

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

IVANILDO ALVES DA SILVA

**EFEITO DA FONTE DE NITROGENIO NA DIVERSIDADE DA POPULAÇÃO
DE ENDOFÍTICOS EM CANA-DE-AÇÚCAR**

RIO LARGO – AL

2021

IVANILDO ALVES DA SILVA

**EFEITO DA FONTE DE NITROGENIO NA DIVERSIDADE DA POPULAÇÃO
DE ENDOFÍTICOS EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Centro de Ciências Agrárias como parte dos
requisitos para obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Gildemberg Amorin Leal Júnior

RIO LARGO – AL

2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

S586e Silva, Ivanildo Alves da
Efeito da fonte de nitrogênio da diversidade da população de endofíticos em cana – de - açúcar. / Ivanildo Alves da Silva – 2021.
34 f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2021.

Orientação: Prof. Gildemberg Amorim Leal Júnior

Inclui bibliografia

1. Nitrogênio. 2. Cana – de - açúcar. 3. Endofíticos. I. Título.

CDU 633.61

IVANILDO ALVES DA SILVA

**EFEITO DA FONTE DE NITROGENIO NA DIVERSIDADE DA POPULAÇÃO
DE ENDOFÍTICOS EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Trabalho de conclusão de curso submetido à banca examinadora do centro de ciências agrária da Universidade Federal de Alagoas (CECA-UFAL), como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Data da Defesa: 04 de outubro de 2021

Resultado: Aprovado

Documento assinado digitalmente
gov.br Gildemberg Amorim Leal Junior
Data: 06/10/2021 11:19:49-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof.Dr.: Gildemberg Amorim Leal Junior – CECA/UFAL

Orientador

Banca Examinadora:



Prof.Dr^a: Adriana Guimarães Duarte – CECA/UFAL

Examinadora Interna



Mestre: Lucas da Silva Lopes – UNESP/BOTUCATU

Examinador Externo

A meu pai, José Cícero Simão da Silva (in memoriam), à minha mãe, Jelza Alves da Silva (in memoriam), pelo inestimável amor, incentivo e apoio em toda a minha vida acadêmica, principalmente nas etapas mais difíceis do caminho.

DEDICO

O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, e o conhecimento do santo a prudência.

Provérbios 1:7, 9:10

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por iluminar meus passos, dando-me, sobretudo sabedoria, força e coragem para chegar ao fim dessa jornada, pois sem a ajuda dEle nada seria possível;

À Universidade Federal de Alagoas - UFAL e ao Centro de Ciências Agrárias - CECA, pela oportunidade de execução deste curso;

Ao meu orientador Prof.Dr. Gildemberg Amorin Leal Junior pela oportunidade que me foi dada no Laboratório, pela orientação, pelas condições de trabalho oferecidas e por todo o aprendizado durante minha jornada científica;

Ao Dr. Livoney Goes, por todos os ensinamentos, pela amizade e pela enorme ajuda dada durante o curso;

A todos os professores do curso de graduação em Agronomia pelos conhecimentos, experiências e ensinamentos transmitidos;

A todos os meus amigos do curso de Agronomia, pela amizade e companheirismo durante todos esses anos;

Obrigado a todos!

RESUMO

A cultura da cana-de-açúcar é uma das mais importantes do Brasil, com grande expressividade, sobretudo nas regiões Sudeste, Nordeste e, mais recentemente, Centro-Oeste. Algumas variedades da cultura possuem sistema de fixação biológica de nitrogênio (FBN) muito eficiente, o que pode garantir grande parte da necessidade desse nutriente. No entanto existe uma demanda reduzida de nitrogênio que pode ser explicada pela fixação biológica, todavia a falta de resposta a aplicação de adubos nitrogenados resulta da baixa eficiência do uso do nutriente pela cultura. A resposta à adubação também é influenciada por outros fatores, de modo que cultivares de ciclo curto, menos vigorosos e tubérculos-semente menores exigem maiores doses de nitrogênio. O nitrogênio tende a alongar o ciclo e aumentar o vigor vegetativo das plantas, podendo, quando em excesso, reduzir a produtividade e a qualidade da cultura. O baixo aproveitamento do nitrogênio pelas plantas e as perdas para o ambiente, nos leva a ter cuidado no incremento da aplicação de nitrogênio por resultar em maior contaminação do solo, ar e água. O trabalho avaliou o efeito da adubação exclusiva com amônio na população de endofíticos, utilizando diferentes fontes de nitrogênio para verificar se ocorre variação na população de endofíticos, comparando o resultado observado com o que não receberam adubação com nenhuma fonte de nitrogênio, Espera-se que haja diferença na população de endofíticos quando comparado com a população sem adubação.

Palavras-chave: Nitrogênio. Cana-de-açúcar. Endofíticos

ABSTRACT

The sugarcane crop is one of the most important in Brazil, with great expression, especially in the Southeast, Northeast and, more recently, in the Midwest. Some crop varieties have a very efficient biological nitrogen fixation system (FBN), which can guarantee a large part of the need for this nutrient. However, there is a reduced demand for nitrogen that can be explained by biological fixation, however, the lack of response to the application of nitrogen fertilizers results from the low efficiency of nutrient use by the crop. The response to fertilization is also influenced by other factors, such that short cycle cultivars, less vigorous and smaller seed tubers require higher doses of nitrogen. Nitrogen tends to lengthen the cycle and increase the vegetative vigor of the plants, being able, when in excess, to reduce the productivity and quality of the tubers. The low use of nitrogen by plants and the losses to the environment, we must be careful in increasing the application of nitrogen as it results in greater contamination of soil, air and water. The work will evaluate the effect of exclusive fertilization with ammonium on the population of endophytes, using different nitrogen sources to verify if there is variation in the population of endophytes, comparing the observed result with those who did not receive fertilization with any nitrogen source. that there is a difference in the population of endophytes when compared to the population without fertilization.

Key words: Nitrogen, sugar cane, endophytes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Conjunto de adubos verdes utilizados na cultura da cana-de-açúcar.....	17
Figura 2. Cultivo da cana-de-açúcar em vaso.....	24
Figura 3. Isolamento dos microrganismos endofíticos.....	25
Figura 4. Fragmentos nas placas de petri com cultura BDA.....	26
Figura 5. Processo de repicagem dos microrganismos endofíticos.....	26
Figura 6. Classificação dos isolados.....	27
Figura 7. Gráfico com os gêneros encontrados.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mostra a composição da oferta interna de energia de 2016 e 2017, na qual se observa a participação maior dos derivados da cana-de-açúcar em comparação a hidráulica e a elétrica.....	14
Tabela 2. Gêneros identificados, após isolamento e classificação com a microscopia de luz com chave taxonômica.....	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. A cultura da cana-de-açúcar no Brasil.....	12
2.2. Importância ambiental e socioeconômica	13
2.3. Consumo de nitrogênio	15
2.4. Importância do nitrogênio para a cultura da cana-de-açúcar	16
2.5. Microorganismos endofíticos.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1. Material vegetal.....	23
3.2. Condução do experimento	23
3.3. Adubação	23
3.4. Isolamento dos microorganismos endofíticos.....	25
4. RESULTADO	28
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	31
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	32

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil no início do século XVI, quando foi iniciada a instalação de engenhos de açúcar, a primeira indústria implantada na nova possessão de Portugal, que em pouco tempo substituiu a extração do pau-brasil. A cana-de-açúcar é uma planta proveniente do sul e sudeste asiático. Com a expansão muçulmana a cana foi introduzida em áreas onde não era cultivada.

No continente europeu ela foi cultivada na Espanha e posteriormente levada para as Américas durante a expansão marítima onde foi cultivada em países como Brasil, Cuba, México, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela. Por muito tempo foi à base da economia do nordeste brasileiro, na época dos engenhos. A principal força de trabalho empregada foi a da mão-de-obra escravizada, primeiramente indígena e em seguida majoritariamente de origem africana, sendo utilizada até o fim do século XIX. Esses trabalhadores, na ocasião da colheita, chegavam a trabalhar até 18 horas diárias. Com a mudança da economia brasileira para a monocultura do café, esses trabalhadores foram deslocados gradativamente dos engenhos para as grandes fazendas cafeeiras.

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L*), do mundo, seus produtos são largamente utilizados na produção de açúcar, álcool combustível e, mais recentemente, biodiesel. De acordo com Dinardo-Miranda et al. (2010), a cana-de-açúcar pertence à família *Poaceae* e ao gênero *Saccharum*, sendo uma cultura perene e própria a climas tropicais e subtropicais, e atualmente as espécies mais cultivadas de cana-de-açúcar são híbridas.

O setor sucroalcooleiro brasileiro despertou o interesse de diversos países, principalmente pelo baixo custo de produção de açúcar e álcool. Este último tem sido cada vez mais importado por nações de primeiro mundo que visam reduzir a emissão de poluentes na atmosfera e a dependência de combustíveis fósseis. O baixo custo é conseguido por vezes pelo emprego de mão de obra assalariada de baixíssima remuneração.

No Brasil, a agroindústria da cana-de-açúcar tem adotado algumas políticas de preservação ambiental. Existem diversas usinas brasileiras que comercializam crédito de carbono, dada sua eficiência ambiental. As queimadas também têm diminuído devido ao aumento de denúncias e endurecimento da fiscalização, embora muitas dessas denúncias terminem sem uma penalização formal. Para renovação do cultivo, algumas indústrias canavieiras fazem, a cada quatro ou cinco anos, plantios de leguminosas (soja, feijão) que recuperam o solo

pela fixação de nitrogênio. Quanto aos problemas advindos da queima controlada na época do corte, existe já um movimento em direção à mecanização da colheita que aumenta de ano para ano.

O setor sucroalcooleiro é o mais importante da economia alagoana, sendo a principal fonte de emprego e de desenvolvimento do estado.. Devido à tamanha grandeza, senhores de engenho, coronéis, usineiros e empresários uniram-se, ocasionando, em 1944, a fundação do Sindicato da Indústria do Açúcar e do Alcool no Estado de Alagoas (SINDAÇÚCAR-AL), entidade de defesa e representação dos produtores da cana, açúcar, açúcar e energia.

A adubação nitrogenada é um dos fatores que afetam diretamente a produtividade, contudo apresentam algumas limitações por comprometer o sistema agrícola principalmente os das culturas energéticas que é o caso da cana-de-açúcar. O aproveitamento reduzido do nitrogênio pelas plantas e as perdas que ocorrem para o ambiente, dificulta o incremento da aplicação por resultar em maior contaminação do solo, ar e água. O melhoramento para o uso eficiente do nitrogênio em cana-de-açúcar dispõe na diversidade genética do germoplasma de genótipos que usam de forma eficiente o nutriente. No desenvolvimento de novas cultivares, uma peculiaridade da espécie deve ser considerada, a cana-de-açúcar absorve preferencialmente o amônio em detrimento ao nitrato. O fato cria uma divergência sobre a estratégia a ser adotada no melhoramento para eficiência do uso em cana. Um direciona para absorção preferencial de nitrato e outra para melhoria do uso do amônio.

A reduzida exigência do nitrogênio na cultura da cana-de-açúcar no Brasil é atribuída aos efeitos da fixação biológica. A capacidade de fixação biológica do N na cana-de-açúcar também contribui para o fornecimento de N a cana, sendo influenciada pelas características genéticas (URQUIAGA et al.,1992). Na cana-de-açúcar, o nitrogênio é o nutriente extraído em maior quantidade (CATANI, citado por MALAVOLTA et al., 1967). Considerando a importância da cana-de-açúcar e sua preferência pelo nitrato, o presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito do fornecimento da fonte de nitrogênio na diferenciação no aparecimento das populações de endofíticos verificando se houve seleção por preferência ao amônio ou nitrato, será que a fonte de N ocasionará mudança, ou se não haverá nenhuma diferença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura da cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) é uma das culturas agrícolas que mais acompanha o desenvolvimento do Brasil. As primeiras mudas de cana chegaram ao Brasil em 1502, trazidas da Ilha da madeira, sendo efetivamente cultivada comercialmente a partir de 1532 por iniciativa de Martin Afonso de Souza (DE CARLI, 1936, citados por FIGEREDO, 2008). Ao longo da história do país, a cana-de-açúcar passou por grandes mudanças, principalmente no que diz respeito ao melhoramento genético, visando sempre aumentar sua eficiência produtiva (LANNDELL; BRESSSIANI, 2008).

Nos últimos anos a cana-de-açúcar foi uma das culturas que mais cresceu no Brasil rompendo fronteiras, influenciando no desenvolvimento econômico, social e cultural das regiões onde novas unidades são instaladas. A produção de cana-de-açúcar no Brasil registrou na safra 2017/2018, 633,26 milhões de toneladas. Os números do encerramento da safra 2017/2018 foram divulgados pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). A área usada para a produção de cana-de-açúcar no Brasil ficou em 8,73 milhões de hectares (Conab).

O Brasil é responsável por mais da metade de todo o açúcar comercializado no mundo, sendo também o maior exportador de etanol. Além do açúcar e do álcool, a cana-de-açúcar também gera importantes subprodutos, como o bagaço utilizado na geração de eletricidade, torta e vinhaça que são utilizados na adubação dos canaviais.

A cana-de-açúcar é considerada uma das grandes alternativas para o setor de biocombustíveis devido ao grande potencial na produção de etanol e seus respectivos subprodutos. Nos últimos anos o setor sucroenergético apresentou um crescimento contínuo, tornando o país o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (NEVES et al., 2011). Esta expansão continua crescendo em ritmo menos acelerado.

De acordo com os dados do 4º e último levantamento da safra de cana-de-açúcar 2017/2018, a produção teve leve queda, chegando a 633,26 milhões de toneladas, o que corresponde a 3,6% a menos em relação à safra anterior, que foi de 657,18 milhões de toneladas, de acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2018), apesar da maior produtividade na região Nordeste, a média brasileira foi semelhante à da safra passada, de 72.5 t ha, e acabou não impactando no aumento da produção.

Apesar da desaceleração ocorrida no setor nos últimos anos, decorrente da crise mundial, o setor continua em crescimento pela eleva demanda energética no mundo, principalmente pelo aumento da frota de carros “flex” e elevação dos preços do açúcar no mercado mundial (NEVES et al.,2011).

2.2. Importância Ambiental e Socioeconômica

O cultivo de cana-de-açúcar é um grande potencial para o mercado de agricultores, e o Brasil tem sido reconhecido como o principal produtor da planta por possuir um amplo negócio de exportação. Além disso, é uma cultura que proporciona o aproveitamento de 100% dos seus resíduos, ela é matéria-prima para a produção de energia limpa, já que o bagaço sobrado da cana possibilita a produção de energia sustentável, e muitas usinas desenvolvem tal atividade.

A busca por combustíveis renováveis que possam substituir o petróleo e causar menos danos ao meio ambiente tem crescido fazendo da cana-de-açúcar um produto procurado mundialmente por ser sustentável.

Qualquer atividade agrícola que utiliza recursos naturais, como água e solo, e usa insumos e defensivos agrícolas, é possível reduzir os impactos, ao fazer planejamento, ocupação criteriosa do solo agrícola e emprego de técnicas de conservação para cada cultura e região.

A produção de cana-de-açúcar provoca os seguintes impactos:

- Redução da biodiversidade, causada pelo desmatamento;
- Contaminação das águas superficiais e subterrâneas e do solo, devido ao excesso de adubos químicos, corretivos minerais, herbicidas e defensivos agrícolas;
- Compactação do solo, devido ao tráfego de máquinas pesadas durante o plantio, tratos culturais e colheita;
 - Assoreamento de corpos d’água, devido à erosão do solo em áreas de reforma;
 - Emissão de fuligem e gases de efeito estufa, na queima de palha, ao ar livre, durante o período de colheita;
 - Danos à flora e à fauna, causados por incêndios descontrolados;

Dentre os impactos ambientais gerados pela agroindústria da cana-de-açúcar, o mais conhecido e mais discutido ao longo dos anos tem sido a queima da palha. Mesmo com a Lei Estadual 11.241, de 2002, que veta a queima de palha de cana, ao ar livre, a queimada é um método usado para facilitar a colheita. Aliada aos riscos de prejuízos econômicos, danos à

fauna e à flora, as queimadas são responsáveis pela emissão de gases justamente no período de estiagem, quando as condições de temperatura, umidade e velocidade dos ventos são desfavoráveis à dispersão dos poluentes. Assim, a má qualidade do ar pode prejudicar a saúde.

A biomassa é uma das fontes para produção de energia com maior potencial de crescimento nos próximos anos. Tanto no mercado internacional quanto no interno, ela é considerada uma das principais alternativas para a diversificação da matriz energética e a consequente redução da dependência dos combustíveis fósseis. Dela é possível obter energia elétrica e biocombustíveis, como o biodiesel e o etanol, cujo consumo é crescente em substituição aos derivados de petróleo como o óleo diesel e a gasolina. A importância da biomassa como objetivo de estudo tornou-se inegável na sociedade moderna (DANALATOS et al.,2007; RAVIDRANATH et al.,2006;QUESADA,2005).

Os derivados da cana-de-açúcar contribuem com 17,4% da oferta interna de energia, sendo superior a oferta pela energia elétrica e hidráulica, que contribuíram com 11,9% do total de todas as fontes. (Tabela 1).

Tabela 1. Mostra a composição da oferta interna de energia de 2016 e 2017, na qual se observa a participação maior dos derivados da cana-de-açúcar em comparação a hidráulica e a elétrica.

Tabela 1: Oferta Interna de Energia (OIE)

ESPECIFICAÇÃO	mil tep		17/16 %	Estrutura %	
	2016	2017		2016	2017
NÃO-RENOVÁVEL	162.975	166.808	2,4	56,5	56,8
<i>PETRÓLEO E DERIVADOS</i>	105.354	106.276	0,9	36,5	36,2
<i>GÁS NATURAL</i>	35.569	37.938	6,7	12,3	12,9
<i>CARVÃO MINERAL E DERIVADOS</i>	15.920	16.570	4,1	5,5	5,6
<i>URÂNIO (U308) E DERIVADOS</i>	4.211	4.193	-0,4	1,5	1,4
<i>OUTRAS NÃO-RENOVÁVEIS (a)</i>	1.921	1.831	-4,7	0,7	0,6
RENOVÁVEL	125.345	126.685	1,1	43,5	43,2
<i>HIDRÁULICA E ELETRICIDADE</i>	36.265	35.023	-3,4	12,6	11,9
<i>LENHA E CARVÃO VEGETAL</i>	23.095	23.424	1,4	8,0	8,0
<i>DERIVADOS DA CANA-DE-AÇÚCAR</i>	50.318	51.116	1,6	17,5	17,4
<i>OUTRAS RENOVÁVEIS (b)</i>	15.667	17.122	9,3	5,4	5,8
TOTAL	288.319	293.492	1,8	100,0	100,0
<i>dos quais fósseis</i>	158.763	162.615	2,4	55,1	55,4

(a) Gás de alto-forno, de aciaria e de enxofre; (b) lixívia, biodiesel, eólica, solar, casca de arroz, biogás, resíduos de madeira, gás de carvão vegetal e capim elefante.

Fonte: Resenha Energética Brasileira, 2017.

A biomassa tem sido usada, por exemplo, na geração de eletricidade e no programa gasohol nos EUA (ROBERTSON; SHAPOURI, 1993). Apesar dos diversos benefícios que a energia gerada pelas diferentes fontes propõe a humanidade, sua produção é a principal

atividade humana geradora dos gases do efeito estufa (GEE), com 57% das emissões, e a cana-de-açúcar é atualmente a cultura em destaque nessa discussão (SCARPINELLA, 2002).

2.3. Consumo de Nitrogênio

A cana-de-açúcar é uma cultura semi-perene, onde cerca de 20 a 25% da sua área plantada é renovada anualmente (VITTI et al., 2008). As doses de fertilizantes nitrogenados usadas nas áreas de cana-de-açúcar no Brasil são em média de 40 kg por ha⁻¹ de N na cana-planta e de 80 kg por ha⁻¹ nas soqueiras (NUNES JÚNIOR et al., 2005). Em levantamento realizado por Cunha et al. (2010), o consumo total de nitrogênio na agricultura brasileira no ano de 2009 foi de 2,5 milhões de toneladas. Neste mesmo ano a Associação Nacional para difusão de adubos (ANDA, 2009) contabilizou a aplicação de N na cana-de-açúcar (safra 2009/2010) e concluiu que esse montante foi de 538,65 mil toneladas de N. No ano de 2009 a cana-de-açúcar foi responsável pelo consumo de 21,5% e todo N utilizado na agricultura brasileira.

O Nitrogênio é um nutriente que possui mobilidade, o que leva a uma maior perda de nitrogênio por escoamento superficial, ressaltando a importância de se preocupar com a eutrofização de rios próximos a cultivos de cana-de-açúcar. Deve ser considerado, também, que na adubação é colocada uma maior quantidade de nitrogênio do que fósforo, influenciando sua maior perda.

Inúmeras pesquisas desenvolvidas no mundo mostram os impactos dos fertilizantes à base de nitrogênio utilizados na agricultura na emissão de gases no efeito estufa (GEE), entre eles os mais importantes são CO₂, CH₄ e o N₂O (SOARES et al., 2009). A grande preocupação quanto a utilização de fertilizantes nitrogenados está estreitamente relacionada ao fato de maiores emissões de N₂O ocorrerem na aplicação desses fertilizantes no solo (IPCC, 2006).

O nitrogênio é constantemente adicionado ao solo a partir dos fertilizantes orgânicos, químicos e minerais; e por fixação de microrganismos. Parte desses elementos adicionada é perdida por percolação, volatilização, colheitas e escoamento superficial, sendo esse último uma fonte não pontual de poluição das águas superficiais (COUSO et al., 2013).

Uma das fontes de nitrogênio mais utilizadas em cultivos de cana-de-açúcar é a ureia (HOFMAN et al., 2006). O nitrogênio adicionado ao solo passa pelo processo de nitrificação e nitratação. Neste processo, há uma transformação do íon amônio em íons nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻), e isso ocorre independente do solo e da fonte (LUDOVICE, 2003). Em solos alcalinos, onde há uma concentração de carga negativa, há a repulsão do nitrato e nitrito com

a superfície negativa da partícula mineral, resultando em uma liberação no solo, tendo como destino final as águas através do escoamento superficial, ou as águas subterrâneas a partir do deslocamento vertical no solo. Estudos feitos por Vargas et al. (2016) demonstram que a cana-de-açúcar prefere o amônio ao nitrato, levando a uma acumulação de nitrato no solo e seu consequente seu transporte. O nitrato tem uma alta mobilidade no solo, pois a capacidade de ligação do nitrato com os solos é muito baixa (COUSO et al., 2013).

Compreender o transporte de nutrientes como nitrogênio auxilia no estudo de avaliação de risco ambiental do uso intensivo do pacote agrícola disseminado na Revolução Verde.

2.4. Importância do Nitrogênio para a cultura da Cana-de-açúcar

O nitrogênio é o segundo nutriente mais absorvido pela cana-de-açúcar (COLETI et al., 2002). Apesar de fazer parte apenas de 1% da matéria seca da cana-de-açúcar possui papel fundamental no desenvolvimento e potencial produtivo da cultura, sendo constituinte de proteínas e ácido nucléicos, além de fazer parte da molécula de clorofila (CARNAÚBA, 1990; MALAVOLTA et al., 1997).

Os sintomas mais nítidos referentes à deficiência de nitrogênio na cana-de-açúcar são a clorose das folhas mais velhas, redução no tamanho dos perfilhos, área foliar e longevidade das folhas. A ausência de N afeta todo o sistema fotossintético e de assimilação de CO₂ (MALAVOLTA et al., 1997).

Parte da adubação nitrogenada da cana-de-açúcar pode ser substituída por fontes alternativas oriundas da própria indústria canavieira, onde se destacam a vinhaça (GLÓRIA; ORLANDO FILHO, 1983); lodo de esgoto urbano (FRANCO et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2004); adubos verdes (AMBROSANO et al., 2005; DUARTA JUNIOR ; COELHO, 2008; UMRIT et al., 2009).

Apesar dos avanços ocorridos durante os anos no Brasil quanto ao uso de fontes alternativas de N, ainda existem contradições quanto ao seu uso e eficiência. O Brasil é o maior detentor do mundo da tecnologia de inoculante para a cana-de-açúcar, apesar de haver ainda grande divergência de opiniões em torno do assunto (BALDANI et al., 2012).

A adubação verde deve ser realizada na época da renovação do canavial. A escolha da cultura deve levar em conta alguns fatores, como a presença de nematoides ou de pragas, a possibilidade de acréscimo de nitrogênio proveniente da fixação biológica nas leguminosas. Por estas razões, são preferidos os adubos verdes: crotalária juncea, mucuna e as culturas de

soja ou amendoim. Outras culturas como o girassol e o nabo forrageiro também podem ser utilizadas nas áreas de reforma, mas com menores vantagens, já que não acrescentam o nitrogênio vindo da fixação biológica.

As culturas em rotação permitem que o solo fique coberto no período das chuvas, contribuindo para o controle da erosão; reciclam nutrientes; diminuem a incidência de plantas daninhas e, no caso das leguminosas, dispensam a adubação nitrogenada de plantio da cana-de-açúcar.

Figura 1. Mostra o conjunto de adubos verdes utilizados na cultura da cana-de-açúcar.



Foto: Raffaella Rossetto, 2016

A cultura da cana-de-açúcar acumula quantidades elevadas de N, podendo chegar a valores em torno de 200 kg ha cana-planta e de 120 a 180 kg há nas soqueiras (ORLANDO FILHO et al., 1980; URQUIAGA et al., 1992). No Brasil as doses de N a aplicada na cultura da cana-de-açúcar são modestas, ao longo do tempo deveria ocorrer à exaustão de N do solo e redução da produtividade, tendo em vista, que o N é um dos nutrientes mais limitantes no potencial produtivo das plantas. Se a saída de N do sistema solo-planta é maior que a reposição, isto indica que a cultura possui em sistema natural e eficiente de reposição de N (URQUIAGA et al., 2011).

A hipótese de fixação biológica de nitrogênio em cana-de-açúcar foi embasada nos trabalhos pioneiros de Döbereiner (1953) quando foi verificada a ocorrência de *Azotobacterchroococcum* em solos ácidos da baixada fluminense, no estado do Rio de Janeiro e nos anos seguintes a presença de *Beijerinckia fluminensis* associada à rizosfera de cana-de-açúcar (DÖBEREINER; RUSCHEL, 1958).

Pesquisas desenvolvidas pela Embrapa Agrobiologia, em parceria com a Universidade Estadual do Norte Fluminense e a Universidade Federal do Rio de Janeiro, demonstram que algumas variedades da cultura possuem sistema de fixação biológica de nitrogênio (FBN) muito eficiente, o que pode garantir grande parte da necessidade desse nutriente. Para melhorar a FBN, é necessário adotar estratégias de seleção de variedades, uso da inoculação com bactérias diazotróficas e correção das deficiências nutricionais do solo, entre outras.

Na última década, estudos com bactérias diazotróficas endofíticas têm se intensificado graças não só à capacidade de fixar N como também às suas potencialidades como agente de promoção de crescimento e proteção de plantas. Na cultura da cana-de-açúcar, os estudos relacionados com seleção de genótipos da planta e de estirpes bacterianas eficientes para a fixação biológica de N₂ têm apontado para contribuição média de 30% do N requerido pela planta.

Estudos com outros tipos de gramíneas têm sido realizados, como no caso do sorgo e milho (LEE et al., 1994) e arroz (WATANABE et al., 1987). MORAIS et al. (2009) avaliaram os genótipos de capim-elefante (Cameroon, BAG 02, Gramafante, Roxo e CNPGL F06-3) em solos de baixa fertilidade, e verificaram que a FBN foi responsável em média por 51% do N assimilado pela planta. Em outro estudo, MORAIS et al. (2011) conduziram três experimentos a campo em solos de baixa fertilidade, dois no Rio de Janeiro e um no Espírito Santo, com as variedades Gramafante, Cameroon, BAG 02, CNPGL F06-3, CNPGL F79-2 e Roxo, e quatro dos genótipos avaliados obtiveram de 18 a 70% do N derivado da FBN.

Vários estudos demonstraram que a adubação da cana-de-açúcar com fertilizantes nitrogenados pode diminuir o número de bactérias diazotróficas com capacidade de fixar o N₂ (BODDEY et al, 2003; FUENTES RAMIREZ et al., 1999; KENNEDY et al., 2004; REIS et al., 2000).

Há necessidade de maior aprofundamento em estudos que determinem a real contribuição da FBN com o intuito de promover maior produtividade, assim como, contribuir para a preservação do meio ambiente. Apesar da constância com que as bactérias endofíticas

são isoladas, ainda são pouco conhecidas suas potencialidades fisiológicas, que implicam diretamente nas possíveis trocas entre esses microrganismos e plantas (MARTINS et al., 2008).

Estudos indicam que do nitrogênio extraído cerca de 50% é exportado com os colmos. TRIVELIN et al. (1995) mencionam que para uma produtividade de 100 t ha⁻¹ de colmo a cultura extrai cerca de 200 a 300 kg ha⁻¹ de nitrogênio. As quantidades de N exportadas pelos colmos são semelhantes ou até menores do que as doses aplicadas ao longo do ciclo, sem contar as perdas de N do sistema (CANTARELLA et al, 2007).

A cana-de-açúcar é uma cultura eficiente no aproveitamento do N do solo, isso ocorre devido ao longo ciclo e ao sistema radicular abundante. Estudos com fertilizantes marcados com N 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% (GAVA et al., 2003; SAMPAIO et al., 1984; TRIVELIN et al, 1995).

Do N aplicado na cultura da cana-de-açúcar 10% a 40% corresponde à porcentagem do N contido nos fertilizantes aplicados e absorvido pela cultura. Logo, parte considerável do N fertilizante é encontrada no solo, onde o nutriente é incorporado a matéria orgânica: 23% a 34% (BASANTA et al, 2002); 25% (CHAPMAN et al, 1992;1994); 36% a 37%(GAVA et al, 2002); 32% (VITTI, 2003) e 13% a 42% (VALLIS et al, 1996).

Estudos realizados nas regiões brasileiras há várias décadas mostraram que a resposta da cana-planta ao N é menor e menos frequente que na cana-soca. (ALBUQUERQUE; MARINHO, 1983; CANTARELLA; RAIJ, 1985; ZAMBELLO; AZEREDO, 1983). Em 481 ensaios realizados no estado de São Paulo com cana-planta menos de 40% mostraram resposta a N (CANTARELLA; RAIJ, 1985). AZEREDO et al. (1986) mostraram percentuais menores ainda, somente 20% dos experimentos compilados mostraram resposta a N.

2.5. Microorganismos Endofíticos

Microrganismos endofíticos, geralmente são fungos e bactérias, são combinações de microrganismos e plantas que vivem sistematicamente no interior das plantas, sem causar aparentemente dano a seus hospedeiros. São distintos dos microrganismos epifíticos, que vivem na superfície dos órgãos e tecidos vegetais. Microrganismos endofíticos também podem ser encontrados não apenas nas partes aéreas dos vegetais, mas inclusive em raízes, que é uma das principais portas de entrada.

Os microrganismos estão presentes nos mais variados ambientes, interagindo com diversas formas de vida. Suas características peculiares conferem adaptação e sobrevivência em ambientes considerados hostis, desempenhando papel fundamental na manutenção de ecossistemas, como exemplo temos sua atuação nos ciclos biogeoquímicos.

Um fator limitante no estudo de diversidade microbiana é a reprodução das condições ambientais em laboratório, ainda um objetivo a ser alcançado. Estudos comparativos indicam que menos de 1% dos microrganismos presentes na natureza são cultivados através de métodos convencionais (ROZSAK; OLWELL 1987, PACE 1997). Assim como ainda não é possível determinar grande parte da diversidade microbiana, tão pouco é possível delimitar quais são todos os tipos de interações possíveis entre microrganismos e outros integrantes do ecossistema (ROZSAK e COLWELL 1987, PACE 1997).

Na agricultura, existe um particular interesse na detecção da diversidade de bactérias que desempenham funções específicas no solo ou que vivem em associação com plantas, como as bactérias endofíticas associativas. Esse interesse deve-se ao fato de que as bactérias associativas podem promover o crescimento das plantas por meio da fixação biológica do N, pela solubilização de fosfato inorgânico ou pela produção de fito-hormônios reguladores do crescimento de plantas. A exploração desse grupo microbiano em processos agrícolas poderia representar uma alternativa ao uso de fertilizantes sintéticos.

Estudos já demonstraram que a inoculação com bactérias associativas promotoras de crescimento de plantas aumentou o crescimento e produção de diversas culturas (KHALID et al., 2003; RICHARDSON et al., 2009). Estudos de isolamento e seleção de isolados em diferentes espécies vegetais e em diversas regiões demonstram que a habilidade de algumas bactérias de produzir substâncias Promotoras de Crescimento de Plantas (PCP) pode ser altamente específica a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares, como também a diferentes ambientes onde estão inseridos, ou, por sua vez, em decorrência do estresse pelo qual a comunidade possa estar passando devido a alterações ambientais e antropogênicas (BERGAMASHI, 2006; MENDES et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; JHA et al., 2009; PRAKAMHANG et al., 2009).

O primeiro relato de microrganismo endofítico ocorreu no início do século XIX, mas foi Bary (1866) quem primeiro delineou uma possível distinção entre eles e patógenos de plantas. Definidos como assintomáticos, não produzindo, portanto, efeitos benéficos ou prejudiciais aos hospedeiros, permanecendo esquecido até os anos 70, quando por uma série de motivos começaram a chamar a atenção. Nessa época verificou-se que longe de serem

meros habitantes do interior de vegetais, possui propriedade de interesse, como por exemplo, conferir proteção contra inseto-praga, outros microrganismos patogênicos e inclusive contra herbívoros. Atualmente sabemos que os endofíticos podem produzir toxinas, antibióticos e outros fármacos, fatores de crescimento e muitos produtos de potencial interesse biológico.

Os microrganismos endofíticos adentram a planta por aberturas naturais e feridas. Uma das portas de entrada mais utilizadas pelos endofíticos são as raízes, a emergência de raízes secundárias laterais sempre é acompanhada por uma “ferida”, que serve de entrada para os microrganismos. O próprio crescimento das raízes, penetrando no solo, gera abrasões, que facilitam a entrada de germes. Outras portas de entrada são aberturas naturais como estômatos e hidatódios, aberturas feitas por insetos e até mesmo por estruturas de fungos patogênicos, como os apressórios.

Eles também podem ser encontrados dentro de estruturas fúngicas. Foi identificado um fungo micorrízico, o *Glomus Clarum*, contendo a bactéria endofítica *AcetorbacterDiazotrophicus* no seu interior (PAULA et al., 1991).

No caso de bactérias endofíticas, como as fixadoras de nitrogênio, penetram via raízes laterais emergentes ou pela região apical meristemática da raiz. Outras podem entrar via estômatos (DÖBEREINER et al., 1993). Alguns microrganismos endofíticos são transmitidos via semente, em plantas com propagação vegetativa, eles passam de uma para outra através das estruturas utilizadas nessas propagações.

Provavelmente todas as plantas possuem microrganismos endofíticos. Assim como ainda não é possível determinar grande parte da diversidade microbiana, tão pouco é possível delimitar quais são todos os tipos de interações possíveis entre microrganismos e outros integrantes do ecossistema (ROZSAK; COLWELL 1987, PACE 1997).

Uma mesma planta pode conter vários deles, incluindo fungos e bactéria. Em geral, existem espécies bastante frequentes em um determinado hospedeiro. São chamados de espécie dominante em contra posição a outras mais raras, que são as secundárias. Em *Citrus* são encontrados poucos fungos quando comparamos com o número de espécie e gênero encontrados em, por exemplo, *Stylosanthes* e *Musa* (PEREIRA, 1993; PEREIRA et al., 1993; ARAÚJO ; AZEVEDO, 1995; GLIENKE, 1995; GLIENKE et al.,1995).

Uma das interações realizadas por microrganismos há muito conhecida ocorre com vegetais, em que bactérias e fungos são responsáveis pelo processo de fixação do nitrogênio, sendo denominadas genericamente diazotróficas e micorrizas, respectivamente.

Apesar de seres inicialmente descritos como assintomáticos, e muitos dos endofíticos isolados até o momento não terem efeito conhecido sobre seus hospedeiros vegetais, vários deles já demonstram ter uma função bem determinada nas plantas que os hospedam. Assim, alguns possuem capacidade de modificar morfológicamente o tecido dos hospedeiros, outros acarretam modificação fisiológica e outros como já mencionados, protegem as plantas contra ataques de insetos ou patógenos.

Sabe-se que microrganismos endofíticos existem em praticamente todas as plantas, e também se sabe que ocorrem variações dentro das espécies, inclusive tornando-as patogênicas ou não. Entretanto não existem ainda muitas informações sobre variabilidade dentro de espécies ou gêneros que ocorrem no interior de uma mesma planta, em seus diferentes órgãos e tecidos, ou entre endofíticos isolados da mesma espécie vegetal, porém em diferentes épocas do ano ou locais distintos. Sabe-se que a variação fenotípica é comum em isolados de uma mesma espécie de fungo.

É difícil estabelecer um limite definido entre microrganismo endofíticos e patogênicos. Muitos endofíticos são relacionados como patogênicos e pode ser inclusive levantada à hipótese que todos os patogênicos tenham sido derivados de endofíticos e vice-versa. Muitos endofíticos estão intimamente relacionados como patógenos, como o caso do fungo endofítico *R.parkeri*, isolado de crucíferas e relacionado com outros fungos desse gênero e patógenos do mesmo hospedeiro.

Vários patógenos de planta de clima tropical e temperado, estas últimas décadas no Brasil, como *stylosanthes*, bananeiras e plantas cítricas, estão presentes em plantas aparentemente saudáveis (PEREIRA et al., 1993; GLIENKE, 1995; GLIENKE et al., 1995). Foi detectada também uma modificação genética em *Colletotrichum magna*, que normalmente causa a antracnose em curcubitáceas, resultando em um endófito que não produz nenhum efeito patogênico no hospedeiro, mas, ao contrário o protege contra fungos patogênicos como *fusarium* e o próprio *C.magna* (FREEMAN; RODRIGUES, 1993). Certos endofíticos, que não causam sintomas em determinado hospedeiro, podem ser patogênicos para outros (AZEVEDO, 1996).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Vegetal

A cultivar utilizada foi a RB92579. Os propágulos vegetativos, mini toletes, foram obtidos de plantas cultivadas no campo da Estação Experimental do CECA-UFAL, do Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar (PMGCA).

3.2. Condução do experimento

O trabalho foi desenvolvido utilizando a cultivar RB92579, o experimento foi conduzido no Laboratório de Microscopia do Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal de Alagoas, localizado no km 85 da BR 104 norte, Rio Largo, Alagoas. No período de maio a dezembro de 2019. Foram utilizados mini toletes de 2 cm contendo gema, os mini toletes foram deixados em bandejas com vermiculita em câmara úmida, por 72h, para induzir a brotação das gemas. As brotações a partir de 5 cm de altura foram transplantadas para vasos (4L) contendo areia misturada com vermiculita na proporção de (2:1). Os vasos foram mantidos em ambiente aberto. As mudas ficaram mantidas por 4 semanas apenas sob irrigação com água destilada, Na quinta semana foi ministrada a adubação nitrogenada através de solução nutritiva.

Os tratos culturais foram feitos manualmente, considerando o plantio em vaso. Os adubos utilizados como fonte de N foram o Sulfato de Amônio, nitrato de cálcio e nitrato de amônio, além da testemunha que não teve aplicação de adubo, As doses de nitrogênio foram 0, 5, 10, 20 e 40mM . Para isolamento de endofíticos foram utilizados fragmentos da folha+1 da cana-de-açúcar.

3.3. Adubação

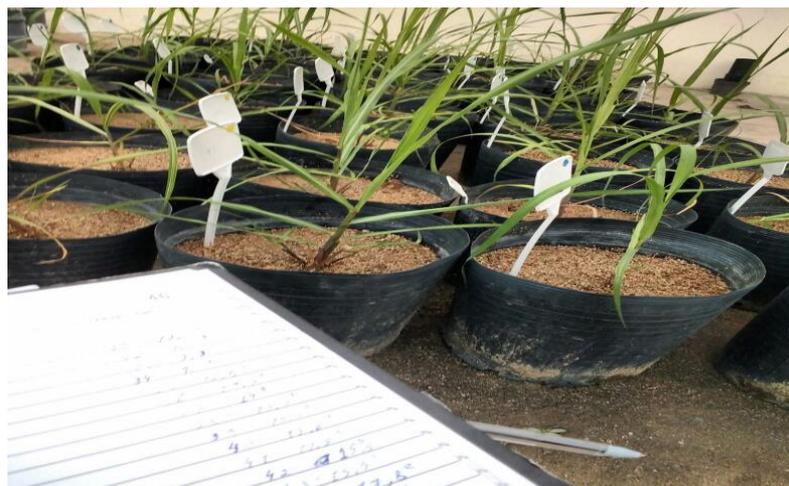
As fontes de nitrogênio utilizadas foram sulfato de amônio, nitrato de cálcio e nitrato de amônio, As doses de nitrogênio serão 0, 5, 10, 20 e 40mM, .O experimento foi fatorial (fonte e dose), tendo 3 fontes e 5 doses, com delineamento inteiramente casualizado.

A solução nutritiva base foi à solução Hoagland modificada (Hoagland and Arnon, 1959) preparada a partir de soluções estoque de macronutrientes (cálcio, fósforo, potássio, magnésio e enxofre) e micronutriente (cloro, boro, manganês, zinco, cobre e molibdênio). Os tratamentos de nitrogênio foram posteriormente adicionados de acordo com concentração final a solução estoque (1M). No preparo dos tratamentos, inicialmente foi preparada uma solução base com os macronutrientes e micronutriente (CaCl_2 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , FeEDTA e micronutrientes), o volume (120 ml) foi dividido em 5 partes para receber as concentrações de N (0, 5, 10, 20 e 40 mM). O procedimento foi repetido para cada fonte de N. Cada solução nutritiva (2 mM MgSO_4 , 1 mM CaCl_2 , 0,457mM KH_2PO_4 , 100 μM FeEDTA , 50 μM KCl , 2 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 10 μM MnSO_4 , 10 μM H_3BO_3 , 1 μM CuSO_4 e 0,35 μM Na_2MoO_4) adicionada a cada tratamentos de nitrogênio foram aplicadas após a 4 semana de transplante.

A irrigação foi fornecida em cada vaso, as plantas daninhas que surgiram nos vasos foram retiradas para não absorver nutriente afim de não comprometer o experimento.

Foram coletadas 3 amostras por planta, uma da base da folha, outro do meio e outra da ponta da folha da cana-de-açúcar, todas as amostras foram retiradas da folha +1, para fazer o isolamento de endofíticos.

Figura 2. Cultivo da cana-de-açúcar em vaso.

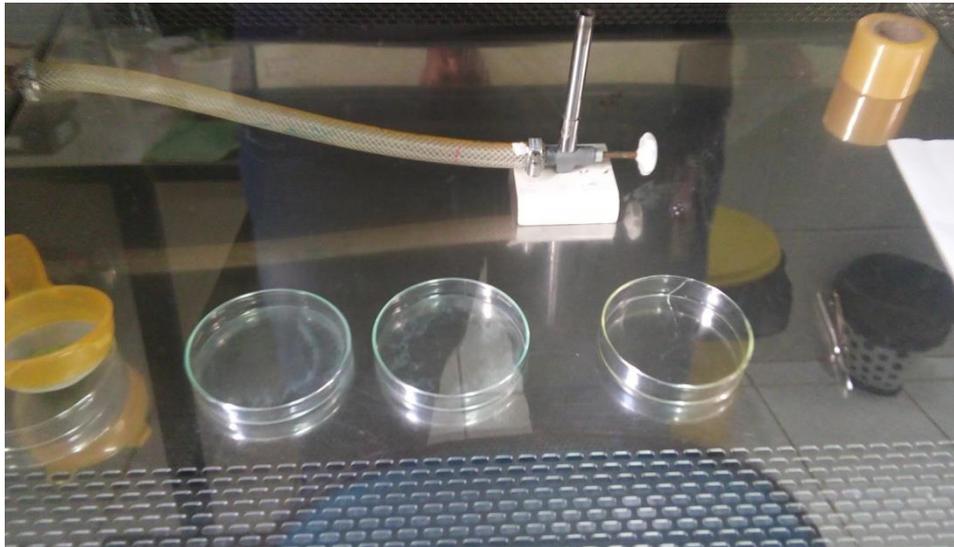


Fonte: Ivanildo, 2019.

3.4. Isolamento dos Microrganismos Endofíticos

A folha +1 da cana-de-açúcar material reservado para isolamento dos fungos endofíticos foi retirada da planta e depois, foi retirada a nervura central da folha e a mesma foi cortada em fragmentos de 2 cm. Em seguida, o material foi submetido ao processo de desinfestação superficial de acordo com Araújo et al. (2005), para eliminação de microorganismos epifíticos por meio de várias lavadas (5 a 6) em série em álcool 70% por 1 minuto, logo após por hipoclorito de sódio a 3% por 2 minutos, e depois por água destilada esterilizada (ADE) por duas vezes com intervalos de 30 segundos.

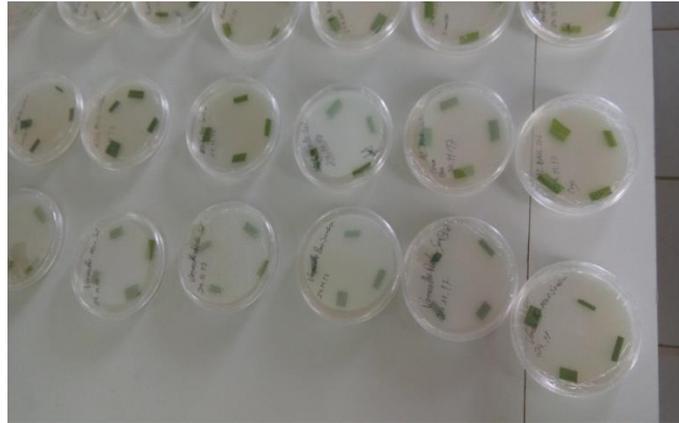
Figura 3. Isolamento dos microrganismos endofíticos.



Fonte: Ivanildo, 2021

Após assepsia, pequenos fragmentos medindo aproximadamente 1x1 cm foram plaqueados para os meios de cultura apropriados, foram usadas placas de petri inicialmente com o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA, contendo 200g de batata 20g de dextrose e 15g de Agar para cada 1000 ml de água).

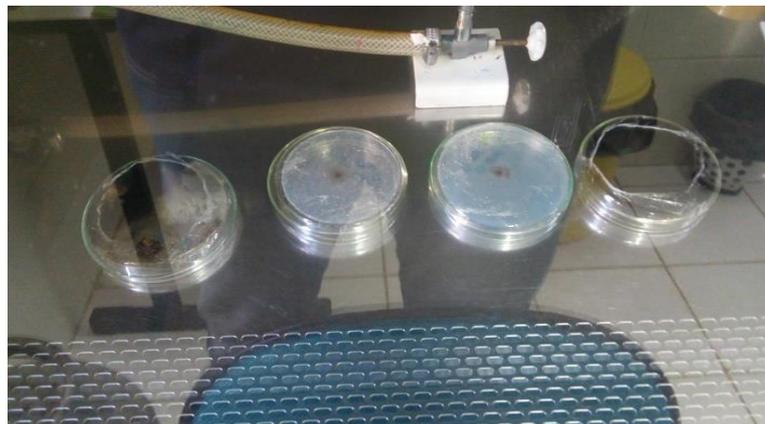
Figura 4. Fragmentos nas placas de petri com de cultura BDA.



Fonte: Ivanildo, 2021.

Após o isolamento dos endofíticos foi realizada uma purificação, que ocorre entre 3 a 4 dias após plaqueamento, com auxílio de bisturi flambado, as amostras cortadas em fragmentos de 2 cm, esses fragmentos foram transferidos em situação. Os microrganismos isolados foram repicados agora para um meio de cultura mais nutritivo que foi Sintético-Nutriente –Ágar (SNA), para posteriormente ser realizada a classificação em nível de gênero dos microrganismos isolados (AZEVEDO, 1991).

Figura 5. Processo de repicagem dos microrganismos endofíticos.



Fonte: Ivanildo, 2019.

Foi realizado o preparo dos microrganismos endofíticos, onde os fungos com esporulação abundante foram identificados em nível de gênero, baseando-se nas características morfológicas, por meio de observação realizada em nível microscópico e macroscópico das colônias (cor, aspecto, consistência, presença de pigmento, morfologia

das estruturas somáticas e reprodutivas). Foram preparadas lâminas com fragmentos da colônia dos fungos que foram observadas sobre microscópio óptico.

Os fungos que não foram observadas esporulação quando cultivados em BDA foram ainda transferidos para outro meio, sendo esse o meio Sintético- Nutriente –Ágar (SNA) a fim de induzir a esporulação.

Os aspectos morfológicos e fisiológicos das colônias foram comparados aos descritos em chave taxonômica.

Figura 6. Classificação dos isolados (A). Lâmina na microscopia de luz (B)



Fonte: Ivanildo, 2021



fonte: Ivanildo, 2021

4. RESULTADOS

O número total de endofíticos isolados das folhas de cana-de-açúcar foi de 144, sendo 41,67% encontrados na testemunha, 17,36% encontrados no tratamento com sulfato de amônio, 22,22% no tratamento com nitrato de amônio e 18,75% no tratamento com nitrato de cálcio. E a análise de diversidade de fungos endofíticos associados à folha da cana-de-açúcar, nas condições do estudo, mostrou a presença de 5 gêneros: (*Nigrospora*, *Curvularia*, *Paecilomyces*, *Cladosporium* e *Fusarium*), além de um conjunto microorganismo que não foi possível a identificação através do método de chaveamento taxonômico utilizado neste trabalho (Tabela 2).

O gênero *Nigrospora* esteve presente nos três tratamentos, no tratamento com sulfato de amônio, no tratamento com nitrato de cálcio, no nitrato de amônio e inclusive na Testemunha a que apresentou o maior número de espécie identificada com um total de onze isolados. O gênero *Curvularia* esteve presente nos três tratamentos, inclusive na Testemunha, sendo o tratamento com nitrato de amônio com maior frequência, Já os Gêneros *Paecilomyces* e *Cladosporium* apareceram apenas na testemunha. já o gênero *Fusarium* apareceu no tratamento com Sulfato de Amônio e no nitrato de amônio, com a presença de um isolado em cada tratamento,

Tabela 2. Gêneros identificados, após isolamento e classificação com a microscopia de luz com chave taxonômica.

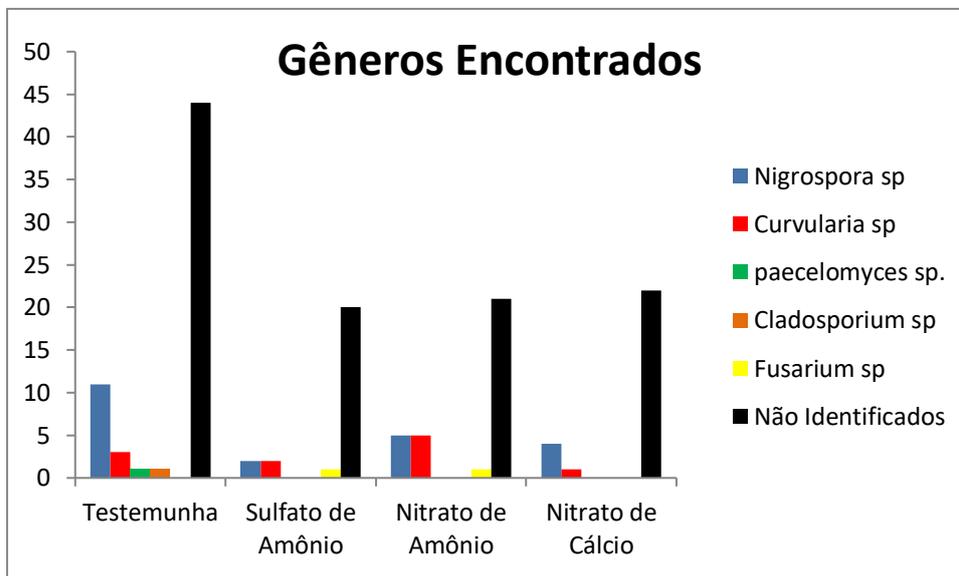
Isolados				
	Testemunha	Sulfato de Amônio	Nitrato de Amônio	Nitrato de Cálcio
<i>Nigrospora sp</i>	11	2	5	4
<i>Curvularia sp</i>	3	2	5	1
<i>paecilomyces sp.</i>	1			
<i>Cladosporium sp</i>	1			
<i>Fusarium sp</i>		1	1	
Não Identificados	44	20	21	22

Para os gêneros *Paecilomyces* e *Cladosporium* não foi observado nenhum isolado nos tratamentos com nitrogênio (sulfato de amônio, nitrato de amônio e nitrito de cálcio),

indicando que esse elemento inibe a presença de espécies desses gêneros em cana-de-açúcar. Embora que, mesmo na sua ausência, a incidência permanece baixa com um isolado para cada gênero nas testemunhas.

O gênero *Fusarium* demonstrou ter poucas espécies com incidência em cana-de-açúcar. Foram identificados isolados somente nos tratamentos com sulfato de amônio e nitrato de amônio, indicando que, possivelmente, esse tipo de fertilizante favoreça o desenvolvimento de microrganismos desse gênero em plantas de cana-de-açúcar.

Figura 7. Gráfico com os gêneros encontrados.



Dos gêneros de fungos identificados a testemunha teve uma representatividade referente ao total de 43,24%, já o tratamento com nitrato de amônio teve 29,72% enquanto os tratamentos com sulfato de amônio e nitrato de cálcio tiveram a mesma representatividade 13,52%. A testemunha teve um maior percentual de gêneros identificados, de indivíduos não identificados e 80% de todos os gêneros identificados. Contudo apenas o gênero *Fusarium* não apareceu na testemunha.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que, a diversidade de endofíticos associado à cana-de-açúcar presentes na testemunha quando comparados com os tratamentos com sulfato de amônio, nitrato de cálcio e nitrato de amônio não houve diferença significativa, levando em considerações apenas os gêneros identificados.

Já os resultados apresentados por Stuart (2006) em cana-de-açúcar são divergentes do presente estudo, mostra que plantas de cana-de-açúcar transgênicas afetam determinados grupos da população de endofíticos associadas a cultura, havendo diferença da população inicial para final.

Os gêneros *Nigrospora* e *Curvularia* registrados em todos os tratamentos sugerem que a transmissão dos fungos endofíticos já existentes em uma planta pode ocorrer de forma horizontal isto é, pelo ar. (STROBEL, 2003; Martins et al. (2008) estudando fungos associado a sementes (Cariopses) de cana-de-açúcar, também identificou grupos de *Nigrospora sp.* entre os isolados, porém a sua presença não era muito frequentes quando comparado a microrganismos de outros gêneros.

Os microrganismos do gênero *Nigrospora* e *Curvularia*, foram os que representaram maiores freqüências nos tratamentos realizados.

6. CONCLUSÕES

As diferentes fontes de nitrogênio não influenciam a composição e a diversidade de fungos endofíticos associados à cultura da cana-de-açúcar.

Os microrganismos do gênero *Nigrospora sp.*, são mais propensos a colonizar plantas de cana-de-açúcar, porém o seu número tende a diminuir em função da adubação nitrogenada.

Diferentemente do *Nigrospora sp.*, o gênero *Curvularia sp.*, não foi afetado pela adubação à base de nitrogênio, mantendo comportamento similar inclusive na testemunha.

Os resultados aqui apresentados demonstram que a comunidade de fungos endofíticos associados à cana-de-açúcar em razão das diferentes fontes de nitrogênio, não teve mudança significativa, sendo necessários estudos complementares.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Energia Elétrica, A.- **Biomassa**. disponível em http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/atlas_par2_cap4.pdf. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.

Agência Embrapa de Informação de Tecnológica, A. **Adubação Verde**. disponível em http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_36_711200516717.html. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.

AGRIC. **Produção de cana-de-açúcar**, disponível em https://www.agric.com.br/producoes/cultivo_da_cana.html. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020

Azevedo, J. L. **Microorganismos Endofíticos**. UFGO, Biologia Geral, Goiânia. pag.2,5,9, 13-16.

CONAB, C. N. (s.d.). **Produção de cana-de-açúcar**. disponível em <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2327-cana-de-acucar-tem-queda-de-3-6-e-fecha-safra-2017-18-em-633-26-milhoes-de-t>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.

CONAB, C. N. **Safra Brasileira de Cana-de-açúcar**. disponível em <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cana>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, E. **A fixação Biológica de Nitrogênio**. disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/207078/a-fixacao-biologica-de-nitrogenio-como-suporte-da-producao-sustentavel-da-cultura-de-cana-de-acucar-no-brasil>. Acesso em 12 de Fevereiro de 2020.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, E. (s.d.). **Jornal do Endofítico**. disponível em <http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/endofiticos/introducao.html>. Acesso em 12 de Fevereiro de 2020.

Jr, M. J., Chan, E., e Noel, R. K. **Microbiologia: conceitos e aplicações**, volume I, 2^o ed. São Paulo: MARKON Books Editora Ltda. pag.78-79,89-90, 153-154, 1996.

KORNDÖNFER, G. H., VALLE, M. R., MARTINS, M., e TRIVELIN, O. C.P. **Aproveitamento do Nitrogênio da uréia pela cana-planta**. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1996.

MARTINS, T. D.; MENTEN, J. O. M.; SANGUINO A. Fungos associados às sementes (Cariopses) de cana-de-açúcar: métodos para detecção, incidência e relação entre incidência fúngica e ambiente de produção das sementes. **Summa Phytopathologica**,v.35, n.3, p.173-178, 2009

NovaCana. **Uso da Vinhaça na cana-de-açúcar**.disponível em <https://www.novacana.com/cana/uso-vinhaca-cultura>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020

Oliveira, C. A.**Estimativas de Fixação Biológica de Nitrogênio em cana-de-açúcar $\delta^{15}N$** . **IAC- Dissertação** (Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical), Campinas. pag. 16, 2012

Oliveira, N. C. (2009). **SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS COM POTENCIALIDADES PARA A BIORREMEDIAÇÃO DE AMBIENTES CONTAMINADOS COM HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO E/OU DERIVADOS**. UFG- Dissertação (Mestrado), Goiânia. pag.14, 2009.

Parente, T. C.**Intensificação do uso de Agroquímicos no setro sucroenergético, destacando o transporte de atrazina e nutrientes por escoamento superficial**. UNICAMP, Campinas. Pag 15-16,41-43 2018.

PEDUZZI, P. **Produção de cana-de-açúcar no Brasil**. disponível em <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-04/conab-producao-de-cana-de-acucar-diminui-36>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.

PROCANA, B. **História da cana-de-açúcar**, disponível em <https://jornalcana.com.br/cana-de-acucar-saiba-tudo-sobre-producao-de-cana-de-acucar/>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020

SCHULTZ, N. **Fixação Biológica de Nitrogênio Associado a cultura da cana-de-açúcar: Eficiência e contribuição da Inoculação com Bactérias Diazotróficas.** UFRRJ, Rio de Janeiro, p. 20-25 2012.

Silva, M. d., Freire, F. J., Junior, M. A., Kuklinsky-Sobral, J., Costa, D. P., e Cadete, L. L. **ISOLAMENTO E PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E EPIFÍTICAS NA CANA-DE-AÇÚCAR EM ÁREAS COM E SEM CUPINICIDA.** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns.pag.3-4, 2012.

SINDAÇÚCAR, A. **Cana-de-açúcar em Alagoas**, disponível em <http://www.sindacucar-al.com.br/sindacucar/historico/>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020

Verde, P. **Importancia da cana-de-açúcar para o meio-ambiente.** disponível em <https://www.pensamentoverde.com.br/meio-ambiente/a-importancia-da-cana-de-acucar-para-o-meio-ambiente/>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2020.