an experiment was established using a 2×10 factorial design, comprising two treatments (with and without inoculation) and ten genotypes (RB126022, RB126023, RB127004, RB127049, RB127993, RB127996, RB127998, RB127999, VERTIX11, and RB126021) in a randomized block design with four replications. From planting until 60 days, mini-stalks (cuttings up to 3 cm in length with a single bud, collected from the middle third of the stalk) were placed in tubes, and emergence analyses (emergence percentage and emergence speed) were performed through simple counting. From 60 to 160 days, the seedlings were transplanted into pots, where, at the end of the period, biometric analyses (plant height and collar diameter) and physiological analyses (chlorophyll content, quantum yield of photosystem II, and photosynthetic performance index) were carried out using SPAD and POCKET devices. In addition, leaf dry mass was determined, considering leaves collected from two pruning events during the experiment and one final pruning, all of which were summed. The genotypes showed positive responses to inoculation only in the emergence analysis, with the RB127996 (R96) genotype, and in the leaf dry mass analysis, with the RB127993 genotype. In the other evaluations, the genotypes either

showed similar results to the control or exhibited a decline with inoculation. Overall, the genotypes displayed greater development in the control treatment compared to the inoculated treatment. The study demonstrated a high variability in the interaction between genotype and inoculant, highlighting the need for further comparative studies using different inoculant concentrations and different genera of PGPB, in order to establish the best genotype–PGPB interaction.

INTRODUÇÃO

A preocupação com meio ambiente e a poluição causada pelos combustíveis fósseis trouxe a necessidade da utilização de novas fontes de energia, como as fontes de energia renováveis (Ferreira, 2015), que possuem baixo impacto ambiental, e principalmente, uma menor emissão dos gases causadores do efeito estufa na atmosfera, que são os maiores responsáveis pela alteração climática no mundo (Muyllle et al. 2015).

Dentre as fontes de energia renováveis, a biomassa é a mais antiga utilizada no mundo; e no Brasil, a fonte de biomassa mais utilizada na geração de energia é o bagaço e a palha da cana-de-açúcar. A biomassa da cana-de-açúcar já é muito utilizada nas usinas para a geração de energia para abastecimento interno e algumas dessas usinas já exportam essa energia excedente para o Sistema Interligado Nacional (SIN) (Souza, 2022).

A cana energia é uma cultivar desenvolvida pelo melhoramento genético, através do cruzamento de variedades comerciais com variedades mais rústicas da cana-de-açúcar visando um maior teor de fibras, o que possibilita um maior potencial energético para a utilização dessa cultivar como geradora de bioenergia (Silva et al., 2020) e uma possível utilização dela na produção de biogás (Hoffstadt et al. 2020). Além do maior teor de fibras e balanço energético favorável, a cana energia possui uma elevada produção por hectare, ultrapassando 180 toneladas e apresenta até 460 kg de bagaço após a extração do caldo (Bressiani, 2021).

Nos atuais cultivos de cana-de-açúcar, o sistema convencional tem sido substituído pela técnica de mudas pré-brotadas (MPB), desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), que consiste na produção de mudas em viveiro a partir de minirrebolos (parte seccionada do terço médio do colmo com a presença de uma gema). Essa técnica visa diminuir o volume vegetal no plantio; já que utiliza apenas frações do colmo com uma gema aumentando a qualidade fitossanitária, uniformidade, dentre outros fatores (Landell et al. 2012).

Na produção de mudas de diversas espécies, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento (BPC) tem demonstrado um aumento da qualidade das sementes e mudas; através da estimulação do crescimento do sistema radicular, maior absorção de nutrientes e resistência às condições desfavoráveis (Barbosa, 2018).

No entanto, ainda são poucas as pesquisas voltadas para a produção de mudas pré-brotadas de cana energia inoculadas com BPC. Portanto, a fim de gerar informações sobre diferentes genótipos de cana energia, esse trabalho teve como objetivo analisar o desenvolvimento e desempenho desses genótipos na produção de mudas pré-brotadas inoculadas com BCP.

OBJETIVOS

1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da inoculação com a bactéria promotora de crescimento *Nitrospirillum amazonense* sobre a formação inicial e o desenvolvimento de mudas pré-brotadas de dez genótipos de cana energia.

2. Objetivos específicos

- Avaliação da porcentagem e velocidade de emergência dos minirrebolos no controle e no tratamento com o inoculante;
- Avaliação biométrica de parte aérea – altura e diâmetro do coleto das mudas no controle e no tratamento com o inoculante;
- Avaliação fisiológica – Teor de clorofila e fluorescência da clorofila das mudas no controle e no tratamento com o inoculante.

REVISÃO DE LITERATURA

1.0 Matriz energética

O desenvolvimento de um país depende da produção e do uso de energia, e estima-se que até 2050 a oferta de energia deverá aumentar em 50% para suprir a demanda mundial (Goss, 2024). No Brasil, a forma de energia predominante é a energia elétrica gerada nas hidroelétricas e devido ao aumento populacional e o desenvolvimento econômico há uma demanda crescente para a produção de energia. Como as hidroelétricas têm sua produção afetada de acordo com períodos de seca, a energia termoelétrica é utilizada como complementação, porém, além de muito custosa, é altamente poluidora devido ao uso de combustíveis fósseis (Pedroso et al., 2018).

Os combustíveis fósseis trazem diversos tipos de danos ao meio ambiente, à fauna, à flora e aos seres humanos. Entre os danos causados, pode-se citar: mudanças climáticas, poluição do ar, poluição das águas, degradação do solo e esgotamento dos recursos naturais, dentre outros (Reis et al., 2023).

As mudanças climáticas ocorrem devido à liberação de grande quantidade de gases causadores do efeito estufa, sentidas pelo aumento da temperatura e consequente descongelamento das calotas polares, que acarretam vários outros problemas (Pinto et al., 2016). A poluição do ar ocorre através da queima desses combustíveis fósseis pelos veículos, que geram poluentes como: dióxido de enxofre, monóxido de carbono, óxido de nitrogênio etc., que afetam a qualidade do ar e podem causar problemas respiratórios. A poluição das águas ocorre como consequência da exploração, produção e transporte desses combustíveis, pois muitas vezes ocorrem vazamentos durante esses processos. A degradação do solo na extração dos combustíveis fósseis afeta os ecossistemas terrestres e pode causar erosão. O esgotamento dos recursos naturais ocorre devido ao fato do combustível fóssil não ser um recurso natural renovável; além do fato de que o esgotamento precoce desse recurso pode gerar aumento dos preços e conflitos geopolíticos (Junger; Oliveira, 2020).

Para suprir o aumento da demanda energética previsto sem causar mais danos ao meio ambiente, surge então como opção a utilização de fontes de energia renováveis, que são aquelas originadas de recursos naturais que possuem a capacidade de regeneração e baixo fator de impacto ambiental (Silva et al., 2019).

Como fontes de energias renováveis pode-se citar a energia eólica (proveniente do vento), energia hidráulica (proveniente da água), energia solar (proveniente do sol), energia geotérmica (proveniente do calor interno da Terra) e a biomassa (Nascimento; Alves, 2016).

2.0 Biomassa

Biomassa é toda matéria orgânica, que pode ser de origem animal ou vegetal. É uma fonte renovável que pode ser dividida em três grupos: biomassa energética florestal (seus produtos e subprodutos/resíduos), biomassa energética agrícola (subprodutos/resíduos de atividades agrícolas, agroindustriais e da produção animal) e biomassa de resíduos urbanos (poda e varrição) (Moraes et al., 2017).

A obtenção da energia através da biomassa é chamada de bioenergia, onde as culturas energéticas são convertidas em energia para aquecimento, eletricidade e biocombustíveis (Ferreira, 2015).

O Brasil é um grande gerador de biomassa, principalmente a biomassa energética agrícola e a estimativa é de que até 2030 sua produção chegue a 1402 milhões de toneladas (Moraes et al., 2017). Suas vantagens em relação aos outros países na geração de energia através da biomassa ocorrem devido a fatores como: condições climáticas favoráveis, disponibilidade de expandir áreas cultivadas com plantios energéticos (sem competição com a produção de alimentos), tecnologia de conversão de biomassa em energia, entre outros (Ruiz, 2015).

3.0 Cana-de-açúcar

A origem da cana-de-açúcar é na Papua, no Sudoeste Asiático, entre a Nova Guiné e a Indonésia, onde crescia em meio silvestre, mas também era utilizada para fins paisagísticos. Depois da sua disseminação, principalmente com as imigrações, começou a ser utilizada para a produção de açúcar na Índia (Miranda, 2008).

No Brasil, os genótipos de cana-de-açúcar cultivados possuem características da espécie *Saccharum officinarum* uma cultura semiperene da família Poaceae, que possui alto teor de sacarose e baixo teor de fibras (Vidal, 2011).

A cultura da cana-de-açúcar possui um papel de destaque no Brasil e no mundo devido à sua relevância alimentar e ao fato de ser a principal matéria prima utilizada na produção de açúcar e etanol, além da sua utilização na geração de energia

através de sua biomassa (Conab, 2024). No Brasil, as regiões produtoras de destaque são os estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (Conab, 2024).

A geração de energia e álcool nas indústrias de cana-de-açúcar no Brasil já acontecia antes de 1970, mas a partir desse período começou a ganhar destaque através do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) em meio à crise do petróleo; e até hoje continua crescendo cada vez mais no país (Cassula et al., 2015), contribuindo com 16,9% da oferta interna de energia do país em 2024 (UDOP, 2024).

Das usinas sucroenergéticas do país, 60% delas produzem energia elétrica a partir da biomassa da cana-de-açúcar, e 20% exportam para o Sistema Interligado Nacional (SIN). Dentre as usinas que fazem parte dos 60%, 54 já possuem o certificado de energia verde do Programa de Certificação de Bioeletricidade. Esse certificado de energia verde é o primeiro do país a focar na energia elétrica produzida a partir da cana-de-açúcar, e contempla as usinas que exportam a eletricidade para o Sistema Interligado Nacional (SIN) e as que produzem para consumo próprio, de acordo com as diretrizes do programa (Souza, 2022).

O Norte Fluminense, principal produtor nacional e mundial de cana-de-açúcar entre os séculos XVIII e XIX, tem um projeto assinado para acontecer no Porto do Açú, onde a biomassa de cana será utilizada para a produção de biometano, que através de um processo se torna o metanol, hoje uma possível solução para a descarbonização dos combustíveis marítimos, que contribui com cerca de 3% das emissões de gases causadores do efeito estufa (Ruddy, 2023). O produto é considerado verde, já que as emissões de gases tóxicos/poluentes são absorvidas ao longo da cadeia da biomassa (Neto, 2023).

De acordo com o constante aumento da utilização da cana-de-açúcar como biomassa geradora de energia, o melhoramento genético da cana-de-açúcar tem passado por um momento de transição desde o início do século e onde por anos buscou-se maior produtividade de açúcar, agora também se busca cultivares com elevado teor de fibra, o que gera maior rendimento energético (Carvalho-Neto et al., 2014).

4.0 Cana energia

A cana energia (CE) ou cana fibra é uma cultivar que foi obtida através de um Programa de Melhoramento Genético da cana-de-açúcar tradicional, em Porto Rico, no final da década de 1970; originária do cruzamento de ancestrais híbridos com variedades comerciais, como o cruzamento de *Saccharum officinarum* com *Saccharum spontaneum* (Silva et al., 2020). Segundo Matsuoka (2014), a cana energia foi obtida através de um Programa de Melhoramento Genético da cana-de-açúcar tradicional, em Porto Rico, no final da década de 1970 com o objetivo de obter um material com elevado teor de celulose, lignina e hemicelulose, através do cruzamento de variedades mais rústicas (Silva et al., 2020).

Essa cultivar é considerada ideal para a geração e/ou cogeração de energia elétrica e foi desenvolvida visando a geração de bioenergia, pois possui elevado teor de celulose, lignina e hemicelulose; ou seja, visa um maior teor de fibras ao invés de sacarose, permitindo maior rendimento energético (Hoffstadt et al., 2020).

Além do maior teor de fibras e balanço energético favorável; outros benefícios da cana energia são: elevada produtividade por hectare (devido ao fato do seu colmo possuir menor diâmetro e maior perfilhamento, além de lâminas foliares mais estreitas; maior quantidade de bagaço pós-extração (até 460 kg) (Bressiani, 2021); longevidade elevada (até 10 anos pós-plantio; o que representa praticamente o dobro da longevidade da cana sacarose (Silva et al., 2020); boa adaptabilidade em solos com baixa fertilidade, maior resistência a secas, maior capacidade de absorção de nutrientes e sistema radicular mais abundante/vigoroso; o que permite seu cultivo em solos mais pobres, áreas marginais e regiões de clima instável (Nunes Júnior, 2016).

5.0 Técnica de mudas pré-brotadas (MPB)

A reprodução da cana-de-açúcar é de forma sexuada, porém, o florescimento das panículas é indesejado no plantio comercial, acontecendo apenas em campos experimentais que visam a formação e teste de novos híbridos gerados por cruzamentos (Mitsuzono, 2018).

Em cultivos comerciais é utilizada a propagação assexuada através dos colmos, que são preparados contendo de três a quatro gemas, denominados também de toletes; para garantir a uniformidade de produção e qualidade dos genótipos (Landell et al, 2012).

Uma das desvantagens dessa técnica de cultivo é o elevado custo, devido à utilização de um grande volume de cana, que poderia estar sendo destinado para a indústria (Pinto et al., 2016). Portanto, atualmente, nas áreas de cultivo da cana-de-açúcar têm sido utilizado o sistema de mudas pré-brotadas (MPB), que foi desenvolvido pelo Programa Cana do Instituto Agrônomo – IAC (Campinas-SP); onde mudas de cana-de-açúcar ou cana energia provenientes de uma pequena parte do colmo, onde há uma gema e frações laterais dos entrenós (também chamada de minirrebolo ou mini tolete) são levadas ao campo (Landell et al., 2012).

O sistema de mudas pré-brotadas tem muitas vantagens, entre elas: diminuição do volume de colmos no plantio (até 90%); maior fitossanidade - diminuindo a difusão de pragas e doenças; maior vigor - o que reduz o número de falhas na linha de plantio; e aceleração da introdução de tecnologias varietais nas áreas agrícolas (Landell et al., 2012).

6.0 Bactérias Promotoras de Crescimento (BPC)

As Bactérias Promotoras de Crescimento (BPC) são microrganismos capazes de colonizar raízes, tecidos internos de órgãos vegetais, rizosfera e filosfera de plantas; sem causar danos às mesmas. Elas estabelecem uma relação com a planta que é baseada em uma troca de benefícios, onde a planta fornece nutrientes orgânicos e as bactérias fornecem benefícios diretos e indiretos (Azevedo; Araújo, 2007).

Os benefícios diretos e indiretos fornecidos pelas bactérias para as plantas são muitos, entre eles: ganhos na produção através do aumento de biomassa; resistência a estresse hídrico; produção de fitohormônios; controle biológico a fitopatógenos (Correa et al., 2008) e antecipação da maturação das plantas (Braga et al., 2018); além de aumentar a velocidade de brotação das gemas e emissão de raízes, o que é bastante desejável no sistema de mudas pré-brotadas (Barbosa, 2018).

A utilização desses microrganismos também permite uma menor utilização dos adubos nitrogenados, pois grande parte dessas bactérias são diazotróficas, ou seja, possuem a capacidade de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) através de reações bioquímicas; devido à presença da enzima nitrogenase, que transforma o N₂ em uma forma utilizável pela planta (Gírio et al., 2015).

As bactérias do gênero *Nitrospirillum amazonense*, antes conhecidas como *Azospirillum amazonense*, são um exemplo de BPC, que favorecem o crescimento vegetal através da síntese de fitohormônios, estimulam a rápida brotação de gemas, e o desenvolvimento de raízes laterais e pelos radiculares (Costa, 2016).

O gênero *Nitrospirillum* é o mais representativo do grupo das bactérias associativas; e suas bactérias são muito encontradas nas raízes e colmos, porém, também colonizam o interior de tecidos (Reis Júnior et al., 2000).

A inoculação pode gerar respostas diferentes de acordo com o genótipo ou variedade, o estágio de crescimento da planta, a fitossanidade, o estado nutricional, e diversos outros fatores (Santoyo et al., 2016).

O conhecimento sobre as associações de bactérias com plantas já é bem amplo e discutido para alguns gêneros e espécies, porém, ainda não há muitos trabalhos voltados para sua inoculação em genótipos de cana energia, principalmente quando produzidos no Sistema de Mudanças Pré-Brotadas (MPB). Portanto, é necessário estudos voltados para a produção e desenvolvimento de diferentes genótipos de cana energia no Sistema MPB com a inoculação das BPC; sendo utilizadas nesse caso as BPC do gênero *Nitrospirillum amazonense*.

MATERIAL E MÉTODOS

1.0 Caracterização da área

O experimento foi desenvolvido em uma casa de vegetação da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada nas coordenadas: latitude 21°19'23" (S) e longitude 41°19'41" (W), no município de Campos dos Goytacazes – RJ. Segundo a classificação climática de Koppen, o clima da região é do tipo Aw, ou seja, clima tropical úmido – verão chuvoso (outubro a março) e inverno seco (junho a setembro); com precipitação média anual de 1.023 mm. Ao longo do ano, as temperaturas variam entre 18°C e 32°C, sendo raramente inferior a 16°C ou superior a 35°C (Mendonça et al., 2007).

2.0 Obtenção dos genótipos

Os dez genótipos de cana energia utilizados foram obtidos no campo experimental da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Campos dos Goytacazes. O campo experimental possui um Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético), de onde nove dos genótipos foram retirados (RB127049-R49, RB127993-R93, RB127998-R98, RB127999-R99, RB126021-R21, RB126022-R22, RB126023-R23, RB127004-R04, e o RB127996-R96); e um Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético de Cana da GranBio (adquirido pela Empresa de Genética e Biotecnologia Nussed - VERTIX), de onde foi retirado o genótipo (Vertix 11-V11) (Figura 1).



Figura 1. Genótipos de cana energia retirados do campo experimental da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) para instalação do experimento.

3.0 Preparação dos minirrebolos

Os minirrebolos são pequenas partes do terço médio e superior do colmo contendo uma gema e frações laterais do entrenó. Seguindo o protocolo de mudas pré-brotadas descrito por Landell et al. (2012), foram retiradas com o auxílio de uma guilhotina desinfetada e seu comprimento foi de aproximadamente 3 cm.

A inoculação dos minirrebolos com a bactéria *Nitrospirillum amazonense* foi feita com o inoculante líquido fornecido pela EMBRAPA, diluído em uma proporção de 1:100 ml. Os minirrebolos ficaram imersos por cerca de 30 minutos, período de tempo no qual a inoculação com esse gênero de bactérias se mostra ideal, segundo experimentos já realizados por Giroto et al. (2016).

Os minirrebolos que não foram inoculados com a bactéria (controle) ficaram imersos em água filtrada por 30 minutos, mesmo período de tempo de imersão dos minirrebolos inoculados, para padronização do experimento e nenhuma interferência devido à embebição.

4.0 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi um fatorial 10x2 em blocos casualizados (DBC), composto por dez genótipos e duas condições de tratamento (com e sem inoculação), com quatro repetições (Tabela 1).

Tabela 1. Delineamento experimental utilizado no experimento. Parcelas experimentais em itálico e sublinhadas representam o tratamento com inoculação.

BLOCO	GENÓTIPOS																			
1	R93	R22	<u>V11</u>	<u>R98</u>	<u>R22</u>	R96	R98	<u>R23</u>	R99	<u>R04</u>	R21	<u>R93</u>	<u>R99</u>	V11	R23	<u>R49</u>	<u>R96</u>	R04	R49	<u>R21</u>
2	R22	V11	<u>R04</u>	<u>R49</u>	R93	<u>R99</u>	<u>V11</u>	R49	<u>R21</u>	R96	<u>R98</u>	R23	<u>R93</u>	<u>R96</u>	R04	R21	R99	<u>R23</u>	R98	<u>R22</u>
3	R96	<u>R98</u>	R49	<u>R21</u>	<u>R22</u>	<u>R96</u>	R98	R21	R93	<u>R99</u>	V11	<u>R04</u>	R22	R99	<u>R23</u>	<u>R49</u>	<u>R93</u>	<u>V11</u>	R04	R23
4	R93	V11	<u>R98</u>	<u>R23</u>	R99	<u>V11</u>	R04	<u>R49</u>	<u>R93</u>	R96	R98	<u>R21</u>	<u>R22</u>	<u>R96</u>	R49	R23	R22	<u>R99</u>	<u>R04</u>	R21

4.1. Primeira etapa

Na primeira etapa do experimento, que foi do plantio até os 60 DAP, utilizou-se tubetes de plástico com 180 cm³ preenchidos com substrato comercial Basaplant Florestal®, que é composto por casca de pinus, fibra de coco, turfa fibrosa e vermiculita; e dois minirrebolos do mesmo tratamento foram colocados com a gema virada para cima e cobertos com uma fina camada do mesmo substrato (figura 2).



Figura 2. Tubetes com 180 cm³, onde os minirrebolos foram plantados e permaneceram até os 60 DAP.

Quando os dois minirrebolos emergiam, considerando emergência a plântula atingir 1 cm acima do solo, um era escolhido para permanecer no tubete e o outro era descartado. Quando apenas um emergia, o outro era descartado. Essa metodologia foi empregada para diminuir falhas de germinação.

A parcela experimental de cada tratamento foi composta por 12 tubetes, contendo 2 minirrebolos cada; totalizando 480 minirrebolos por bloco e 1920 minirrebolos nos 4 blocos.

Os tubetes ficaram em caixas sobre as bancadas e cada caixa acondicionou quatro tratamentos, que ficaram identificados por plaquinhas e separados pelo espaço vazio de um tubete. Cada bloco foi composto por cinco caixas, totalizando os 20 tratamentos; sendo 20 caixas para os quatro blocos.

A irrigação foi feita por aspersão e os turnos de rega tiveram um intervalo de 2 horas, com duração de um minuto cada e vazão de 1L/minuto em cada aspersor.

4.2 Segunda etapa

Nessa etapa, que aconteceu 60 DAP, foi realizado o transplântio das mudas para vasos plásticos de 5 litros, preenchidos com substrato comercial Basaplant

Florestal®, que é composto por casca de pinus, fibra de coco, turfa fibrosa e vermiculita.

A parcela experimental de cada tratamento foi composta por 1 muda, totalizando 20 mudas por bloco e 80 mudas nos 4 blocos.

Os vasos ficaram sobre as bancadas, sendo cada bloco composto por vinte vasos, um total de 80 vasos para os quatro blocos.

Os turnos de rega continuaram sendo por aspersão, com intervalos de 2 horas entre irrigações e duração de 1 minuto cada, sendo a vazão de cada aspersor 1L/minuto.

5.0 Análise de emergência

A análise de emergência foi feita do plantio até os 45 dias, período a partir do qual o número de emergência já se mostrava constante. O primeiro minirrebolo emergido (plântula com 1 cm acima do solo) de cada tubete era considerado para a contagem, que foi feita a cada três dias (Figura 3).



Figura 3. Contagem das plântulas emergidas nos quatro tratamentos presentes em uma caixa.

A partir da contagem dos minirrebolos já emergidos, foi realizada a análise de porcentagem de emergência e a análise do índice de velocidade de emergência (IVE) de cada tratamento nas suas respectivas fórmulas.

Para o cálculo de porcentagem de emergência foi utilizada a fórmula proposta na Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009):

$$G = \frac{NG \times 100}{NT} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde:

NG = número de gemas emergidas;

NT = número de gemas plantadas/colocadas para germinar

Para o cálculo do índice de velocidade de emergência (IVE) foi utilizada a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$\text{IVE} = \sum \frac{NG_i}{T_i} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde:

NG_i = número de gemas emergidas no dia i;

T_i = tempo em dias, após a semeadura, para a emergência.

6.0 Análise de massa seca

A análise de massa seca foi realizada em folhas originadas de três podas, sendo uma feita aos 60 DAP, outra aos 120 DAP e outra aos 160 DAP, que tiveram seus valores somados ao final. As folhas foram colocadas em sacos de papel, e levadas à estufa de circulação de ar forçado para secagem, na temperatura de 70 ± 2°C até o peso permanecer constante, o que levou aproximadamente 72 horas. Após

esse período, todas as amostras foram pesadas em balança de precisão 0,0001 g para a obtenção da massa seca da parte aérea (MSF, em g) (Figura 4).



Figura 4. Plantas antes da segunda poda foliar, com 120 dias DAP.

7.0 Análises biométricas

As análises biométricas foram realizadas aos 150 DAP, e foram compostas por medidas de altura da planta (cm) e medidas do diâmetro do coleto (mm). A altura da planta foi avaliada com o auxílio de uma régua graduada, colocada da base da planta até a inserção da folha +A (primeira folha completamente expandida), e o diâmetro do coleto medido a dois centímetros acima do substrato, com o auxílio de um paquímetro digital.

8.0 Análises fisiológicas

As análises fisiológicas foram realizadas ao final do experimento, com 160 DAP, na folha A + da planta da parcela, no horário de meio-dia.

O teor de clorofila foi analisado por meio da intensidade de cor verde, estimada pelo aparelho Clorofilômetro Soil Plant Analysis Development, mais conhecido como SPAD-502. Foram feitas três medidas na folha selecionada da planta

da parcela, evitando as nervuras e as extremidades da folha, e ao final foi retirada a média das três medidas.

A fluorescência da clorofila foi analisada por meio do rendimento quântico fotoquímico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) e do índice de desempenho fotossintético (PI), estimados pelo fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser). A folha selecionada para as análises foi adaptada ao escuro durante 30 minutos, através do auxílio de pinças hansatech, o necessário para que os centros de reação adquiram a condição de “abertos” (Qa oxidada) (Figura 5).



Figura 5. Análise da fluorescência da clorofila com o fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser).

9.0 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Essas análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.0 Porcentagem e velocidade de emergência

Para a porcentagem de emergência (PE), verificou-se que o genótipo RB127996 – R96 ($64,58 \pm 2,68$) apresenta uma média superior após a inoculação, enquanto outros mostram-se semelhantes e outros apresentam diminuição na PE em relação ao controle (Figura 6).

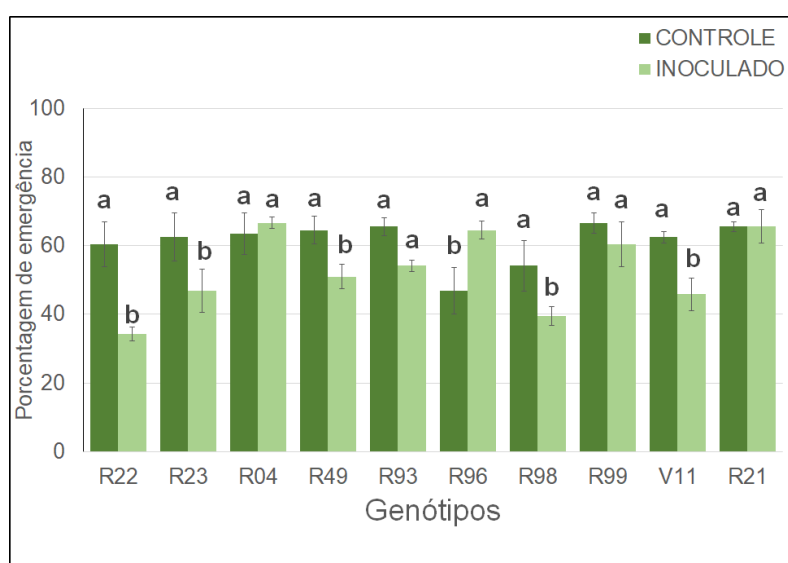


Figura 6. Porcentagem de emergência de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores médios de cinco repetições, e as barras representam o erro-padrão.

A capacidade dos genótipos em emergir é um fator que impacta na produtividade da lavoura, pois está relacionado a uma área de cultivo com menor número de falhas. Influências na germinação podem ocorrer devido a fatores ambientais, genéticos e fisiológicos (Manhães et al., 2015).

Segundo De Souza et al. (2014), a idade da planta é um fator fisiológico que influencia no rompimento da gema, já que ocorre uma maior deposição de lignina em plantas mais velhas e se torna necessário um maior gasto energético. A programação genética de cada variedade também regula a emergência dos minirrebolos quando

em condições ideais de crescimento. Ou seja, a brotação vai ser ditada pelo genótipo vegetal e cada variedade possui um crescimento específico

Estudos realizados por Conceição (2020) mostram que a inoculação com a bactéria *Nitrospirillum amazonense* em genótipos de cana energia influencia na quantidade de brotação de gemas de diferentes genótipos, onde alguns obtêm maiores médias de emergência, outros mantêm-se semelhantes e outros apresentam decréscimos.

Para a velocidade de emergência (VE), houve influência da inoculação apenas no genótipo VERTIX11 – V11 ($0,5444 \pm 0,10$), que demonstrou média inferior de VE, enquanto todos os outros mostraram-se semelhantes ao controle (Figura 7).

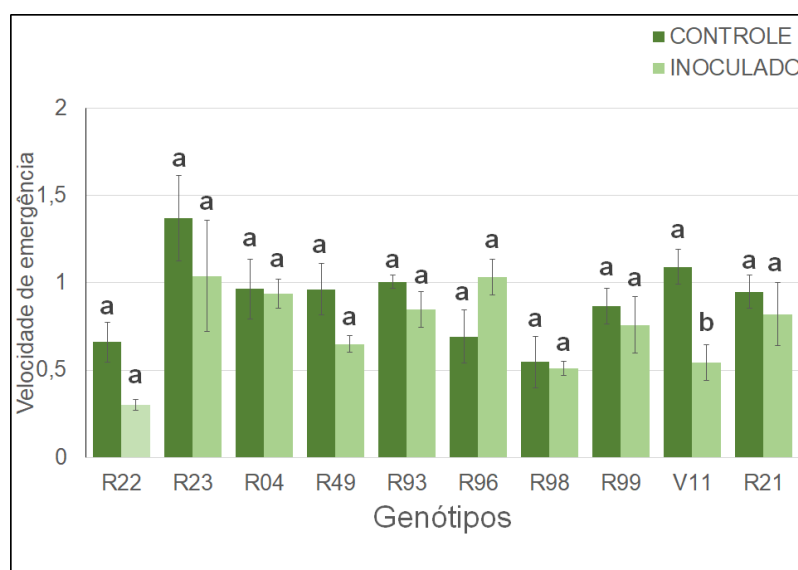


Figura 7. Velocidade de emergência de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores médios de cinco repetições, e as barras representam o erro-padrão.

Genótipos que apresentaram velocidade de emergência semelhante ou até mesmo inferior após a inoculação com bactérias diazotróficas já foram observados por Matoso et al. (2016).

O genótipo VERTIX11 – V11 foi um dos genótipos que apresentou decréscimo quando inoculado na porcentagem de emergência; ou seja, a inoculação nesse

genótipo tem demonstrado menores médias na porcentagem e na velocidade de emergência do mesmo (Figuras 6 e 7).

2.0 Análises biométricas

Para a altura de plantas, apenas o genótipo RB127049 – R49 ($16,6\pm 0,82$) apresentou uma média inferior quando inoculado, enquanto todos os outros mostraram-se semelhantes ao controle (Figura 8).

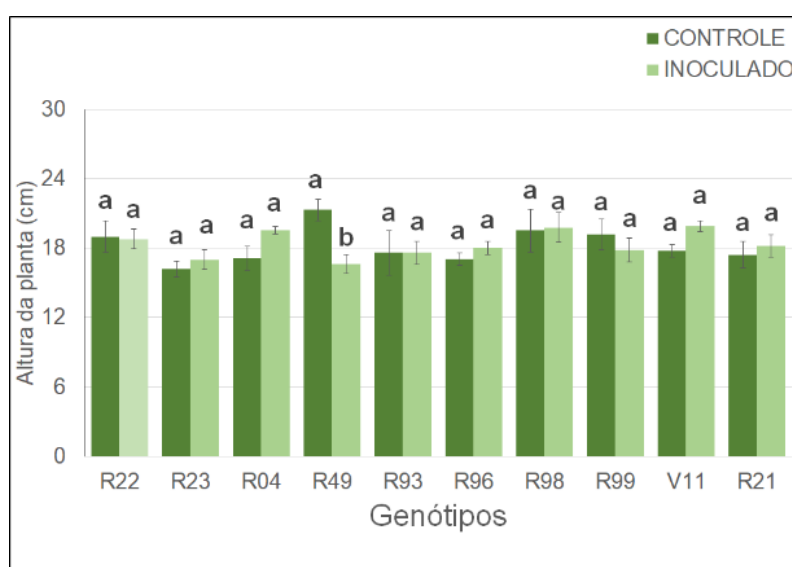


Figura 8. Altura da planta (cm) de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores de uma repetição (150 DAP), e as barras representam o erro-padrão.

Quanto ao diâmetro do caule, o genótipo RB127993 – R93 ($6,76\pm 0,38$) foi o que apresentou menores médias quando comparado ao seu controle, enquanto todos os outros permaneceram semelhantes (Figura 9).

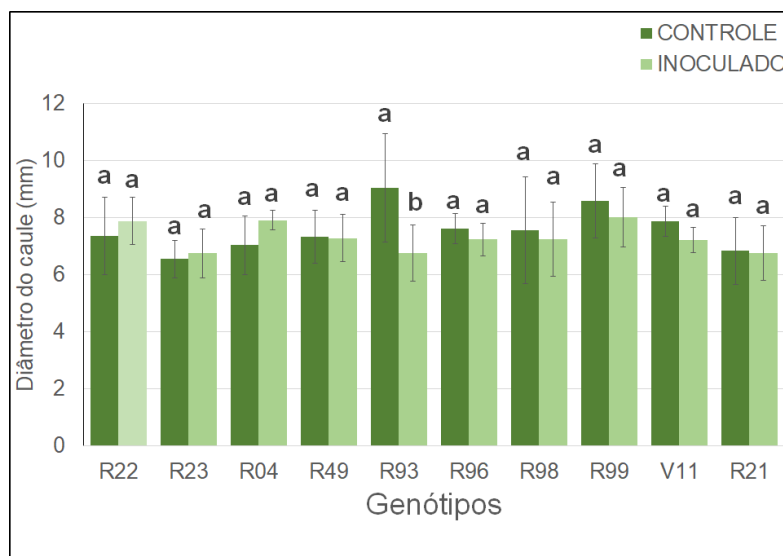


Figura 9. Diâmetro do caule (mm) de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores de uma repetição (150 DAP), e as barras representam o erro-padrão.

O diâmetro do caule tem um papel muito importante na sobrevivência das plantas, sendo o responsável pela capacidade de gerar novas raízes (Taiz e Zeiger, 2013) e pela resistência das plantas ao tombamento no campo (Souza et al., 2020).

3.0 Análises de massa seca foliar

Para a massa seca foliar, o genótipo RB127993 – R93 ($5,6943 \pm 3,1863$) mostrou maiores médias quando inoculado, enquanto os outros genótipos mostraram-se semelhantes ou inferiores em relação ao controle (Figura 10).

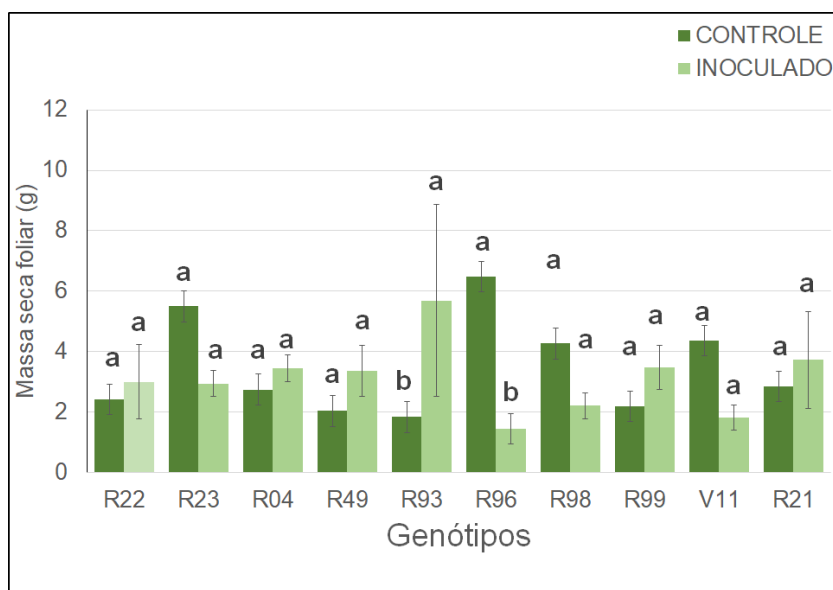


Figura 10. Massa seca foliar total (g) de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores de uma repetição (150 DAP), e as barras representam o erro-padrão.

A resposta da cana-de-açúcar e de diversas culturas à inoculação com bactérias de crescimento diazotróficas está muito relacionada às características do genótipo e da interação específica planta-bactéria; e já é comum na literatura estudos que mostram a ausência de efeitos significativos nessa inoculação (Chaves et al., 2015; Santos, 2017).

Segundo Santos (2017), a ausência de resposta ou um efeito negativo à inoculação pode estar relacionado a um controle genético da planta quanto à resistência ao estresse e sinalização à colonização bacteriana.

O estudo realizado por Ferreira (2018), demonstra que o efeito negativo de inoculação pode estar relacionado ao mecanismo de defesa da planta, que reconhecem a estirpe da bactéria como um patógeno; ou pode estar relacionado ao equilíbrio hormonal de reguladores de crescimento pela planta, caso a bactéria tenha metabolizado quantidades elevadas de fitohormônios vegetais; ou até mesmo pode estar relacionado ao fato da BPC não ter sintetizado esses hormônios, responsáveis por esse maior desenvolvimento da planta.

3.0 Análises fisiológicas

Para o teor de clorofila, mensurado pelo índice SPAD, não houve interação significativa entre os genótipos e os tratamentos (Figura 11).

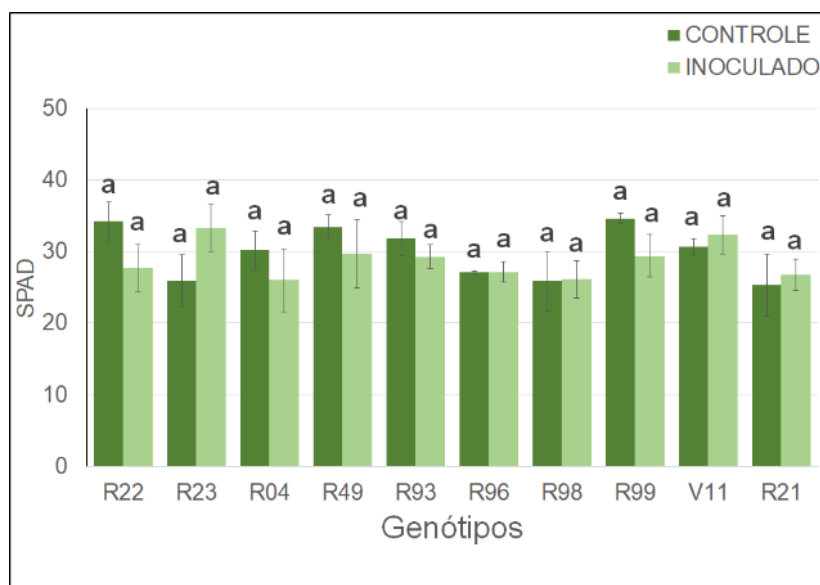


Figura 11. Teor de clorofila - SPAD de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e no inoculado com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores médios de três medidas em uma repetição, e as barras representam o erro-padrão.

Essa ausência de resultado da inoculação no teor de clorofila já foi observada por Dellabiglia et al. (2016) na inoculação de genótipos de cana-de-açúcar convencional com bactérias diazotróficas sob diferentes doses de nitrogênio.

Para a fluorescência da clorofila, nas análises do rendimento quântico fotoquímico máximo do PSII (F_v/F_m), também não houve interação significativa entre os genótipos e os tratamentos (Figura 12).

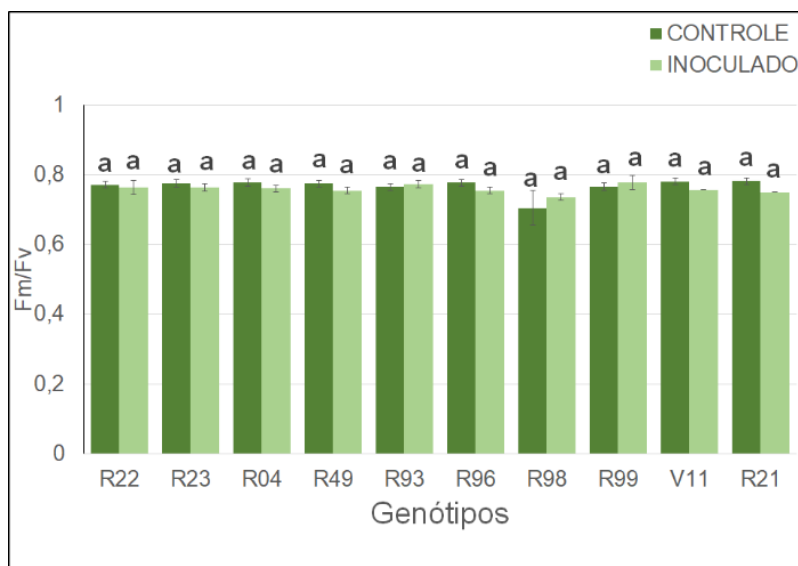


Figura 12. Rendimento quântico fotoquímico máximo do PSII (Fm/Fv) de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores de uma repetição, e as barras representam o erro-padrão.

A clorofila é responsável pela captação da energia luminosa, necessária nas reações fotoquímicas para a síntese de carboidratos. Ou seja, um maior teor de clorofila pode interferir em maior captação de energia luminosa e conseqüentemente uma maior síntese de carboidratos, o que gera maior acúmulo de biomassa, refletindo no crescimento da planta (Taiz e Zeiger, 2017; Tan et al., 2021).

Valores da fluorescência da clorofila abaixo de 0,75 para o Fv/Fm indicam baixa eficiência do rendimento quântico fotoquímico máximo do PSII e do desempenho fotossintético da planta. O valor médio encontrado nas análises dos genótipos para o Fv/Fm foi de $0,7633 \pm 0,004$.

Da mesma forma, para o índice de desempenho fotossintético (PI), não houve interação significativa entre os genótipos e os tratamentos (Figura 13).

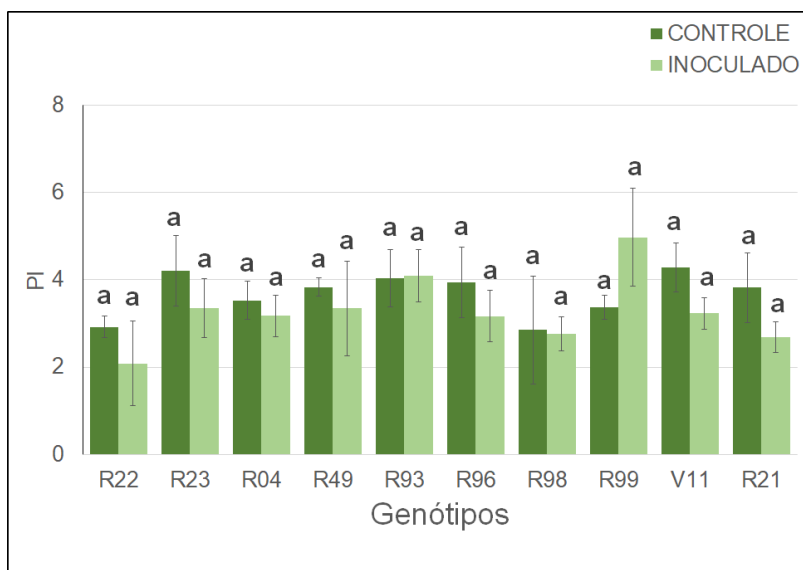


Figura 13. Índice de desempenho fotossintético - PI de 10 genótipos (R22: RB126022; R23: RB126023; R04: RB127004; R49: RB127049; R93: RB127993; R96: RB127996; R98: RB127998; R99: RB127999; V11: VERTIX11; R21: RB126021) no controle e inoculados com *Nitrospirillum amazonense* pelo método de MPB. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os genótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As colunas representam valores médios de uma repetição, e as barras representam o erro-padrão.

CONCLUSÃO

Através das análises realizadas, observou-se que o tratamento realizado com a inoculação da bactéria promotora de crescimento *Nitrospirillum amazonense* obteve resultados diferentes de acordo com cada genótipo.

Alguns genótipos mostraram respostas positivas, enquanto outros mostraram uma supressão do seu crescimento e desenvolvimento. E no geral, as plantas mostraram maior desenvolvimento no controle.

Para fins conclusivos são necessários novos estudos com os genótipos utilizados, implementando novas concentrações do inoculante e novos gêneros de bactérias diazotróficas, a fim de identificar qual melhor interação entre os genótipos e espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azevedo, J. L., Araújo, W. L. (2007) Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: Ganguli, B. N.; Deshmukh, S. K. (Org.). Fungi: multifaceted microbes. Boca Raton: p.189-207.
- Barbosa, A. F. de C. (2018) Desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar inoculadas com diferentes estirpes de bactérias diazotróficas. Graduação em Agronomia - Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC, 41p.
- Braga, G. M., Chagas, L. F. B., Amaral, L. R. O., Miller, L. O., Chagas, A. F. (2018) Efficiency of inoculation by *bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 13(4):9-14.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, 395p.
- Bressiani, J. (2021) Energycane Vertix - high yield, low cost and very robust. Curso de Bioenergia, USP - UNESP - UNICAMP.
- Carvalho-Netto O. V., Bressiani J. A., Soriano H. L., Fiori C. S., Santos J. M., Barbosa G. V. S., Xavier M. A., Landell M. G. A., Pereira G. A. G. (2014) The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 1(20):1-8.
- Cassula, D. A. Zanini, J. C., Lino J. dos S., Silva, T. L. da, Santos, Z. dos. (2015) Estudo de caso sobre a eficiência energética de fontes renováveis no Brasil: avaliação da utilização da biomassa da cana-de-açúcar na cogeração de energia elétrica no setor sucro alcooleiro. Anais do Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 6, Porto Alegre:1-9.
- Chaves, V.A., Santos, S.G., Schultz, N., Pereira, W., Souza, J.S., Monteiro, R.C., Reis, V.M. (2015) Desenvolvimento inicial de duas variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas, Revista Brasileira de Ciência do solo, 39(6):1595-1602.
- Conab (2024) Cana-de-açúcar: Acompanhamento da safra brasileira 2024/2025. Companhia Nacional de Abastecimento, 12(3):1-56.

Conceição, L. A. A. da, Reis, V. M., Alves, B. J. R. (2020) Resposta de diferentes acessos de “cana-energia” à inoculação com bactérias diazotróficas promotoras de crescimento de plantas. Anais do Simpósio ABC: Argentina-Brasil-Cuba, 4, Seropédica:1-6.

Correa, O. S., Romero, A. M., Soria, M. A., De Estrada, M. (2008) *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: Cassán, F. D., Garcia De Salamone, I. (Ed.). *Azospirillum* sp.: cellphysiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.87-95.

Cortez, L. A. B., Lora, E. E. S., Ayarza, J. A. C. (2008) Biomassa no Brasil e no mundo. In: Cortez, L. A. B., Lora, E. E. S. Gomez, E. O. Biomassa para energia. Campinas: Editora da UNICAMP, p. 15-28.

Costa, C. B. S. K. da. (2016) Monitoramento do estabelecimento das bactérias presentes no inoculante da Embrapa, durante o desenvolvimento inicial de plantas de cana-de-açúcar utilizando técnicas microbiológicas e moleculares. Mestrado em Fitotecnia – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ, 76p.

Dellabiglia, W. J., Gava, G. J. de C., Arlanch, A. B., Mendonça Júnior, C. A. A., Bassetto, S. C. (2016) Variáveis Fisiológicas da cana-de-açúcar fertirrigada com diferentes doses de n-fertilizante e inoculadas com bactérias diazotróficas. Anais do Congresso Nacional da Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil - STAB, 10, Ribeirão Preto:54 – 58.

Ferreira, A. L. D. (2015) Culturas energéticas: produção de biomassa e bioenergia. 74 f. Mestrado em Engenharia do Ambiente - Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade de Coimbra - Coimbra, 74p.

Ferreira, N. dos S. (2018) Potencial Biotecnológico de *Rhizobium* (BR10268) na brotação de mini-toletes de cana-de-açúcar cv. RB867515. Mestrado em Ciências – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Seropédica – RJ, 52p.

Freire, C. S., Simões, A. N., Vieira, M. R. S., Barros Júnior, A. P., & Costa, F. B. (2014) Qualidade de raízes de mandioca de mesa minimamente processada nos formatos minitolete e rubiene. Caatinga, 27(4):95– 102.

Gírio, L. A. da S., Dias, F. L. F., Reis, V. M., Urquiaga, S., Schultz, N., Bolonhezi, D., Mutton, M. A. (2015) Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(1): 33-43.

Giroto, L.E., Garcia, J.C., Xavier, M.A., Petri, R.H., Miguel, P.E.M. (2016) Inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar. *Anais do Congresso Nacional STAB*, 10, Ribeirão Preto:188-191.

Goss, L. (2024) Global electricity demand to double by 2050, IEA'S World Energy Outlook says. *Market Watch*, 16 de out. de 2024. Disponível em: https://www.marketwatch.com/story/global-electricity-demand-to-double-by-2050-ieas-world-energy-outlook-says-ededbb1d?utm_source=chatgpt.com. Acesso em 16 de outubro de 2025.

Hoffstadt, K., Pohen, G. D., Max, D. D., Paulsen, S., Krafft, S., Zang, J. W., Fonseca-Zang, W. A da, Leite, A., Kuperjans, I. (2020) Challenges and prospects of biogas from energy cane as supplement to bioethanol production. *Agronomy*, 10(6):1-16.

Junger, A. P., Oliveira, R. C. (2020) Utilização de combustíveis fósseis no Brasil e suas consequências ambientais. *Research, Society and Development*, 9(9):1-16.

Landell, M. G. A., Campana, M. P., Figueiredo, P., Xavier, M. A., Anjos, I. A.; Dinaro – Miranda, Scarpari, M.S., Garcia, J.C., Bidóia, M.A.P., Silva, D.N., Mendonça, J.R., Kanthack, R.A.D., Campos, M.F., Brancalião, S.R., Petri, R.H.; Miguel, P. E. M. (2012) Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas. Ribeirão Preto: Instituto Agrônomo de Campinas:17(109).

Maguire, J. D. (1962) Speed of Germination - Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor. *Crop Science*, 2(2):176-177.

Manhães, C. M. C., Garcia, R. F., Francelino, F. M. A., Francelino, H. de O., Coelho, F. C. (2015) Fatores que afetam a brotação e o perfilhamento da cana-de-açúcar. *Vértices*, 17(1):163-181.

Matoso, E. S., Marco, E. de, Bellé, C., Rodrigues, T. A., Anjos e Silva, S. D. dos. (2016) Desenvolvimento inicial de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. *Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa*:412-434.

Matsuoka, S., Kennedy, A. J., Santos, E. G. D. dos, Tomazella, A. L., Rubio, L. C. S. (2014) Energy Cane: its concept, development, characteristics, and prospects. *Advances In Botany*, 2014 (1):1-13.

Mendonça J.C., Souza, E.F., Bernardo, S., Sugawara. M.T., Peçanha. A.L., Gottardo, R. D. (2007) Determinação do coeficiente cultural (Kc) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Campos dos Goytacazes, RJ. *Revista Brasileira de Engenharia agrícola*, 11(5):471-475.

Miranda, J.R. (2008) História da cana-de-açúcar: History of sugarcane. Campinas: Komedi, 167p.

Mitsuzono, S. T. (2018) Índices morfofisiológicos para crescimento, acúmulo de açúcares e fibras em cana-de-açúcar. Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas - Universidade Federal de Goiás – UFV, Goiânia - GO, 91p.

Moraes, S. L. de, Massola, C. P., Saccoccio, E. M., Silva, D. P. da, Guimarães, Y. B. T. (2017) Cenário Brasileiro da Geração e uso de biomassa adensada. *IPT*, 1(4):1-16.

Muyllé,H., Hulle, S.V., Vliegheer, A., Baert, J., Bockstaele, E.V., Roldán-Ruiz, I. (2015) Yield and energy balance of annual and perennial lignocellulosic crops for biorefinery use: A 4-year field experiment in Belgium. *European Journal of Agronomy*, 63:62–70.

Nascimento, R. S. do, Alves, G. M. (2016) Fontes alternativas e renováveis de energia no Brasil: métodos e benefícios ambientais. *Anais Educação e Ciência para a cidadania global*, 16, São José dos Campos. p.1-6.

Neto, A. (2023) Porto do Açú mira cana produzida no Norte Fluminense. Arnaldo Neto, 25 de jun. de 2023. Disponível em: <https://blogdoarnaldoneto.com.br/porto-do-acu-mira-cana-produzida-no-norte-fluminense/>. Acesso em: 15/02/2024.

Nunes Júnior, D. (2016) Cana Energia um novo produto para o setor sucroenergético. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/cana-energia-um-novo-produto-para-o-setor-dib-nunes?articleId=7957001515785965572>. Acesso em: 19 jan. 2024.

Pedroso, L. L. de A, Silva, F. F. da., Silva, F. F. da, Melo, A. M., Erthal Júnior, M., Shimoya, A., Matias, I. de O., Souza, C. L. M. de. (2018) Demandas atuais e futuras da biomassa e da energia renovável no Brasil e no mundo. *Brazilian Journal of Develpoment*, 4(5):1980 - 1996.

- Pinto, L. (2016) O Brasil, a energia elétrica e as mudanças climáticas. FGV Energia: 1-8.
- Reis Junior, F. B., Silva, L. G., Reis, V. M., Dobereiner, J. (2000) Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 35(5):985-994.
- Reis, L. F. dos, Santos, R. dos, Gomes, L. de O. (2023) Biomassa: análise da utilização do bagaço da cana-de-açúcar na geração de energia. Anais Congresso de trabalhos de graduação, 1, São Paulo, p.1-11.
- Ruddy, G. (2023) Porto do Açú mira biomassa de cana para produção de metanol verde. UDOP - energia que inova, 26 de jun. 2023. Disponível em: <https://www.udop.com.br/noticia/2023/06/26/porto-do-acu-mira-biomassa-de-cana-para-producao-de-metanol-verde.html>. Acesso em: 15/02/2024.
- Ruiz, E. T. N. F. (2015) Análise de investimento em projetos Greenfield de bioenergia. Campinas: Alínea, 334p.
- Santoyo, G., Moreno-hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. D. E. C., Glick, B. R. (2016) Plant growth-promoting bacterial endophytes. Microbiological Research, 183:92-99.
- Santos, S. G. dos (2017) Mudanças pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas: desenvolvimento e metabolismo de nitrogênio. Doutorado em Ciência do solo – UFRRJ – Seropédica- 97p.
- Silva, F. S. G., Machado, G., Silva, F. C. da, Marchiori, L. F. S., Castro, A. de, Silva, V. F. da. (2019) Avaliação experimental e panorama da cana energia na cadeia produtiva sucroenergética: caracterização e identificação de potencialidades. Anais Jornada Científica E Tecnológica Da Faetec De Botucatu, 8, Botucatu. p.1-8.
- Silva V. L., Freitas P. V. D. X., Caetano G. A. O., França A. F. S. (2020) Cana energia e produção de silagem como estratégia para alimentação animal. Veterinária e Zootecnia, 2(7):001- 013.
- Souza, J. L., dos Santos, R. B., Nunes, V. V., Torres, M. F. O., Calazans, C. C., Junior, L. F. G. O., & Silva-Mann, R. (2020) Déficit hídrico no desenvolvimento de cultivares de cana-de-açúcar. Global Science and Technology, 13(01):196–210.

Souza, T. de. (2022) Geração de energia a biomassa de cana pode triplicar. Brasil Energia, 08 de nov. de 2022. Disponível em: <https://editorabrasilenergia.com.br/geracao-de-energia-a-biomassa-da-cana-pode-triplicar/>. Acesso em: 15/02/2024.

Taiz, L., Zeiger, E. (2013) Fisiologia Vegetal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed.

Taiz, L., Zeiger, E. (2017) Fisiologia do desenvolvimento vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 888p.

Tan, L., Zhou, L., Zhao, N., He, Y., & Qiu, Z. (2021) Development of a low-cost portable device for pixel-wise leaf SPAD estimation and blade-level SPAD 43 distribution visualization using color sensing. Computers and Electronics in Agriculture, 190(1):106487.

UDOP (2024) Principal fonte primária de energia renovável, cana-de-açúcar supera sozinha média mundial de renovabilidade na matriz energética. União Nacional da Bioenergia, 05 de jul. de 2024. Disponível em: <https://www.udop.com.br/noticia/2024/07/05/principal-fonte-primaria-de-energia-renovavel-cana-de-acucar-supera-sozinha-media-mundial-de-renovabilidade-na-matriz-energetica.html>. Acesso em: 12 de março de 2025.

Vidal, R.A. (2011) Teoria e prática do manejo de infestantes da cultura da cana-de-açúcar no Brasil. Porto Alegre, 136p.