

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE**

Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO
BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO PARA DIFERENTES GENÓTIPOS
DE SORGO**

BENAIA GONÇALVES DE FRANÇA BARROS

Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Co-orientadora: Dra. Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão

Recife, PE

Setembro, de 2015

BENAIA GONÇALVES DE FRANÇA BARROS

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO
BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO PARA DIFERENTES GENÓTIPOS
DE SORGO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

Co-orientador: Dra. Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão

Recife, PE

Setembro, 2015

Catálogo na fonte
Bibliotecário Carlos Moura, CRB-4 / 1502

B277p Barros, Benaia Gonçalves de França.
Produção de biomassa e contribuição da fixação biológica do nitrogênio para diferentes genótipos de sorgo. / Benaia Gonçalves de França Barros. - Recife: O Autor, 2015.
61 f. : il., tabs.

Orientadora: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas.
Coorientadora: Dra. Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2015.
Inclui referências bibliográficas.

I. Cultura energética. 2. *Sorghum bicolor* L. Moench. 3. Isótopos. I. Freitas, Ana Dolores Santiago de, orientadora. II. Mergulhão, Adália Cavalcanti do Espírito Santo, coorientadora. III. Título.

CDD 633 (21. ed.)

UFPE
BDEN/2015-27

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA E CONTRIBUIÇÃO DA
FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO PARA
DIFERENTES GENÓTIPOS DE SORGO**

Benaia Gonçalves De França Barros

APROVADA EM: 15/09/2015

ORIENTADORA: Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

CO-ORIENTADORA: Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão

COMISSÃO EXAMINADORA:

Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio–DEN/UFPE (titular interno ao PROTEN)

Dr. Dario Costa Primo, Universidade Federal Pernambuco – DEN/UFPE (titular externo ao PROTEN)

Dra. Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos – DEPA/UFRPE (titular externo ao PROTEN)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força que tem me dado até aqui, a Ele toda honra e glória.

Aos meus pais, pela ajuda, pois sempre de braços abertos me acolheram.

Ao meu filho, que sempre esteve ao meu lado, que com palavras e gestos amorosos me fortaleceu.

À minha avó, que sempre foi grande incentivadora e motivadora para a realização dos meus sonhos. Ao meu irmão pelo apoio.

À minha orientadora Ana Dolores Santiago de Freitas, que me orientou e me acompanhou com muita competência e compromisso do início até aqui.

Ao Dr. José Nildo Tabosa, pesquisador do IPA, que vem trabalhando com sorgo há mais de 30 anos, que muito contribuiu para a concretização desse trabalho, me ajudando no que foi necessário e a quem serei eternamente grata.

À minha co-orientadora Dra. Adália Cavalcanti do Espírito Santo Mergulhão, pesquisadora do IPA, por todo apoio.

À Dra. Maria do Carmo Catanho Pereira de Lyra (Cacau), pesquisadora do IPA, que sempre me apoiou no que foi necessário e a quem serei eternamente grata.

À Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

Ao Departamento de Energia Nuclear – DEN – UFPE, lugar onde tive o privilégio de fazer o Mestrado.

Ao Instituto Agrônomico de Pernambuco – IPA.

À FACEPE, pela concessão da bolsa.

Aos professores, pesquisadores e funcionários do Departamento de Energia Nuclear – DEN – UFPE.

Aos pesquisadores e funcionários do IPA.

Aos colegas do Departamento de Energia Nuclear, que estudaram e estiveram comigo e muitas vezes me ajudaram.

À amiga e professora de inglês, Aída Pinto, pelo apoio e incentivo.

À Dra. Maria Luiza Bastos, pela força e apoio.

Ao Sr. Ediwardo Mendes Pires Pereira, funcionário do IPA, pelo apoio.

RESUMO

O sorgo é o quinto cereal mais importante do mundo, cultivado para produção de grãos ou forragem ou como cultura energética. É uma gramínea que apresenta perspectivas quanto à capacidade de respostas positivas à interação com bactérias diazotróficas e/ou promotoras de crescimento. O objetivo deste trabalho foi estimar a produtividade e a fixação biológica de N (FBN) em diferentes genótipos de sorgo de duplo propósito (grão e forragem, incluindo colmo seco e sacarino) que estão em testes de recomendação para cultivo em Pernambuco. Foram conduzidos experimentos em campo em estações experimentais do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), nos municípios de Itambé, Goiana, Caruaru e Serra Talhada, e no campus do Instituto Federal de Pernambuco (IFPE), em Belo Jardim. Foi utilizado um delineamento experimental em blocos ao acaso, com 17 tratamentos (genótipos de sorgo) e três repetições. Parcelas extras foram cultivadas com o girassol para ser utilizado como espécie referência para estimativa da FBN pela técnica da abundância natural do ^{15}N . Em Caruaru, a produtividade de matéria seca foi menor quando comparada aos demais locais de cultivo, devido à baixa disponibilidade de água para as plantas, e variaram menos entre os genótipos. Nos cultivos na Zona da Mata (Goiana e Itambé) foi possível observar uma ampla faixa de variação de potencial de produção de biomassa, principalmente em Goiana, onde o genótipo mais produtivo produziu 4,5 vezes mais biomassa que o genótipo menos produtivo. Os genótipos T02, T07 e T13 sempre ficaram no grupo dos mais produtivos em todos os experimentos. Evidências de FBN pelo sorgo foram observadas em Caruaru e Goiana, mas sem relação entre os sinais de ^{15}N dos genótipos de sorgo e suas produções. A contribuição da FBN para os diferentes genótipos de sorgo variou entre 24 % e 78 % em Goiana. Em Caruaru, a contribuição máxima não chegou a 50 %. Não foi possível observar um comportamento consistente entre os genótipos com relação ao potencial de FBN.

Palavras chave: *Sorghum bicolor* L. Moench, isótopos, cultura energética.

ABSTRACT

Sorghum is the fifth most important cereal in the world and can be cultivated in order to produce grain or fodder and as an energy crop. It is a grass that has prospects regarding the ability of positive responses to interaction with diazotrophs bacterias. The objective of this study was to estimate productivity and biological Nitrogen fixation (BNF) in different genotypes of sorghum (grain and forage) recommended for cultivation in the state of Pernambuco. Field experiments were conducted at experimental stations of the Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), in Itambé, Goiana, Caruaru and Serra Talhada municipalities and in the campus of the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE), in Belo Jardim municipality. The experiments were performed in a block design, with three replications and 17 treatments. Extra plots were planted with sunflowers to be used as reference species in order to estimate the BNF by the $\delta^{15}\text{N}$ technique. In Caruaru the biomass productivity of sorghum was lower than in the other locals of cultivation due to the low water availability, and there was less variation among genotypes. In Goiana and Itambé a wide range of biomass production potential was observed. In Goiana, the most productive sorghum genotype, produced 4.5 times more biomass than the less productive. The genotypes T02, T07 and T13 were in the group of the most productive genotypes in all experiments. Evidences of atmospheric N_2 by sorghum were only observed in Caruaru and Goiana, but there was no relationship between the ^{15}N abundance of the sorghum genotypes and their respective biomass production. The contribution of BNF to the different genotypes ranged from 24% to 78% in Goiana. In Caruaru, the maximum contribution was less than 50%. There was no consistent behavior among genotypes in relation to the FBN potential.

Key words: *Sorghum bicolor* L. Moench, isotopes, energy crop.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mesorregiões (Zona da mata, Agreste e Sertão) e diferentes localidades onde foram cultivados os diferentes genótipos de sorgo (Goiana, Itambé, Caruaru e Serra Talhada).....	28
Figura 2.	Visão geral do experimento na Estação Experimental de Goiana.....	33
Figura 3.	Visão geral do experimento na Estação Experimental de Itambé.....	33
Figura 4.	Visão na geral do experimento Estação Experimental de Serra Talhada.....	34
Figura 5.	Visão geral da área preparada para instalação do experimento no Instituto Federal de Educação em Belo Jardim.....	34
Figura 6.	Nitrogênio derivado do solo e N fixado (kg ha^{-1}) na parte aérea de genótipos de sorgo cultivados em Goiana (A) e em Caruaru (B).....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características dos locais do experimentos.....	27
Tabela 2.	Descrição dos tratamentos utilizados nos experimentos.....	29
Tabela 3.	Análises químicas e físicas dos solos das estações experimentais do IPA (Itambé, Goiana, Caruaru e Serra Talhada) e do solo do Instituto Federal de Educação de Pernambuco (Belo Jardim).....	30
Tabela 4.	Tabela 4: Produção de biomassa seca da parte aérea (t ha ⁻¹) de variedades de sorgo cultivadas em diferentes locais do estado de Pernambuco.....	36
Tabela 5.	Percentagem N em genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.....	37
Tabela 6	Abundância natural do ¹⁵ N (δ ¹⁵ ‰) na parte aérea de espécies não fixadoras de nitrogênio utilizadas como plantas referência e de genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.....	39
Tabela 7.	Percentagem de nitrogênio derivado da atmosfera (%N _{dda}) em genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.....	40
Tabela 8.	N acumulado (kg ha ⁻¹) na parte aérea de genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.....	42

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	11
2.	Revisão de literatura.....	13
2.1	Histórico, importância e potencialidade do cultivo do sorgo.....	13
2.1.1	Características do sorgo.....	15
2.1.2	Tipos de sorgo.....	16
2.1.3	Exportação de nutrientes pelo cultivo do sorgo.....	18
2.2	A fixação biológica de nitrogênio (FBN).....	18
2.2.1	Importância da FBN para a agricultura e o meio ambiente.....	19
2.2.2	FBN em leguminosas.....	21
2.2.3	FBN em Gramíneas.....	22
2.2.4	FBN em sorgo.....	24
3.	Material e métodos.....	27
4.	Resultados e discussão.....	35
5.	Conclusão.....	44
6.	Referências.....	45

1. INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma cultura com potencial de produzir, simultaneamente, alimentos e bioenergia, contribuindo para aumentar a segurança alimentar e o acesso a fontes renováveis de energia (Redy et al., 2005). É o quinto cereal mais importante do mundo, superado apenas por trigo, arroz, milho e cevada. Em todo o mundo, estima-se que cerca de 400 milhões de pessoas dependam da produção de sorgo, principalmente na África e na Ásia, onde é utilizado como alimento e responsável por até 70 % da ingestão calórica diária (TABOSA et al. 1999; MUTISYA et al., 2009). Tem grande utilidade em regiões quentes e secas onde não são conseguidas boas produtividades de grãos e forragem com outros cereais, como o milho.

No Brasil, onde praticamente não há consumo de sorgo na alimentação humana, o cereal é cultivado, principalmente, visando à produção de grãos para ração e forragem para alimentação animal (TABOSA et al., 1993; DYKES et al., 2005), mas é crescente o interesse no sorgo para produção de combustíveis, sendo considerada uma das culturas mais eficientes na conversão de CO₂ atmosférico (CHIARAMONTI et al., 2004).

Por ser uma planta C4 típica de clima quente, de características xerófilas e alta eficiência de uso de água e radiação solar, o sorgo é uma opção alternativa e/ou estratégica para cultivo na região semiárida (Lira et al., 1986). A produtividade de grãos em Pernambuco (879 kg ha⁻¹) é bem menor que a média nacional (IBGE 2010), mas a grande diversidade genética, bem como a ampla faixa de adaptação agroecológica, propicia a oferta de variedades com potencial produtivo bem maior (TABOSA et al. 2002; REDDY et al 2007; TABOSA et al. 1999).

Independente da finalidade da produção, altas produtividades demandam grandes aportes de nutrientes aos sistemas de cultivo, sendo o nitrogênio o mais crítico para o crescimento da maioria das plantas em regiões semiáridas. Uma alternativa à fertilização nitrogenada é o aporte de N via processo de fixação biológica do N₂ atmosférico (FBN). A ocorrência de bactérias diazotróficas, principalmente dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia*, nos tecidos do sorgo já é conhecida há algum tempo (JAMES et al. 1997; BERGAMASCHI et al. 2007; LUNA et al. 2010). Entretanto, poucas informações são disponíveis sobre o potencial da espécie de se beneficiar da associação com essas bactérias. Ferreira Neto (2013)

observou que a proporção de N derivado da atmosfera (%N_{da}) ultrapassa de 90% no sorgo cultivado em mistura com leguminosas no sub-médio São Francisco, enquanto que Carvalho (2015) observou N_{da} em torno de 30 %.

Levando em consideração o potencial de produção de biomassa, a capacidade de FBN em sorgo significa um alto potencial de incremento de N aos sistemas de cultivo. Sabe-se que o genótipo da planta influencia a diversidade, a estrutura e a quantidade das populações de micro-organismos diazotróficos endofíticos (BERGAMASCHI et al., 2007) e rizosféricos (COELHO et al., 2012) no sorgo. Dessa forma, é interessante a procura por genótipos que tenham alto potencial de produzir biomassa simultaneamente com maior capacidade de se beneficiar da associação com bactérias diazotróficas.

O processo de colonização do sorgo por bactérias endofíticas ainda é pouco conhecido, mas os principais sítios de infecção aparentemente são os sítios de emergência das raízes laterais e os pelos radicais (LUNA et al., 2010). Este aspecto assume importância porque a principal via de multiplicação da cultura são as sementes, diferentemente da cana-de-açúcar, por exemplo, cuja propagação vegetativa assegura uma população de micro-organismos já estabelecida. É possível que os micro-organismos endofíticos que irão colonizar os tecidos do sorgo sejam nativos dos solos onde a gramínea é cultivada.

O objetivo deste trabalho foi estimar a produção de biomassa e a FBN em diferentes genótipos de sorgo de duplo propósito (grão e forragem, incluindo colmo seco e sacarino) que estão em testes de recomendação para cultivo em Pernambuco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico, importância e potencialidade do cultivo do sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) faz parte do grupo de lavouras dos cereais, grupo de grande importância alimentar constituído por plantas anuais (temporárias), da família *Poaceae* (gramíneas), cujos grãos são ricos em carboidratos, principalmente amido, e apresentam menor quantidade de proteínas e gorduras. Seus grãos são basicamente utilizados como alimento humano, ração animal e pela indústria (IBGE, 2010). O uso do sorgo na alimentação animal é justificado por apresentar características bromatológicas semelhantes às do milho, chegando a apresentar teores mais elevados de proteína bruta em algumas variedades (WHITE et al., 1991). O sorgo é uma planta C4 típica de clima quente, de características xerófilas e alta eficiência de uso de água e radiação solar (LIRA et al., 1986). De acordo com Santos et al. (1996), o sorgo adapta-se a vários ambientes, principalmente sob condições de deficiência hídrica, desfavoráveis à maioria de outros cereais. Quando comparado com o milho, o sorgo produz mais sob estresse hídrico (a raiz explora melhor o perfil do solo), murcha menos e é capaz de se recuperar de murchas prolongadas (MAGALHÃES et al., 2000). As folhas são cobertas com uma camada de cera, que protege contra a perda de água (UNDERSANDER, 2000).

O sorgo originou-se no quadrante Nordeste da África, provavelmente nas regiões da Etiópia e Sudão, onde se encontra atualmente a maior variabilidade de espécies silvestres e cultivadas. Foi domesticado há cerca de 6.000 anos através da seleção de espécies silvestres: *Sorghum arudinaceum* ou *Sorghum verticilliflorum* (BOREM et al., 2014).

As primeiras introduções nas Américas ocorreram no Caribe, trazidas por escravos africanos, e dessa região o sorgo atingiu o Sudoeste dos Estados Unidos, por volta da metade do século XIX. Numerosos materiais genéticos provenientes de várias partes do mundo foram introduzidos nos EUA pelo Departamento de Agricultura e outras agências e posteriormente foram selecionadas plantas mais adaptadas. com o advento da mecanização, na segunda década do século XX, novas seleções foram sendo feitas acrescentando mais valor aos materiais originais (BOREM et al., 2014).

A área total cultivada com sorgo granífero é de cerca de 37 milhões de ha e, deste total, Ásia e África participam com 82%. No entanto Estados Unidos e México juntos produzem 34% da produção mundial. Entre os maiores produtores de grãos de sorgo do mundo, a Índia detém a maior área plantada, com cerca de 11 milhões de ha. Mas os Estados Unidos lideram a produção mundial, com quase 14 milhões de toneladas numa área de pouco mais de 3 milhões de ha. A área de cultivo do sorgo granífero no mundo é de cerca de 40 a 45 milhões de hectares (FAO, 2010), oriundo da contribuição de 104 nações. Todavia, somente 17 países dentre esses países apresentam área de cultivo de sorgo granífero superior a 500 mil hectares, totalizando assim em 2010, uma área de cerca de 35.062.726 hectares (FAO, 2008;2010). Índia, Nigéria, Sudão, Níger, EUA, Burkina Faso, México, Etiópia, Mali, Austrália, Tanzânia, Chade, Brasil, Argentina, Camarões, China e Iêmen correspondem a 85% da área cultivada do planeta na América do Sul, Argentina é o maior produtor, seguido pelo Brasil, que está muito próximo de fazer parte do grupo dos dez (FAO, 2014).

Novas áreas de sorgo estão sendo abertas para cultivo no sul do Piauí, no oeste da Bahia e no norte de Tocantins. Apesar disso, entre os anos de 2000 e 2013, a área cultivada aumentou 61,8%, enquanto que a produção cresceu 136%. Estima-se que ainda haveria 10 milhões de hectares de áreas agrícolas com aptidão climática para expansão da cultura de sorgo granífero no Brasil.

Com a divulgação do "7º Levantamento de Avaliação da Safra de Grãos – 2013/14", pela Conab, em março/14, percebe-se que a área plantada de sorgo está em queda nas regiões Sul e Nordeste, mas com crescimento nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte. No Nordeste, espera-se que a produção cresça com recuperação da produtividade que sofreu queda nas duas últimas safras devido à seca na região. No Centro-Oeste, a produção aumenta um pouco, ao passo que a região Sul tem produção estável e o Sudeste com expectativa de queda de produção. O Estado de Goiás lidera a produção nacional com 977,8 mil toneladas, um crescimento de mais de 8% em relação à safra anterior, seguido por Minas Gerais (456,2 mil toneladas) e Mato Grosso (421,2 mil toneladas)

Como o Brasil apresenta grande diversidade em termos de condições climáticas, não se espera que o comportamento dos híbridos de sorgo seja equivalente em todas as regiões. O sorgo responde às mudanças ambientais, principalmente temperatura e comprimento do dia. Por ser originário de regiões quentes, é muito prejudicado por temperaturas baixas, que atrasam o ciclo da cultura. Na Região Sul, o sorgo é plantado

na primavera e colhido no outono. No Brasil Central, a semeadura é feita em sucessão às culturas de verão, principalmente a soja e, no Nordeste, ele é plantado na estação das chuvas. Uma característica comum a todas estas regiões de cultivo é o plantio de sequeiro (Teixeira, 2004). Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Sergipe, Ceará e Alagoas já possuem zoneamento agrícola do sorgo (KILL & MENEZES, 2005).

2.1.1 Características do sorgo

O sorgo é uma planta C4 típica de clima quente, de características xerófilas e alta eficiência de uso de água e radiação solar (LIRA et al., 1986). De acordo com Santos et al. (1996), o sorgo adapta-se a vários ambientes, principalmente sob condições de deficiência hídrica, desfavoráveis à maioria de outros cereais. Quando comparado com o milho, o sorgo produz mais sob estresse hídrico (a raiz explora melhor o perfil do solo), murcha menos e é capaz de se recuperar de murchas prolongadas (MAGALHÃES et al., 2000). As folhas são cobertas com uma camada de cera, que protege contra a perda de água (UNDERSANDER, 2000). Essa característica permite que a cultura seja apta para se desenvolver e se expandir em regiões de cultivo com distribuição irregular de chuvas e em sucessão a culturas de verão. Para produzir grãos, o sorgo requer cerca de 25 mm de chuva após o plantio, 250 mm durante o crescimento e 25 a 50 mm durante a maturidade (MAGALHÃES & DURÃES, 2003).

Para Tabosa et al. (1987), a eficiência de uso de água, para a cultura do sorgo, varia de 250 a 400g de água para produzir 1g de matéria seca. O autor comentou ainda que nesta cultura, a eficiência de uso de água é superior a grande maioria das gramíneas tropicais.

De acordo com Magalhães e Durães (2007), além de tolerar mais o déficit de água e o excesso de umidade no solo do que a maioria dos outros cereais, o sorgo também pode ser cultivado em uma ampla faixa de condições de solo. Devido à sua origem tropical e principalmente em função de um sistema radicular eficiente, o sorgo quando comparado ao milho, é mais tolerante a temperaturas altas e a falta d'água. Mesmo assim, o sorgo granífero cultivado com irrigação tem acréscimo da produtividade, com a redução no espaçamento. Contudo, o aumento da população de plantas em cultivos irrigados proporciona acréscimos na produtividade até um ponto máximo, decrescendo a partir deste (ALBUQUERQUE et al., 2010). Ao avaliar o arranjo de plantas do sorgo granífero em condição de sequeiro e sob duas lâminas de

irrigação, Baumhardt & Howell (2006) constataram que a população de plantas não influenciou a produtividade de grãos em condição de sequeiro e quando submetida a até 2,5 mm dia⁻¹. Já os menores espaçamentos aumentaram em 7% a produtividade de grãos.

Apesar da tolerância ao estresse hídrico, o desenvolvimento do sorgo é prejudicado quando a umidade no solo fica abaixo de 70-75 % da água disponível na profundidade efetiva do sistema radicular (PEITER; CARLESSO, 1996).

Avaliando 20 cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos estados de Pernambuco e Alagoas, Tabosa et al. (2002) concluíram que as variáveis produção de matéria seca e eficiência de uso de água, quando associadas entre si, mostraram-se adequadas para a seleção de materiais de sorgo forrageiro apenas para as condições de semiaridez. O sorgo produz grande quantidade de palhada com elevada relação C/N, o que é uma característica fundamental para a cobertura do solo em regiões quentes, em que a lenta decomposição é desejada.

Segundo Magalhães & Durães (2003), o sorgo apresenta três estágios de crescimento. O primeiro estágio (EC1) caracteriza a primeira fase de crescimento da cultura, que vai do plantio até a iniciação da panícula. Na fase seguinte (EC2), que compreende a iniciação da panícula até o florescimento, vários processos de crescimento, se afetados, poderão comprometer o rendimento. São eles: desenvolvimento da área foliar, sistema radicular, acumulação de matéria seca e o estabelecimento de um número potencial de sementes. Na fase de crescimento (EC3), que vai da floração à maturação fisiológica, os fatores considerados mais importantes são aqueles relacionados ao enchimento de grãos. De acordo com SANS (2003), a cultura tem um ciclo de 120 dias, com algumas variações entre cultivares, com as seguintes durações de cada fase fonológica: fase I (desenvolvimento inicial) - 25 dias; fase II (crescimento vegetativo) - 35 dias; fase III (florescimento e enchimento de grãos) - 40 dias; fase IV (maturação) - 20 dias.

2.1.2 Tipos de sorgo

Agronomicamente, os sorgos são classificados em quatro grupos: granífero; forrageiro para silagem e/ou sacarino; forrageiro para pastejo/corte verde/fenação/cobertura morta e vassoura. Segundo Tabosa et al. (2008), na região do semiárido de Pernambuco os tipos de sorgo graníferos e forrageiros são os de maior

importância. Para este autor, o sorgo granífero é um tipo de sorgo de porte baixo (altura da planta de até 170 cm) que produz, na extremidade superior, uma panícula (cacho), onde se localizam os grãos que é o principal produto deste tipo de sorgo. Após a colheita do grão, o resto da planta ainda se encontra verde, podendo ser usado como feno ou pastejo.

O sorgo forrageiro para silagem e/ou sacarino é um tipo de sorgo de porte alto, altura da planta superior a dois metros, caracterizado principalmente, por apresentar colmo doce e succulento como o da cana-de-açúcar. A panícula é aberta e produz poucos grãos. Toda cultivar de sorgo sacarino pode ser usado como sorgo forrageiro (TABOSA et al., 2008).

O sorgo forrageiro para pastejo/corte verde/fenação/cobertura morta, também denominado, sorgo Sudão, capim Sudão e sorgo Sudan, é caracterizado por apresentar ciclo precoce, é colhido a intervalos de 40 a 50 dias, tem porte médio e elevado valor nutritivo de forragem, tolerância a salinidade e aptidão para feno e pastejo.

O sorgo vassoura apresenta como característica principal a panícula na forma de vassoura. Não é plantado na região do semiárido de Pernambuco, mas tem importância na região Sul do Brasil e no interior de São Paulo. É usado na fabricação de vassoura e também como produto artesanal. Já o sorgo forrageiro é um tipo de sorgo de porte alto, com altura de planta superior a dois metros, muitas folhas, panículas abertas, com poucas sementes, elevada produção de forragem e adaptado ao Agreste e Sertão de Pernambuco e regiões similares. Sua aptidão é principalmente para silagem.

A cultura do sorgo no Brasil tem pequena expressão em relação as culturas do milho, da soja e de outros grãos. No entanto, movidos pela necessidade de redução de custo, criadores de aves, suínos e bovinos impulsionaram a demanda pelo grão e forragem de sorgo, de forma que, nos últimos 10 anos a área cultivada com sorgo se expandiu de forma extraordinária. A partir do início dos anos 90 a área cultivada de sorgo no Brasil deu um salto extraordinário, destacando-se a região Centro Oeste como principal produtora de sorgo granífero e o Rio Grande do Sul e Minas Gerais liderando a produção de sorgo forrageiro. Segundo APPS (2012) a área de cultivo do sorgo no Brasil é de 1.288.893 hectares, sendo que 26,3% destina-se a produção de forragens. Segundo Tabosa et al. (2013), registros de cultivo de sorgo granífero no semiárido brasileiro compreendendo áreas dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Bahia e norte de Minas Gerais, informam 102, 104, e 100 mil hectares plantados, referentes aos anos de 2008, 2009 e 2010. Este quantitativo representa

valores médios de 10 a 12 % de área cultivada de sorgo granífero no Brasil. No semiárido, as áreas produtoras localizam-se principalmente nas mesorregiões sertanejas na interface de transição do Agreste e similares. (FIGUEIREDO et al., 2013). Pelas peculiaridades climáticas e de estrutura fundiária baseada em pequenas propriedades rurais do semiárido, em torno de 70% com até 10 hectares (EVANGELISTA, 2000), predomina a agricultura de subsistência, que tem o milho como uma das suas principais culturas, mas o rendimento desta cultura é muito baixo. Nos registros da CONAB – Safra 2011/2012, as produtividades da região ficaram em torno de 1.700 a 1.900 kg ha⁻¹. O ponto mais importante é que a cultura do sorgo seja especialmente zoneada, ou seja, recomendada somente para os ambientes onde, provavelmente, não ocorra a frustração de safras. No que diz respeito ao sorgo forrageiro, também tem avançado em área plantada, principalmente onde a pecuária requer sustentabilidade (FIGUEIREDO et al., 2013).

2.1.3 Exportação de nutrientes pelo cultivo do sorgo

Comparativamente à colheita apenas dos grãos, a colheita das plantas inteiras para uso como forragem promove intensa remoção de nutrientes das áreas de cultivo, com destaque para a elevada exportação de nitrogênio e de potássio. Cantarella et al. (1996), estudando a extração de macronutrientes pela cultura do sorgo, concluíram que, para a produção de uma tonelada de grãos, são exportados 17 kg de N, 4 kg de P, 5 kg de K e 1,2 kg de S. Entretanto, para a planta inteira, observaram que, para cada tonelada de grãos, são exportados respectivamente 30, 6, 23 e 2,7 kg de N, P, K e S. Pitta et al. (2001), estudando a extração média de nutrientes pela cultura do sorgo em diferentes níveis de produtividade, verificaram que as extrações de N, P, K, Ca e Mg aumentam linearmente com o acréscimo na produtividade e que a maior exigência do sorgo refere-se ao N e ao K, seguindo-se Ca, Mg, P e S.

2.2 A fixação biológica de nitrogênio (FBN)

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é o processo pelo qual o N₂ atmosférico é reduzido a NH₄⁺ e assim fica disponível para ser transferido para compostos contendo carbono, para produzir aminoácidos e outras substâncias orgânicas que contêm nitrogênio (RAVEN et al., 2001). Este processo constitui a principal via de

incorporação de nitrogênio ao ecossistema, que constantemente é reciclado para a atmosfera principalmente pela ação de organismos desnitrificadores de matéria orgânica do solo. Dessa forma, a ação desses micro-organismos desnitrificadores garante um reservatório inesgotável de nitrogênio na atmosfera. Além de garantir um ecossistema em equilíbrio, a redução na aplicação de doses excessivas de compostos nitrogenados, como por exemplo, o nitrato, que contamina as águas e os vegetais consumidos pelo homem, possibilita o desenvolvimento de uma agricultura menos agressiva ao ambiente (MARIN et al., 1999).

A utilização de insumos biológicos em substituição aos insumos químicos industrializados tem sido cada vez mais frequente na agricultura. A FBN tem se mostrado indispensável para a sustentabilidade da agricultura brasileira, pela possibilidade de fornecimento de nitrogênio às culturas com baixo custo econômico e impacto ambiental reduzido (MELO & ZILLI, 2009). Com a exceção da água, o nitrogênio é geralmente considerado o nutriente mais limitante para o crescimento de plantas no seu ambiente natural (FRANCO & DÖBEREINER, 1994). Segundo Gonzales (2008), além do carbono e hidrogênio, o nitrogênio é o nutriente mais abundante na matéria viva, participando da composição de moléculas de ácidos nucleicos, proteínas e polissacarídeos entre outras.

O nitrogênio compõe 78% dos gases da atmosfera; no entanto, os organismos superiores não o absorvem diretamente na forma de N_2 , a exceção de um número limitado de bactérias e Archaea que evoluíram para converter o N_2 em nitrogênio reativo (GALLOWAY et al., 2004), através da enzima nitrogenase encontrada nestes micro-organismos. Os procariotos que conseguem converter ou reduzir enzimaticamente o nitrogênio da atmosfera em amônia, que pode ser incorporada para o crescimento e manutenção das células, são denominados diazotróficos (MARIN et al., 1999).

2.2.1 Importância da FBN para a agricultura e o meio ambiente

Segundo Faria e Franco (2002), a preocupação crescente da sociedade com a preservação e a conservação ambiental tem resultado na busca pelo setor produtivo de tecnologias para a implementação de sistemas de produção agrícola com enfoques ecológicos, rentáveis e socialmente justos. O enfoque agroecológico do empreendimento agrícola orienta-se para o uso responsável dos recursos naturais (solo,

água, fauna, flora, energia e minerais). Os ecossistemas naturais apresentam uma integração harmoniosa entre a cobertura vegetal e os atributos físicos, químicos e biológicos do solo, decorrente de processos essenciais de ciclagem de nutrientes, acumulação e decomposição da matéria orgânica, existindo uma interligação e uma interdependência das partes. As atividades agrícolas promovem alterações nesses atributos e provocam, na maioria das vezes, impacto ambiental negativo, provocando desequilíbrio. O grau de impacto está relacionado com o tipo de manejo do sistema produtivo. As práticas agrícolas convencionais são mais prejudiciais, enquanto as práticas mais ecológicas ou conservacionistas, como o sistema de plantio direto e uso de coberturas vegetais apropriadas para cada região, propiciam menor degradação do solo e maior sustentabilidade agrícola (KAISER et al., 1995).

São necessárias cerca de, 1,3 toneladas de combustível fóssil para fixar 1 tonelada de nitrogênio em alta pressão (35 a 100 Mpa) e temperatura (300 a 400°C). Com cerca de 77×10^6 toneladas de nitrogênio aplicados globalmente como fertilizante, o requerimento de combustível fóssil é cerca de 91×10^9 toneladas por ano, que correspondem a aproximadamente 1,4% de todo o combustível fóssil consumido no mundo. Além do alto consumo de combustível, existem outros problemas como a contaminação da água e dos alimentos por NO_3 e NO_2^- , a toxicidade das plantas pela presença de altos níveis de NO_2^- nos solos; alteração no desenvolvimento das plantas pelo excesso de N e a emissão de N_2O (óxido nitroso), contribuindo para o aquecimento global (BOHLOOL et al. 1992; DÖBEREINER, 1992; SPRENT & SPRENT, 1990).

O uso das bactérias diazotróficas endofíticas representa um grande potencial para reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos. O aumento do custo dos adubos nitrogenados e a preocupação cada vez maior, no exterior e no Brasil, com os possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser levados em consideração para o incentivo ao estudo do processo natural de FBN (CANTARELLA & DUARTE, 2004). Assim, todas as possibilidades de incremento da FBN na agricultura devem ser exploradas, não somente como alternativa econômica, mas também ecológica (CANUTO, 2003).

A gestão de nitrogênio é um dos recursos possíveis, sendo a FBN o único processo biológico de obtenção de N. Por essa razão, a FBN é uma das ações que compõem os compromissos voluntários do Brasil na COP-15, e que prevêem a redução das emissões de gases de efeito estufa (GEE) através do Programa ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono) (OTONNI et al., 2012) . No que se refere aos

compromissos do setor agrícola, foi estabelecido o “Plano Setorial para a Consolidação de uma Economia de Baixa Emissão de Carbono na Agricultura”, convencionada ao Programa ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono).

2.2.2 FBN em leguminosas

Segundo Franco e Faria (2002), a maioria das espécies de leguminosas é capaz de se associar simbioticamente com bactérias fixadoras de nitrogênio de vários gêneros, denominadas coletivamente de rizóbio. Em leguminosas, a FBN ocorre mediante a presença de nódulos, induzidos pela colonização das raízes pelas bactérias (HUNGRIA et al., 2000). O desenvolvimento dos nódulos é iniciado pela troca de sinais químicos moleculares entre a planta e o simbiote (HUNGRIA et al., 1994). Os nódulos e a planta hospedeira são perfeitamente interligados por meio de vasos xilemáticos e floemáticos e, portanto, totalmente integrados em termos hormonais e nutricionais. O processo de FBN também requer um suprimento contínuo de carboidratos que fornecem tanto a energia para a redução do nitrogênio, quanto os esqueletos de carbono necessários à assimilação da amônia produzida. Durante os processos de colonização e desenvolvimento dos nódulos, energia é necessária às divisões celulares e é obtida da oxidação dos carboidratos produzidos na parte aérea da planta hospedeira (SILVEIRA et al., 2001). A temperatura de 25°C é considerada ideal, enquanto temperaturas em torno de 15°C causam diminuição da atividade ou até inibição em várias bactérias fixadoras.

As leguminosas possuem o mecanismo simbiótico mais sofisticado e eficiente entre as associações de plantas superiores com bactérias fixadoras de N₂ e as leguminosas de grão e forrageiras têm papel importante na agricultura tropical. O sucesso da soja no Brasil deve-se a um programa de melhoramento direcionado à obtenção de cultivares com alta produção sem adubação nitrogenada e ao desenvolvimento em paralelo de inoculantes contendo rizóbios adaptados às condições e solos brasileiros. O avanço da soja para os cerrados deve-se, além da identificação e solução dos problemas de fertilidade, principalmente à obtenção de inoculantes novos capazes de competir com a microflora de um ecossistema perturbado após a conversão dos cerrados em terras de cultura.

Espécies da família Leguminosae que estabelecem simbiose eficiente com bactérias fixadoras de N₂ atmosférico apresentam uma vantagem adicional para plantios

de reabilitação de áreas degradadas, considerando-se que em condições tropicais o nitrogênio é, em geral, limitante para o estabelecimento das plantas (FRANCO et al., 1992; FRANCO et al., 1995; FRANCO & FARIA, 1997). Um número considerável de leguminosas conhecidas é capaz de formar nódulos com bactérias fixadoras de nitrogênio e tem potencial para uso em sistemas agroflorestais e para ajudar na manutenção da sustentabilidade dos solos (HERRERA et al., 1993; FRANCO & FARIA, 1997).

2.2.3 FBN em Gramíneas

A pesquisa sobre FBN em gramíneas no Brasil foi iniciada por Johanna Döbereiner quando ela se juntou à equipe de pesquisa do Centro Nacional de Educação e Pesquisa Agropecuária do Ministério da Agricultura, na década de 1950. Os primeiros estudos foram na ocorrência de *Azotobacter* em solos ácidos (DÖBEREINER 1953). Estes estudos ganharam visibilidade com a descoberta de duas novas bactérias fixadoras de nitrogênio associadas à rizosfera de algumas gramíneas: *Beijerinckia fluminensis* com cana-de-açúcar (DÖBEREINER & RUSCHEL 1958) e *Azotobacter paspali* com *Paspalum notatum* cv. Batatais (DÖBEREINER, 1966). A pesquisa sobre a colonização dos tecidos vegetais por bactérias diazotróficas tem recebido muita atenção e, conseqüentemente, alguns aspectos da interação planta-bactéria começaram a serem elucidados. Duas novas bactérias fixadoras de nitrogênio capazes de colonizar o interior dos tecidos vegetais foram encontradas: *Herbaspirillum seropedicae*, foi isolado de plantas de milho, sorgo e arroz (BALDANI et al., 1986) e *Gluconacetobacter diazotrophicus* foi isolada a partir da cana (CAVALCANTE & DÖBEREINER 1988). Essa interação íntima entre macro e micro simbioses modificou o conceito conhecido como associativo e DÖBEREINER (1992) introduziu o conceito endófito no campo da FBN. Deste ponto em diante, uma nova área foi criada no estudo da FBN, o que levou a grandes avanços na compreensão da fisiologia, ecologia e genética, bem como na interação da bactéria com a planta (BALDANI et al., 1997). Novas bactérias fixadoras de nitrogênio foram identificadas: *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BALDANI et al., 1996), *Herbaspirillum frisingense* (KIRCHHOF et al., 2001), *Azospirillum doebereineriae* (ECKERT et al., 2001), *Gluconacetobacter johanna* e *Gluconacetobacter azotocaptans* (FUENTES-RAMIREZ et al., 2001) e *Burkholderia tropica* (REIS et al., 2004).

Além de portadoras da capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico, muitos estudos também sugerem que há interferência das bactérias diazotróficas associativas no crescimento das plantas e na morfologia das raízes, por meio da biossíntese de hormônios vegetais (BASHAN & HOGUIN, 1997; ZAIED et al., 2003). Estudos têm demonstrado que micro-organismos rizosféricos são capazes de sintetizar reguladores de crescimento vegetal *in vitro* (ARSHAD & FRANKENBERGER, 1998). Sarwar & Kremer (1995) avaliaram 16 isolados da rizosfera de diferentes plantas e verificaram que os isolados associados à raiz das plantas eram mais eficientes na produção de auxinas do que os não associados às plantas. As auxinas estão entre as substâncias de crescimento vegetal produzidas por *Azospirillum* e outros gêneros, das quais o ácido indolacético (AIA) é a mais ativa e melhor caracterizada (CROZIER et al., 1988). O AIA é conhecido por produzir tanto respostas rápidas (aumento da alongação celular) como lentas (divisão e diferenciação celular) (DOBBELAERE et al., 2003). Dentre os gêneros bacterianos avaliados, o *Azospirillum* tem se destacado no grupo das bactérias promotoras de crescimento de plantas.

Os diazotróficos associativos podem ser divididos em dois grupos de acordo com a proposição de Baldani et al. (1997): endofíticos facultativos (podem colonizar tanto a rizosfera como o interior das raízes, colmos e folhas) e os endofíticos obrigatórios (colonizam o interior das raízes). Esses micro-organismos penetram na planta hospedeira pelas aberturas naturais e injúrias. Nas raízes, um dos sítios de entrada mais utilizados pelas bactérias endofíticas são as injúrias causadas pela emergência de raízes laterais (DUARTE et al., 2009).

As gramíneas apresentam um sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas em extrair água e nutrientes do solo. Além disso, as gramíneas são largamente utilizadas como alimento pelo homem. Por isso, mesmo que apenas uma parte do nitrogênio pudesse ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior àquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

2.2.4 FBN em sorgo

O sorgo é uma gramínea que apresenta ótimas perspectivas quanto à capacidade de respostas positivas à interação com bactérias diazotróficas, e/ou promotoras de crescimento (DÖBEREINER, 1997). Há uma estreita relação entre o sorgo e a bactéria, pois uma mesma bactéria pode ter diferentes graus de atividade da nitrogenase quando inoculada em diferentes genótipos de sorgo (BODDEY et al., 1991). Isso pode ser devido à composição química dos exsudatos liberados pelas plantas, que pode variar entre genótipos (KIPE-NOLT et al., 1985). As raízes secretam compostos que desempenham um importante papel de atraentes e de repelentes químicos na rizosfera não estando passivas ao meio (ESTABROOK; YODER, 1998; BAIS et al., 2006). Segundo GRAYSTON et al. (1998), a variedade destes compostos liberados influencia a diversidade de micro-organismos presentes na rizosfera. Assim sendo, a variação na diversidade de organismos isolados nas diferentes cultivares de sorgo pode ser explicada pela especificidade que ocorre entre planta e bactéria. Dentre as bactérias que já foram isoladas de sorgo destacam-se as bactérias do gênero *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia* (CHIARINI et al., 1998; BALDANI et al., 1986; BASHAN et al., 2004).

O gênero *Azospirillum* compreende sete espécies: *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. dobereineriae* e *A. lorgomobile*. As bactérias pertencentes a este gênero são endofíticas facultativas e colonizam tanto o interior, quanto a superfície das raízes de numerosas plantas hospedeiras, tais como milho, trigo, arroz sorgo, aveias (BASHAN et al., 2004). Algumas espécies de *Azospirillum* possuem mecanismos específicos de interação com as raízes das plantas hospedeiras e são aptas a colonizar o interior das mesmas, enquanto outras apenas colonizam a camada de mucilagem ou células do córtex das raízes que estão danificadas. As bactérias desse gênero são Gram negativas, possuem movimento em espiral, medem de 0,8 µm a 1 µm de diâmetro, 2 a 4 µm de comprimento e possuem grânulos intracelulares de poli-hidroxibutirato, são aeróbicas típicas, quando supridas com fonte de nitrogênio combinado e microaerófilas quando crescem em ambientes ricos em N₂, quando necessitam realizar a fixação biológica de nitrogênio.

O gênero *Herbaspirillum* foi isolado de cana-de-açúcar, arroz, milho, sorgo e outros cereais (KENNEDY et al., 2004). Ao contrário do gênero *Azospirillum*, que compreende bactérias endofíticas facultativas, bactérias do gênero *Herbaspirillum* são

endofíticas obrigatórias, o que faz com que apresentem uma distribuição ecológica mais restrita que as do gênero *Azospirillum*. Este gênero compreende oito espécies: *H. seropedicae* (BALDANI et al., 1986), *H. hubrisubalbicans* (BALDANI et al., 1996), *H. frisingence* (KHIRCHHOF et al., 2001), *H. luzitanum* (VALVERDE et al., 2003), *H. autotropicum*, *H. ruttiense*, *H. putei* (DING & YOKOTA, 2004) e *H. chlorophenolicum* (IM et al., 2004). Dentre estas espécies *H. frisingence*, *H. luzitanum* e *H. hubrisubalbicans* são as capazes de fixar N₂. As bactérias do gênero *Herbaspirillum* são Gram negativas, em formato de bastonetes com 0,6 a 0,7 µm de comprimento e 3 a 5 µm de espessura, móveis e fixadoras de nitrogênio em condições de microaerofilia.

Burkholderia ocorre naturalmente na rizosfera do sorgo (CHIARINI et al., 1997), do milho, em raízes, folhas e colmos do arroz (BALDANI 1996) ou saprofiticamente no solo (SANTHAYANON et al. 2002). Esta bactéria Gram negativa tem como principal fonte de carbono o manitol e apresenta crescimento ótimo em meio de cultura semissólido com pH de 4,5 a 5,0. Este gênero compreende 29 espécies, entre elas *B. vietnamiensis*, *B. kururiensis*, *B. tuberum* e *B. phynatum* são capazes de fixar N₂ (ESTRADA-DE-LOS-SANTOS et al., 2001).

Dependendo das condições ambientais, inclusive de solo, o gênero *Azospirillum* pode influenciar positivamente o crescimento da planta e este efeito pode ser atribuído a FBN e a produção de auxina. Através da inoculação com *Azospirillum* ocorre alteração morfológica na raiz, como o aumento das raízes laterais e dos pelos radiculares, fatores atribuídos a produção de auxinas pelas bactérias (STEENHOUDT & VANDEREYDEN, 2000).

Em um estudo desenvolvido no Texas (EUA), foi observado que plantas de *Sorghum halepense* crescidas em área com solo mais pobre em nitrogênio apresentavam maiores incrementos de biomassa, que plantas crescidas em solos com teores mais elevados de N, e após testes em casa de vegetação, vários isolados foram obtidos das raízes e folhas, das quais alguns apresentaram taxas positivas na atividade da nitrogenase, sugerindo assim que o *Sorghum halepense* (considerado invasora) é capaz de se beneficiar com a FBN (ROUT & CHRZANOWSKI, 2009).

Chiarini et al. (1998), estudando o efeito da co-inoculação em sorgo crescido em substrato esterilizado, com combinações de *Burkholderia cepacea* (estirpe PHP7) e *Pseudomonas fluorescens* (A23/T3c) ou *Enterobacter* sp. (BB23/T4d), observaram que as estirpes de forma isolada e em combinação foram aptas a colonizar as raízes, não

diferindo entre si no tamanho da população observada, com exceção das estirpes PHP7 e BB23/T4d, individualizadas e em combinação, em que a população da estirpe BB23/T4d foi inferior a estirpe PHP7. No entanto, verificaram que todas as combinações foram capazes de incrementar a biomassa fresca de folha e raiz, aos 60 dias significativamente em relação ao controle, independente do tamanho da população observada nas raízes, não sendo a co-inoculação mais efetiva que a inoculação simples.

Pereira et al. (1988), estudando a inoculação de estirpes dos gêneros *Herbaspirillum* e *Azospirillum* em sorgo granífero e sacarino, embora não tenha observado resultados positivos para sorgo com *Herbaspirillum seropedicae* estirpe H 25, observaram que a inoculação com *Azospirillum lipoferum* estirpe S 82, em sorgo granífero, aumentou significativamente o peso seco da planta, peso seco de panícula e N total aos 90 dias em condições de campo em 37, 54 e 66 %, em relação ao controle respectivamente, porém não quantificaram a produtividade de grãos devido a danos causados por pássaros.

Não existem artigos científicos comprovando a FBN em sorgo através de técnicas isotópicas. Entretanto, Ferreira Neto (2013), utilizando coquetéis vegetais compostos por misturas de gramíneas e leguminosas para utilização como adubação-verde, observou que os maiores valores de N derivado da atmosfera (%N_{dda}) foram encontrados no sorgo, chegando a mais de 92%, enquanto que entre as leguminosas, a maior proporção de FBN foi encontrada no feijão-macassar (50,6%). Carvalho (2015) confirmou que parte do N presente na biomassa do sorgo foi derivado da atmosfera, mas encontrou contribuições médias da FBN em torno de 30 %.

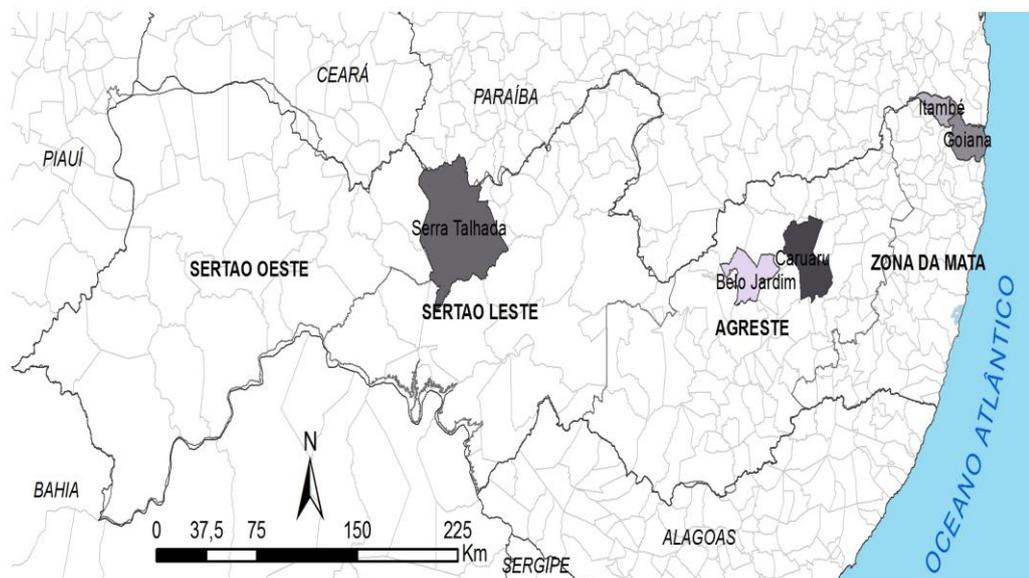
3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos cinco experimentos em campo, sendo quatro em estações experimentais do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizadas nos municípios de Goiana, Itambé, Caruaru e Serra Talhada, e um em campus do Instituto Federal de Pernambuco (IFPE), localizado no município de Belo Jardim. Os locais dos experimentos (Figura 1) foram definidos de modo a cobrir grande diversidade de condições edafoclimáticas, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Características dos locais dos experimentos.

Municípios	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
Mesorregiões	Zona da Mata	Zona da Mata	Agreste	Agreste	Sertão
Latitude	07° 26' 49" S	07° 34' 19" S	08° 16' 53" S	08° 20' 09" S	07° 59' 7" 'S
Longitude	35° 14' 27" WGr	35° 00' 07" WGr	35° 58' 25" WGr	36° 25' 28" WGr	38° 17' 34" WGr
Altitude (m)	99	110	561	616	443
Precipitação Média anual (mm)	1300	1238	485	554	680
Temperatura média anual °C	24,2	24,6	21,7	22,1	25,2

Figura 1: Municípios (Goiana, Itambé, Caruaru, Serra Talhada e Belo Jardim) onde foram cultivados os diferentes genótipos de sorgo.



Fonte: Adaptado de BARROS, (2015)

Nos experimentos foram avaliados diferentes genótipos de sorgo de duplo propósito (para produção de grãos e forragem, incluindo colmo seco e sacarino) totalizando 17 genótipos, que estão sendo estudados no âmbito do Projeto “Desenvolvimento, Caracterização, Avaliação, Preservação e Recomendação de Germoplasmas de Sorgo para Diferentes Regiões de Pernambuco”, desenvolvido pelo IPA e Embrapa. Foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições, seguindo o esquema experimental adotado pela Equipe Técnica do Programa de Cereais, Feijões, Raízes e Tubérculos do IPA. Ao todo, foram estudados 17 genótipos de sorgo, incluindo variedades e novas progênies (Tabela 2).

Tabela 2: Descrição dos tratamentos utilizados nos experimentos

Tratamento	Genótipo	Tipo de colmo	Ciclo	Progênie ou variedade
T01	1011 - PEDÚNCULO LONGO	Seco	médio	variedade*
T02	IPA 8602600	Seco	médio	variedade
T03	IPA 8602589	Seco	médio	variedade
T04	IPA 8602571	Seco	precoce	variedade
T05	SF 11	Seco	tardio	variedade
T06	IPA 467-4-2	sacarino	tardio	variedade*
T07	BR 506	Sacarino	precoce	variedade*
T08	T 07 – Ca92 04- Ca2000 – b- Ca2001 – b	Sacarino	tardio	progênie
T09	T17 – 389-5-1 x 1158	Sacarino	tardio	progênie
T10	IPA 2502	Sacarino	médio	variedade
T11	THEIS x 2502	Sacarino	precoce	progênie
T12	BR 506 x 2502	Sacarino	precoce	progênie
T13	T17 EPSF x 2502	sacarino	médio	progênie
T14	T17 EPSF x 2502 BRANCA	Sacarino	médio	progênie
T15	2502 x 1158	Sacarino	médio	progênie
T16	1158 x 2502	Sacarino	médio	progênie
T17	2502 x 467-4-2	Sacarino	médio	progênie

* variedades comerciais

Antes da instalação dos experimentos, cinco amostras de solo compostas de 10 amostras simples de solo foram coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade de cada local. As amostras foram realizadas nos Laboratórios de Física do Solo e de Fertilidade do Solo do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA, seguindo os protocolos da EMBRAPA (1997, 1999): análise granulométrica (método da pipeta); densidades do solo - D_s (método do anel volumétrico de Kopec); pH (em água); Al^{3+} extraído com $KCl\ 1\ mol\ L^{-1}$ e quantificado por titulometria com solução de $NaOH\ 0,025\ mol\ L^{-1}$; P, K e Na extraídos por Mehlich-1 e quantificados, respectivamente, por colorimetria e fotometria de chama, e Ca^{2+} e Mg^{2+} , extraídos com $KCl\ 1\ mol\ L^{-1}$ e quantificados por titulometria. Os tipos de solos de cada local e os resultados das análises são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Análises químicas e físicas dos solos das estações experimentais do IPA (Itambé, Goiana, Caruaru e Serra Talhada) e do solo do Instituto Federal de Educação de Pernambuco (Belo Jardim).

Características	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
Tipo de solo	Argissolo Vermelho Amarelo ¹	Latossolo Vermelho Amarelo ¹	Argissolo ¹ Amarelo	Podzólico-Vermelho Amarelo	Luvissolo ¹
pH (H ₂ O)	5,0	6,91	4.60	5,60	6,0
P (mg/dm ³)	9,33	41	111	80	80
Ca ²⁺ (cmol _c /dm ³)	4,05	2,08	1.00	2,90	3,20
Mg ²⁺ (cmol _c /dm ³)	0,97	0,82	0.70	1,35	1,20
Na ⁺ (cmol _c /dm ³)	0,03	0,02	0.05	0,19	0,07
K ⁺ (cmol _c /dm ³)	0,27	0,05	0.44	0,41	0,07
Al ³⁺ (cmol _c /dm ³)	0,27	0,00	0.50	0,05	0,47
H ⁺ (cmol _c /dm ³)	5,78	0,25	3.21	2,09	0,00
Ds (g/cm ³)	1,37	1,44	1.71	1,61	1,35
Areia fina (%)	23	3	24	24	35
Areia grossa (%)	4	57	53	52	40
Silte (%)	16	2	9	15	16
Argila (%)	15	10	14	9	9
Classe textural	Franco Arenoso	Areia Franca	Franco Arenoso	Franco Arenoso	Franco Arenoso

¹Tabosa et al. (2010)

As parcelas experimentais tiveram área de 19,2 m², sendo compostas por quatro fileiras, espaçadas em 0,8 m e com 6 m de comprimento. A área útil da parcela foi de 8,00 m², correspondendo às duas fileiras centrais de cada parcela, desprezando-se 0,5 m em cada extremidade das fileiras. Nos experimentos realizados em Goiana, Itambé e Serra Talhada, (figuras 2, 3 e 4) foram instaladas parcelas extras nas extremidades de cada bloco, nas quais foi plantado girassol (*Helianthus annuus* L) para ser utilizado como espécie referência para estimativa da FBN no sorgo. Em Belo Jardim (Figura 5) e Caruaru, não foi possível o plantio do girassol e diferentes espécies de plantas espontâneas foram coletadas para serem utilizadas com referência. Antes do plantio, foram aplicados de 700 a 1500 kg/ha de calcário dolomítico, em função da recomendação das análises laboratoriais. Nos experimentos realizados nas estações do IPA, a adubação foi feita conforme análise do solo, utilizando de 300 kg a 550 kg por hectare de uma mistura NPK. Em doses de N, P₂O₅ e K₂O, as quantidades aplicadas variaram entre 25 e 45 kg ha⁻¹, 25 e 45 kg ha⁻¹ e 36 e 66 kg ha⁻¹, respectivamente, cada local (Itambé, Goiana, Caruaru e Serra Talhada) foi aplicada uma mistura de fertilizante diferente, em função das necessidades de cada ambiente considerando a cultura do

sorgo. Na ocasião do plantio foi colocado todo fósforo, todo potássio e 1/3 do nitrogênio. A adubação de cobertura foi realizada aos 35-40 dias após o plantio, sendo aplicados os 2/3 restantes do nitrogênio. No experimento realizado no campus do IFPE, o preparo do solo consistiu em aração e gradagem e não foi realizada adubação. Em Caruaru, Itambé e Goiana, os experimentos foram conduzidos em sequeiro e a precipitação durante o cultivo do sorgo em cada município foi de 214,8 mm, 656,1 mm e 876,6 mm respectivamente. Os experimentos conduzidos em Belo Jardim e Serra Talhada foram irrigados.

O sorgo foi plantado em fileiras contínuas, em sulcos com profundidade de 5 cm, com distribuição das sementes em toda a extensão do sulco. Após a semeadura, foi colocado solo sobre as sementes, formando uma camada de 2 a 3 cm. A aplicação do fertilizante foi feita em um sulco aberto a uma distância de 5 cm ao lado do sulco de plantio. Quando as plantas alcançaram 10 cm de altura, foi realizado desbaste deixando-se 12 plantas por metro linear de sulco.

Ao fim do ciclo da cultura a produção total de matéria verde foi estimada cortando as plantas rente ao solo e pesando-se toda a biomassa aérea de todas as plantas da área útil da parcela. Desta massa, foram coletadas amostras de 500 g de matéria verde para determinação do teor de umidade e estimativa da produção de biomassa seca. Amostras compostas de uma folha verde e sadia de cinco plantas de sorgo escolhidas aleatoriamente nas linhas externas das parcelas (fora da área útil utilizada para estimativa da produção de biomassa) foram coletadas para estimativa da FBN utilizando a técnica da abundância natural do ^{15}N . Em Goiana e Itambé, também foram coletadas amostras compostas de folhas verdes e sadias de cinco plantas de girassol, selecionadas aleatoriamente dentro de cada parcela extra de cada um dos blocos. Em Belo Jardim e em Caruaru, foram coletadas amostras compostas de espécies espontâneas (mela bode e capim sempre verde, em Belo Jardim, e mela bode e outras 4 espécies ainda não identificadas em Caruaru) dentro de cada bloco. As amostras de folhas (sorgo e plantas referência) foram moídas e enviadas para determinação do N total (%) e da sua composição isotópica (abundância natural). A concentração de N total foi determinada pelo método de Kjeldahl (Embrapa 1999), depois de digeridas com solução digestora composta de ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio (Thomas et al., 1967). A abundância natural do ^{15}N foi determinada em espectrômetro de massas modelo Delta V. Advantage, no Centro de Isótopos Estáveis (CIE), do Instituto de Biociências (IBB) da UNESP, em Botucatu, SP e expressa em unidades de “delta” ($\delta^{15}\text{N}$), que representa o

desvio por mil (‰), em relação ao N₂ atmosférico, da razão entre as massas de ¹⁵N e ¹⁴N do nitrogênio contido na amostra:

$$\delta = (R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}} - 1) \times 1000$$

Onde R_{amostra} e R_{padrão} são as razões ¹⁵N:¹⁴N da amostra e do padrão (N₂ atmosférico), respectivamente.

O percentual de nitrogênio da planta derivado do ar (%N_{dda}) foi calculado utilizando a fórmula descrita por Shearer e Kohl (1986):

$$\%N_{\text{dda}} = [(\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})} - \delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}) / \delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}] \times 100$$

Onde $\delta^{15}\text{N}_{(\text{referência})}$ é o valor médio dos $\delta^{15}\text{N}$ das plantas referência em cada tratamento (girassol, para as plantas cultivadas em Goiana e Itambé, ou plantas espontâneas, para as plantas cultivadas em Caruaru e Belo Jardim), $\delta^{15}\text{N}_{(\text{fixadora})}$ é o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ das plantas de sorgo em cada parcela.

A quantidade de N acumulado na parte aérea dos diferentes genótipos de sorgo, em cada local de cultivo, foi estimada pelo produto das concentrações de N das biomassas secas da parte aérea.

Para comparar a produção de biomassa, os teores de N total e as quantidades de N acumulado e fixado na parte aérea do sorgo, em cada local, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para comparar as abundâncias naturais de ¹⁵N no tecido foliar do sorgo, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias de cada genótipo de sorgo foram comparadas com a média das plantas referência, utilizando o teste T.

Figura 2: Visão geral do experimento na Estação Experimental de Goiana



Fonte: BARROS, 2015

Figura 3: Visão geral do experimento na Estação Experimental de Itambé.



Fonte: BARROS, 2015

Figura 4: Visão na geral do experimento Estação Experimental de Serra Talhada.



Fonte: BARROS, 2015

Figura 5: Visão geral da área preparada para instalação do experimento no Instituto Federal de Educação em Belo Jardim.



Fonte: BARROS, 2015

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi possível determinar a produção de biomassa do sorgo no experimento de Belo Jardim, pois a germinação das sementes foi muito desigual e o plantio apresentou muitas falhas. Não foram feitas comparações estatísticas das produções de biomassa de cada genótipo entre os diferentes locais, devido às diferenças nas condições de cultivo (irrigação ou sequeiro). Entretanto, foi possível observar que as produções em Caruaru foram menores, devido à baixa disponibilidade de água para as plantas, e variaram menos entre os genótipos. Nos cultivos na Zona-da-Mata, as plantas cresceram em condições hídricas bastante favoráveis e foi possível observar uma ampla faixa de variação de potencial de produção de biomassa, principalmente em Goiana. Em Itambé o genótipo mais produtivo (T01) produziu 2,5 vezes mais biomassa que o genótipo menos produtivo (T05) e em Goiana essa diferença ultrapassou 4,5 vezes. Os genótipos, T02, T07 e T13 sempre ficaram no grupo dos mais produtivos em todos os experimentos (Tabela 4).

No cultivo em Goiana, ocorreu o genótipo T2 teve a maior biomassa da parte aérea, mas sem diferença significativa dos genótipos T1, T7, T09, T13 e T14, também não houve diferença significativa dos genótipos T3, T4, T5 e T6, dos genótipos T8, T9, T10, T11, T12, T13 e T14 e dos genótipos T15, T16 e T17. Os genótipos T6, T11 e T12, tiveram os menores valores médios de biomassas sem diferença significativa entre eles.

Em Caruaru, os genótipos T2 e T14 produziram mais, mas só diferiram estatisticamente dos genótipos T1 e T4. Em Serra Talhada, o genótipo T2 apresentou a produção de biomassa (Tabela 4), que foi significativamente maior que as dos demais genótipos. Em Itambé, os genótipos T1, T7, e T16, tiveram maiores produção de biomassa, porém não se diferenciaram dos tratamentos T2, T09, T12, T13 e T17 (Tabela 4). A menor produção de biomassa foi no genótipo T5, mais uma vez sem diferença estatística de vários genótipos.

Tabela 4: Produção de biomassa seca da parte aérea ($t\ ha^{-1}$) de variedades de sorgo cultivadas em diferentes locais do estado de Pernambuco

Genótipo				
	Itambé	Goiana	Caruaru	Serra Talhada
T01	18,2 a	13,4 ab	1,8 b	12,0 ab
T02	17,4 ab	14,5 a	6,4 a	22,1 a
T03	9,3 de	7,2 cde	3,1 ab	9,0 b
T04	8,4 de	4,6 de	1,4 b	8,4 b
T05	6,9 e	5,3 de	3,2 ab	8,4 b
T06	8,9 de	3,1 e	2,6 ab	4,0 b
T07	18,4 a	12 abc	5,5 ab	-
T08	10,9 bcd	7,9 bcde	3,5 ab	-
T09	13,5 abcd	8,7 abcde	2,3 ab	8,5 b
T10	7,7 de	7,6 bcde	2,9 ab	6,5 b
T11	8,0 de	4,9 de	2,7 ab	5,4 b
T12	13,8 abcd	5,7 de	3,9 ab	8,9 b
T13	16,5 abc	8,3 abcde	5,4 ab	10,7 ab
T14	8,8 de	9,4 abcd	6,3 a	10,0 b
T15	8,3 de	6,8 cde	3,8 ab	13,3 ab
T16	18,4 a	6,4 cde	3,5 ab	12,8 ab
T17	14,2 abcd	8,3 bcde	3,8 ab	71 b
CV (%)	18,8	25,3	37,8	28,9

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As concentrações de N nos tecidos do sorgo variaram entre 1,27 % e 3,19 % (Tabela 5).

Tabela 5: Percentagem N em genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco

Variedade	Locais de cultivo				
	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
T01	1,85	2,37	1,27	1,84	1,21
T02	1,86	2,34	1,58	2,02	1,23
T03	2,33	2,30	1,31	2,06	1,40
T04	2,17	2,75	1,55	2,14	1,47
T05	2,12	2,73	1,80	2,01	1,40
T06	2,69	2,99	1,59	1,47	1,89
T07	1,99	2,44	1,63	1,44	1,66
T08	2,43	2,79	2,05	2,19	1,37
T09	2,32	2,26	2,26	-	1,33
T10	2,30	2,52	2,52	2,39	1,67
T11	2,37	2,67	2,67	2,16	1,50
T12	2,35	2,39	2,39	2,17	1,50
T13	2,52	2,54	2,54	1,92	1,45
T14	1,96	2,40	2,40	2,19	1,44
T15	2,46	2,45	2,45	1,94	1,39
T16	1,90	2,88	2,88	2,10	1,42
T17	2,28	2,40	1,63	1,51	1,65

As plantas utilizadas como referência nos experimentos conduzidos nos município do Agreste (Belo Jardim e Caruaru) apresentaram sinais isotópicos mais altos que as plantas referência dos experimentos realizados na Zona da Mata (Itambé e Goiana) e no Sertão (Serra Talhada) (Tabela 5). Esse padrão, também observado por Freitas et al. (2015) para plantas arbóreas, é atribuído a maior predominância de processos de perda de N em solos de regiões com maior precipitação média anual, e é uma condição mais propícia à observação de diferenças de sinais isotópicos entre plantas fixadoras e não-fixadoras. Mesmo assim, evidências de fixação de N₂ atmosférico pelo sorgo só foram observadas em Caruaru e Goiana, sugerindo a ocorrência de fatores ambientais controlando a FBN. Em Caruaru todos os genótipos se apresentaram empobrecidos em relação às plantas espontâneas. Já em Goiana, foi possível observar grandes diferenças entre os sinais de alguns dos genótipos utilizados e

os do girassol, chegando essa diferença a ultrapassar 4,5 ‰, superior à diferença mínima recomendada para estimativas seguras da FBN (Högberg 1997).

Em Caruaru e Goiana o sorgo apresentou sinal isotópico típico de planta fixadora (Tabela 6), mas não houve relação entre os sinais de ^{15}N dos sorgos e suas respectivas produções de biomassa.

Tabela 6: Abundância natural do $^{15}\text{N}(\delta^{15}\text{‰})$ na parte aérea de espécies não fixadoras de nitrogênio utilizadas como plantas referência e de genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.

Genótipo	Locais de cultivo				
	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
Referências ¹	7,32 B ²	5,81 B	9,95 A	9,22 A	6,18 B
T01	9,10 ns ³	1,93*	5,99 *	9,92 ns	5,76ns
T02	9,40ns	1,28*	5,06 *	10,59 ns	5,01ns
T03	8,66ns	2,27*	5,70 *	9,79 ns	4,60ns
T04	8,49ns	2,52*	7,10 *	10,26 ns	5,85ns
T05	7,83ns	2,49*	6,41 *	10,01 ns	5,54ns
T06	7,85ns	1,81*	5,19 *	9,86 ns	5,80ns
T08	9,13ns	3,52 ns	6,15 *	9,97 ns	5,87ns
T09	7,9ns	3,45*	7,17 *	9,47 ns	5,46ns
T10	7,82ns	4,39 ns	5,18 *	10,04 ns	5,55ns
T12	8,36ns	2,24 *	5,28 *	9,09 ns	4,73ns
T13	8,54ns	2,26 *	5,04 *	8,53 ns	5,93ns
T14	7,76ns	2,95 *	4,38 *	9,78 ns	5,77ns
T15	9,13ns	2,52 *	5,49 *	9,52 ns	5,26ns
T16	8,60ns	2,26 *	5,74 *	10,02 ns	4,95ns
T17	7,40 ns	2,25 *	5,91 *	9,04 ns	4,72ns
T18	9,97 ns	1,76 *	7,48 *	9,19 ns	6,22ns
T20	8,45 ns	2,65 *	5,60 *	8,45 ns	5,13ns

¹ Girassol para Itambé, Goiana e Serra Talhada, e herbáceas espontâneas para Caruaru (mela bode, *Herissantiatubae* (K. Shum.) Briz., e 3 espécies herbáceas não identificadas) e Belo Jardim (mela bode e capim sempre verde).

²Médias seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey no nível de 0,05 de probabilidade.

³Médias significativamente diferentes (*) ou não (ns) das médias das plantas referência, no nível de 0,05 de probabilidade (Teste T).

A contribuição da FBN para os diferentes genótipos de sorgo variou entre 24 % e 78 % em Goiana (Tabela 7). Em Caruaru, a contribuição máxima não chegou a 55 %. Não foi possível observar um comportamento consistente entre os genótipos com relação ao potencial de FBN (Figura 7).

Tabela 7: Percentagem de nitrogênio derivado da atmosfera (%N_{dda}) em genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco.

Variedade	Locais de cultivo				
	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
T01	0	67,04 A	39,82 AB	0	0
T02	0	78,12 A	49,15 AB	0	0
T03	0	61,35 AB	42,71 AB	0	0
T04	0	57,14 AB	28,67 AB	0	0
T05	0	57,58 AB	35,54 AB	0	0
T06	0	69,1 A	47,84 AB	0	0
T07	0	39,98 AB	38,18 AB	0	0
T08	0	41,19 AB	27,90 AB	0	0
T09	0	25,16 B	47,91 AB	0	0
T10	0	61,84 AB	46,89 AB	0	0
T11	0	61,41 AB	49,34 AB	0	0
T12	0	52,77 AB	55,98 A	0	0
T13	0	57,03 AB	44,83 AB	0	0
T14	0	61,44 AB	42,31 AB	0	0
T15	0	59,79 AB	40,56 AB	0	0
T16	0	69,93 A	24,85 B	0	0
T17	0	54,91 AB	43,71 AB	0	0

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey no nível de 0,05 de probabilidade.

Em gramíneas, baixos sinais de $\delta^{15}\text{N}$, evidenciando fixação biológica de N (FBN), foram relatadas recentemente para cana-de-açúcar (URQUIAGA et al., 2012), milho (MONTAÑEZ et al., 2009) e capim elefante (MORAIS et al., 2012), entre outras, mas não para o sorgo. De maneira conflitante com os resultados encontrados neste trabalho, o sorgo geralmente apresenta sinais isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ maiores que os de leguminosas cultivadas em consórcio, demonstrando dependência exclusiva do N do

solo e, por isso, até é utilizado como planta referência para estimativa da FBN nas leguminosas (NCUBE et al 2007; RESENDE et al. 2001).

Sabe-se que bactérias fixadoras de N_2 podem associar-se ao sorgo, principalmente dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter* e *Burkholderia* (JAMES et al. 1997; BERGAMASCHI et al. 2007; LUNA et al. 2010; COELHO et al. 2009), sugerindo que a planta é capaz de se beneficiar com a FBN. Até recentemente não existiam na literatura relatos de evidência isotópica de FBN para o sorgo. Por esse motivo não estava esclarecido se os micro-organismos diazotróficos associados ao sorgo estimulam o crescimento da planta pelo aumento da disponibilidade de N via FBN ou se é pela produção de ácido indol-3-acético e outras substâncias promotoras de crescimento que, comprovadamente, provocam alterações morfológicas na raiz (como o aumento das raízes laterais e dos pelos radiculares), aumentando a absorção de nutrientes (STEENHOUDT AND VANDEREYDEN 2000).

O primeiro relato de ocorrência de FBN em sorgo através de técnicas isotópicas foi o de Ferreira Neto (2013), em cultivos consorciados com leguminosas no sub-médio São Francisco, que encontraram que uma variedade de sorgo foi capaz de absorver altas proporções de N atmosférico (%N_{dda} > 90%). Em experimento em vaso com diversas gramíneas tropicais, Carvalho (2015), observou que o sorgo cv IPA-1011 foi a gramínea que mais se beneficiou da absorção de N_2 atmosférico, chegando a apresentar um N_{dda} = 31 %, maior que o dobro da observada na variedade de cana-de-açúcar RB863129. Já a variedade SF11 apresentou um desempenho inferior com relação à capacidade de FBN, com N_{dda} de 25 %. Os resultados encontrados nesse trabalho ampliam e fortalecem as observações de Ferreira Neto (2013) e Carvalho (2015), pela utilização de um grande número de genótipos em experimentos em campo em diferentes condições edafoclimáticas.

Foram encontradas quantidades elevadas de N na biomassa aérea do sorgo, que foram maiores nos genótipos e locais em que as produções de biomassa foram maiores (Tabela 8). Nos genótipos T1, T2, T3, T6, T7, T8, T09, T10, T13, T14, T15, T16 e T17 o N fixado em Itambé superou os 200 kg ha⁻¹, Em Goiana os genótipos T1 e T2, T7, T8, T13, T14 e T17 também superaram 200 kg há⁻¹.

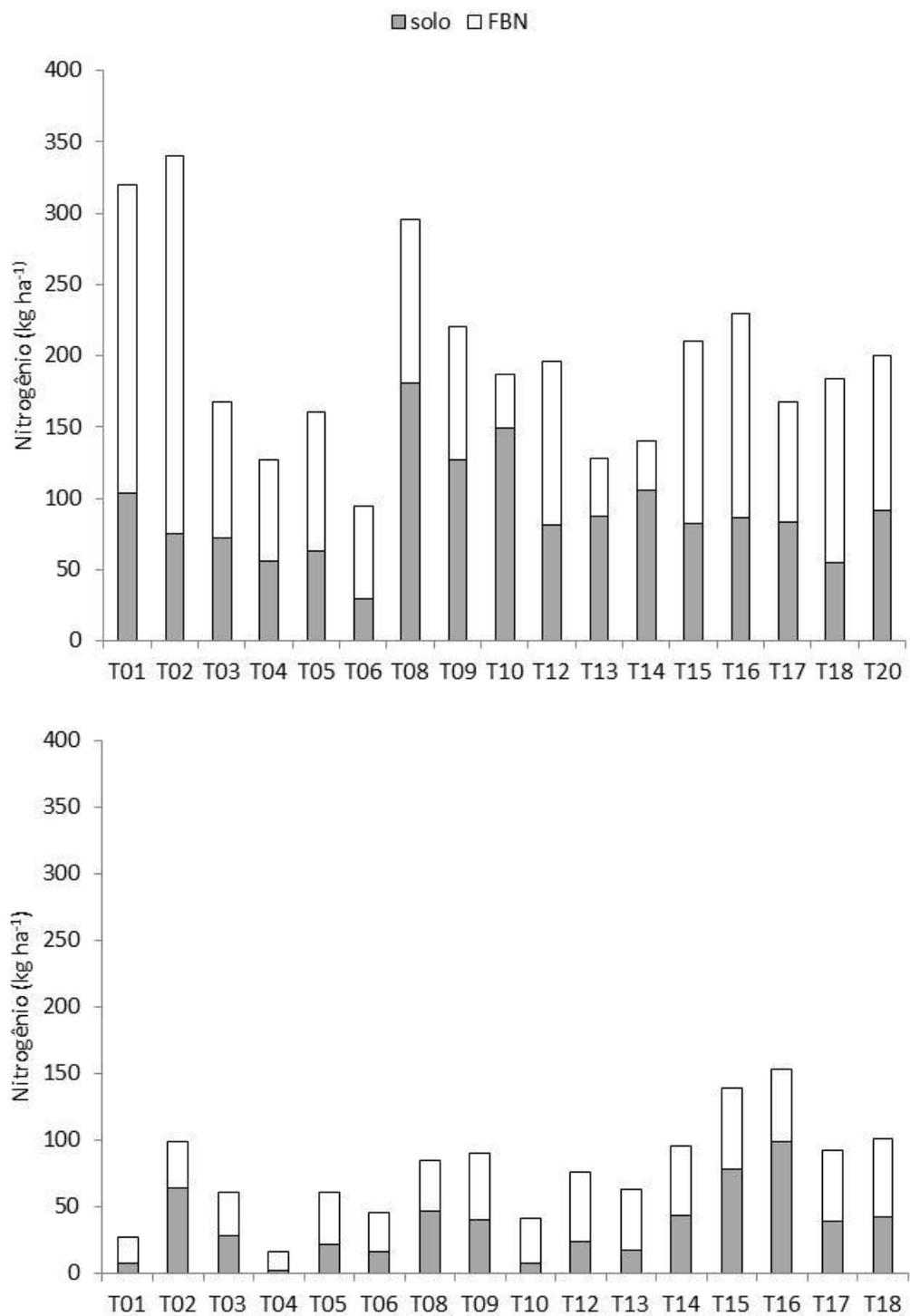
Tabela 8: N acumulado (kg ha^{-1}) na parte aérea de genótipos de sorgo cultivados em diferentes municípios de Pernambuco,

Variedade	Locais de cultivo				
	Itambé	Goiana	Caruaru	Belo Jardim	Serra Talhada
T01	334,36 A	320,35 AB	27,33 AB	-	149,76 A
T02	321,25 AB	339,78 A	98,46 AB	-	274,31 A
T03	220,61 AB	167,99 ABC	40,44 AB	-	125,92 A
T04	182,45 AB	127 BC	22,22 AB	-	121,07 A
T05	146,54 B	160,34 ABC	67,01 AB	-	122,27 A
T06	242,76 AB	96,16 C	46,07 AB	-	77,1 A
T07	368,37 A	295,63 AB	57,04 AB	-	-
T08	264,35 AB	220,74 ABC	84,02 AB	-	-
T09	339,77 AB	189,39 ABC	33,87 AB	-	116,44 A
T10	231,46 AB	196,49 ABC	35,01 AB	-	115,72 A
T11	181,68 AB	130,27 ABC	13,68 B	-	82,29 A
T12	194,66 AB	140,64 ABC	54,29 AB	-	134,18 A
T13	350,08 A	210,4 ABC	84,59 AB	-	156,4 A
T14	322,56 AB	229,18 ABC	100,77 A	-	140,8 A
T15	222,01 AB	167,91 ABC	41,33 AB	-	173,04 A
T16	177,17 AB	184,08 ABC	70,88 AB	-	181,83 A
T17	295,12 AB	200,46 ABC	60,62 AB	-	120,71 A

Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey no nível de 0,05 de probabilidade.

Em Goiana a maior parte do N nas plantas derivou da atmosfera, com exceção dos genótipos T8, T09, T10, T13, T14 e T17, na localidade de caruaru a maior fixação de N também derivou da atmosfera com exceção dos genótipos T2, T08, T15, e T16.

Figura 6: Nitrogênio derivado do solo e Nitrogênio fixado (kg ha^{-1}) na parte aérea de genótipos de sorgo cultivados em Goiana (A) e em Caruaru (B).



5. CONCLUSÃO

Evidências de absorção de N_2 atmosférico pelo sorgo foram observadas em Caruaru e Goiana, mas não nos outros locais. Nos locais onde o sorgo apresentou sinal isotópico típico de planta fixadora, não houve relação entre os sinais de ^{15}N dos sorgos e as características de N ou as produções de biomassa. O solo de cada local de cultivo pode ser um fator que condiciona a FBN em sorgo, no entanto, não é possível determinar quais características do solo proporcionaram a FBN em Caruaru e Goiana.

6. REFERENCIAS

ALBUQUERQUE, C. J. B.; ROCHA, G.R.; BRANT, R. S.; MENDES, M.C. Espaçamento reduzido para o cultivo do sorgo granífero no sistema irrigado e em sequeiro. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 3, n. 2, p.7-26, 2011.

ANDRADE L. M.; MELLO, A. C. L.; SANTOS, M. V. F. dos; ANDRADE FERREIRA, M.; FARIAS, I.; SANTOS, D. C. Considerações sobre a produção leiteira no semi-árido pernambucano. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 1, p.112-123, 2013.

ANDRADE LIRA, M.; ARAÚJO, M. R. A.; MACIEL, G. A.; FREITAS, E. V.; ARCOVERDE, A. S. S.; LEIMING, G. Comportamento de novas progênies de sorgo forrageiro para o Semi-Árido Pernambucano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, n.11, p.1239-1246, 1988.

ANUNCIÇÃO FILHO, C. J.; MONTEIRO, M. C. D.; OLIVEIRA, F. J.; TABOSA, J. N.; BASTOS, G. Q.; REIS, O. V. Produção de matéria seca e conteúdo de proteína bruta em genótipos de sorgo forrageiro. **Agropecuária Técnica**, v.25, n. 2. 2004.

APPS – Associação Paulista dos Produtores de Sementes e Grupo Pró-sorgo. **Evolução da área e produção do sorgo no Brasil**. Campinas, 2011. Disponível em: <<http://www.apps.agr.br/dado-estatistico>> Acesso em: 23 ago. 2015.

ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W. T. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. **Advances in Agronomy**, v. 62, p. 45-151, 1997.

BAIS, H. P.; WEIR, T. L.; PERRY, L. G.; GILROY, E.; VIVANCO, J.M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 233-266, 2006.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillumseropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, 1986.

BALDANI, J.I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, R.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M.; DOBEREINER, J. Emended Description of *Herbaspirillum*; Inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a Mild Plant Pathogen, as *Herbaspirillumrubrisubalbicans* comb. nov.; and Classification of a Group of Clinical Isolates (EF Group 1) as *Herbaspirillum* Species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 46, n. 3, p. 802-810, 1996.

BALDANI, V. L. D.; OLIVEIRA, R.; BOLATA, E.; BALDANI, J. I.; KIRCHHOG, G.; DOBEREINER, J. *Burkholderiabrasilensis* sp. nov., uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 69, p. 116-116, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BERGAMASCHI, C.; ROESCH, L. F. W.; QUADROS, P. D.; CAMARGO, A. O. Occurrence of diazotrophic bacteria associated with forage sorghum cultivars. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 727-733, 2007.

BAUMHARDT, R. L.; HOWELL, T. A. Seeding practices, cultivar maturity, and irrigation effects on simulated grain sorghum yield. **Agronomy Journal**, v. 98, n. 3, p. 462-470, 2006.

BODDEY, M.; OLIVEIRA, O. C.; URGUAGA, S.; REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; DOBEREINEIRE, J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**, v. 174, n. 1-2, p. 195-209, 1991.

BOHLOOL, B. B.; LADHA, J. K.; GARRITY, D. P.; GEORGE, T. Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture: a perspective. In: **Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture**. Netherlands: Springer, 1992. p. 1-11.

BOREM, A.; PIMENTEL, L. D.; PARELLA, R. A. C. **Sorgo do plantio a colheita**. Viçosa, MG: Editora da UFV, 2014. p. 17-34.

CANTARELLA, H.; DUARTE, D. P.; GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. **Tecnologia de produção de milho**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p. 139-182.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento-Coordenadoría da Pesquisa Agropecuária, 1996. p. 01

CANUTO, E. D. L.; SALLES, J. F.; OLIVEIRA, A.; PERIN, L.; REIS, V.; & BALDANI, J. Respostas de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotrófica sendo fílicas. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 67-72, 2003.

CARVALHO, E. X. **Ciclagem de nitrogênio e estimativas de biomassa da cana-de-açúcar de Pernambuco**, 2015. f. 72 Tese de doutorado – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

CAVALCANTE, V. A.; DOBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, v. 108, n. 1, p. 23-31, 1988.

CHIARAMONTI, D.; AGTEERBEG, A.; GRASI, G.; GRIMM, H.P.; CODA, B. Large bioethanol project from Sweet Sorghum in China and Italy (ECHIT): Description of

site, process schemes and main products. In: **12th European Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection, Amsterdam, The Netherlands**. 2002. p. 17-21.

CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; TABACCHIONI, S.; DALMASTRI, C. Inoculation of Burkholderiacepacia, *Pseudomonas fluorescens* and Enterobacter sp. on Sorghum bicolor: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 81-87, 1998.

COCKING, E. C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 169-175, 2003.

COELHO, A. M.; CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A. Rendimento do milho no Brasil: chegamos ao máximo. **Informações Agronômicas**, v. 101, p. 1-12, 2003.

COELHO, M. R. R.; MARRIEL, I. E.; JENKINS, S. N.; LANYON, C. V.; SELDIN, L.; O'DONNELL, A. G. Molecular detection and quantification of nifH gene sequences in the rhizosphere of sorghum (*Sorghum bicolor*) sown with two levels of nitrogen fertilizer. **Applied Soil Ecology**, v. 42, n. 1, p. 48-53, 2009.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. *Azospirillumbrasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 97-103, 2008.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura mensal**: sorgo. 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_10_10_14_56_18_sorgo_setembro2013.pdf>. Acesso em: 31 maio 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Central de informações agropecuárias: safras**. 2009. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?>>. Acesso em: 9 jul. 2015.

DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; RESENDE, A. S.; URQUIAGA, S.; ROCHA, G. P.; MOREIRA, J. F.; FRANCO, A. A. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para o capim Survenola crescido em consórcio. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2. 2007

DING, L.; YOKOTA, “Proposals of *Curvibacter gracilis* gen. nov., sp. Nov. and *Herbaspirillum putei* sp. Nov. for bacterial strains isolated from well water and reclassification of (*Pseudomonas*) *huttienses*, (*Pseudomonas*) *lanceolata* (*Aquaspirillum*) *delicatum* and (*Aquaspirillum*) *autotrophicum* as *Herbaspirillum hutiense* com. Nov., *Curvibacter lanceolatus* comb. Nov., *Curvibacter delicatus* comb. Nov., **International Journal of systematic and evolutionary**, v. 54, n. 6, p. 2223-2230, 2004.

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

DOBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v. 13, n. 1-3, p. 1-13. 1992.

DÖBEREINER, J. A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. **Biotecnologia Ciência**, p. 2-3, 1997.

DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspalis* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 357-365, 1966.

DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A. P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, v. 1, p. 261-272, 1958.

DRUMOND, M. A.; CARVALHO, F. O. M. **Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semi-árido brasileiro**. Brasília: Embrapa Semi-árido/Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

DUARTE, P. M. D. C. H., & CANELLASIII, V. L. P. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1880-1883, 2009.

DURÃES, F. O. M.; MAY, A.; COSTA, P. R. A. Sistema agroindustrial do sorgo sacarino no Brasil e a participação público-privada: oportunidades, perspectivas e desafios. **Sistema**, p.2. 2012.

DYKES, L.; LLOYD, W.; ROONEY, R. D.; WANISKA, W. L. R. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6813-6818, 2005.

ECKERT, B.; WEBER, O.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereinae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 17-26, 2001.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, 1999. 370p.

ESTABROOK, E.M.; YODER, J.I. Plant-plant communications: rhizosphere signaling between parasitic angiosperms and their hosts. **Plant Physiology**, v. 116, n. 1, p. 1-7, 1998.

EVANGELISTA, F.R. **A agricultura familiar no Brasil e no Nordeste**. Fortaleza: BNB-ETENE, 2000. 12p.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT 2010**. Disponível em: <www.faostat.org/site/567/>. Acesso em: 23 ago. 2015.

FAO - Food And Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT 2008**. Disponível em: <www.faostat.org/site/567/>. Acesso em: 23 ago. 2015.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT 2014**. Disponível em: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/317190/>>. Acesso em: 23 ago. 2015.

FARIA, S. M.; FRANCO, A. A. **Identificação de bactérias eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies leguminosas arbóreas**. Seropédica RJ: Embrapa Agrobiologia, p.8. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 158). 2002.

FERREIRA, R. A. N.; FREITAS, A. D. S.; GIONGO, V. **Nitrogênio fixado em cultivo de melão sob adubação verde no município de Juazeiro, Bahia**. Recife: UFPE, p.28-32. 2013.

FREITAS, A. D. S.; SAMPAIO, E. V. D. S. B.; SOUZA R. A. P.; VASCONCELLOS B. M. R., LYRA, R. P.; ARAÚJO, E. L.. Nitrogen isotopic patterns in tropical forests along a rainfall gradient in Northeast Brazil. **Plant and Soil**, v. 391, n. 1-2, p. 109-122, 2015.

FIGUEIREDO, M. V. B.; SILVA, D. M. P.; TABOSA, J. N.; BRITO, J. Z.; FRANÇA, J. G. E. **Tecnologias potenciais para uma agricultura sustentável**. Recife, PE: IPA-EMATER. p. 133-159. 2013.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F.; SILVA, E. M.; FARIA, S. M. **Revegetação de solos degradados**. EMBRAPA (comunicado técnico). 1992. p.1.

FRANCO, A. A.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. D.; CAMPELLO, E. F.; SILVA, E. M. D. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. **Oecologia Brasiliensis**, v. 1, p. 459-467, 1995.

FRANCO, A. A.; DUBEREINER, J. **A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais**. 1994.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5, p. 897-903, 1997.

FREITAS, A. D. S. **Abundância natural do ¹⁵N e fixação biológica do N₂ em espécies arbóreas da Caatinga**. 2008. P. 39-46. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

FUENTES-R. L.; JIMENEZ, S. T. ABARCA, I. R.; CABALLERO, M. J. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugar cane cultivars of Mexico. **Plant and Soil**, v. 154, n. 2, p. 145-150, 1993.

GADAGI, R. S.; KRISHNARAJ, P. U.; KULKARNI, J. H. S. T. The effect of combined Azospirillum inoculation and nitrogen fertilizer on plant growth promotion and yield response of the blanket flower *Gaillardia pulchella*. **Scientia Horticulturae**, v. 100, n. 1, p. 323-332, 2004.

GALLOWAY, J. N.; colocados autores GALLOWAY, J. N.; DENTENER, F. J.; CAPONE, D. G.; BOYER, E. W.; HOWARTH, R. W.; SEITZINGER, S. P.; VÖOSMARTY, C. J. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, v. 70, n. 2, p. 153-226, 2004.

GONZÁLES H. H. S, **de nitrogênio, caracterização de bactérias fixadoras de nitrogênio**. 2008. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto Butantan, São Paulo, 2008.

GRAYSTON, S. J.; WANG, S.; CAMPBELL, C. D.; EDWARDS, A. C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 30, n. 3, p. 369-378, 1998.

HERRERA, M. A.; SALAMANCA, C. P.; BAREA, J. M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 129-133, 1993.

HUNGRIA, M.; CHUEIRE, L. M. O.; MEGÍAS, M.; LAMRABET, Y.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ, M. F. J.; CAMPO, R. J. Genetic diversity of indigenous tropical fast-growing rhizobia isolated from soybean nodules. **Plant and Soil**, v. 288, n. 1-2, p. 343-356, 2006.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2, p. 151-164, 2000.

Indicadores, Estatística da Produção Agrícola. Rio de Janeiro: IBGE. p. 14-15. 2013.

Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro: IBGE, v. 37, p.1-91, 2010.

IM, W. T.; BAE, H. S.; YOKOTA, A.; LEE, S. T. *Herbaspirillumchlorophenicum* sp. nov., a 4-chlorophenol-degrading bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 851-855, 2004.

IPA – Instituto Agronômico de Pernambuco. **Publicações /folhetos explicativos. 2014. Disponível em:** <<http://www.ipa.br/resp58.php>>. **Acesso em: 11 Jun. 2015.**

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotrophic colonizing vascular tissue of *Sorghum bicolor* L. Moench. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 3, p. 785-798, 1997.

KAISER, E.A. ; MARTENS, R.; HEINEMEYER, O. Temporal changes in soil microbial biomass carbon in an arable soil: consequences for soil sampling. **Plant and Soil**, v. 170, n. 2, p. 287-295, 1995.

KENNEDY, I. R.; PEREG-GERK, L. L.; WOOD, C.; DEAKER, R.; GILCHRIST, K.; KATUPITIYA, S. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: facilitating the evolution of an effective association between *Azospirillum* and wheat. **Plant and Soil**, v. 194, n. 1-2, p. 65-79, 1997.

KENNEDY, I.R.; CHOWDHURY, A.T.M.A.; KECSKES, M.L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in shopping-farming systems: Can their potential for plant

growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, v.36, n.8, p. 1239-1245, 2004.

KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A. T. M. A.; KECSKÉS, M. L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited?.**Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1229-1244, 2004.

KILL, L. H .P.; MENEZES, E. A. **Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semi-árido brasileiro**. Brasilia, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 1998. 340p.

KIPE-NOLT, J. A.; AVALAKKI, U. K.; DART, P. J. Root exudation of sorghum and utilization of exudates by nitrogen-fixing bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, v.17, n.6, p.859-863, 1985.

KIRCHHOF, G.; ECKERT, B.; STOFFELS, M.; BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; HARTMANN, A. *Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen-fixing bacterial species that occurs in C4-fibre plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 157-168, 2001.

LEDGARD, S. F.; FRENEY, J. R.; SIMPSON, J. R. Variations in natural enrichment of ¹⁵N in the profiles of some Australian pasture soils. **Soil Research**, v. 22, n. 2, p. 155-164, 1984.

LUNA, M. F.; GALAR, M. L.; APREA, J.; MOLINARI, M. L.; BOIARDI, J. L. Colonization of sorghum and wheat by seed inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 8, p. 1071-1076, 2010.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Ecofisiologia**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, p. 1-4. 2003.

MAGALHAES, P. C.; DURAES, F. O. M.; SCHAFFERT, R. E. **Fisiologia da planta de sorgo**. Sete Lagoas MG: Embrapa Milho e Sorgo. P. 1-4 2000. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 87).

MAGALHÃES, P. C.; FERRER, J. L. R.; ALVES, J. D.; VASCONCELLOS, C. A.; CANTÃO, F. R. D. O. Influência do cálcio na tolerância do milho “saracura” BRS-4154 ao encharcamento do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 6, n. 1. 2010.

MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K.; BALDANI, J. **Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. p. 5. 1999.

MELO, S. R.; ZILLI, J. E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1177-1183, 2009.

MONTAÑEZ, A.; ABREU, C.; GILL, P. R.; HARDARSON, G.; SICARDI, M. Biological nitrogen fixation in maize (*Zea mays* L.) by ¹⁵N isotope-dilution and identification of associated culturable diazotrophs. **Biology and Fertility of Soils**, v. 45, n. 3, p. 253-263, 2009.

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

MUTISYA, J.; SUN, C.; ROSENQUIST, S.; BAGUMA, Y.; JANSSON, C. Diurnal oscillation of SBE expression in sorghum endosperm. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n. 4, p. 428-434, 2009.

NACAMULLI, C.; BEVIVINO, A.; DALMASTRI, C. TABACCHIONI, S.; CHIARINI, L. Perturbation of maize rhizosphere microflora following seed bacterization with Burkholderiaceae MCI 7. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 23, n. 3, p. 183-193, 1997.

NCUBE, B.; TWOMLOW, S. J.; VAN W., M. T., DIMES, J. P.; GILLER, K. E. Productivity and residual benefits of grain legumes to sorghum under semi-arid conditions in southwestern Zimbabwe. **Plant and Soil**, v. 299, n. 1-2, p. 1-15, 2007.

OTONNI, F.; AMÂNCIO, C.; XAVIER, G.; ZILLI, J.; HUNGRIA, M.; BALBINOTT, A.; MOTTA, R.; RUMJANEK, N. **A construção de uma rede de promoção do benefício da FBN através dos inoculantes: uma proposta metodológica em busca de uma Agricultura de Baixo Carbono: Londrina PR, 2012.**

PEITER, M. X.; CARLESSO, R. Comportamento do sorgo granífero em função de diferentes frações de água disponível no solo. **Ciência Rural**, v. 26, n. 1, p. 51-55, 1996.

PEREIRA, J. A. R.; CAVALCANTE, V. A.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, v. 110, n. 2, p. 269-274, 1988.

PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J. G.; CECON, P. R. Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 35-40, 2004.

PITTA, G. V. E.; VASCONCELLOS, C. A.; ALVES, V. M. C. **Fertilidade do solo e nutrição mineral do sorgo forrageiro: produção e utilização de silagem de milho e sorgo.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p. 243-262.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Instituto Agrônomo de Campinas-IAC, 1997.

RAVEN, P.; EVETR, R.R; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 17-39. 2001.

REDDY, B. V.; RAMESH, S.; REDDY, P. S.; RAMAIAH, B.; SALIMATH, M.; KACHAPUR, R. Sweet sorghum-a potential alternate raw material for bio-ethanol and bio-energy. **International Sorghum and Millets Newsletter**, v. 46, p. 79-86, 2005.

REDDY, B. V.S.; KUMAR, A. A.; RAMESH, S. Sweet sorghum: A water saving bio-energy crop. 2007.

REDDY, K. R.; NEWMAN, S.; GRUNWALD, S.; OSBORNE, T. Z.; CORSTANJE, R.; BRULAND, G.; AND RIVERO, R. **In spatial distribution of soil nutrients the greater everglades ecosystem report**. South Florida: Water Management District, 2005. p. 1-2

REZENDE, P. D.; SILVA, A. D.; CORTE, E.; BOTREL, E. P. Consórcio sorgo-soja. V. Comportamento de híbridos de sorgo e cultivares de soja consorciados na entrelinha no rendimento de forragem. **Ciência Rural**, v. 31, n. 3, p. 3695-374, 2001.

REIS J. F. B.; SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; & REIS, V. M. Identification of *Azospirillum amazonense* isolates associated to *Brachiaria* spp. at different stages and growth conditions, and bacterial plant hormone production. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 1, p. 103-113, 2004.

RIBAS, P. M. Um cereal versátil. **Anuário Brasileiro do Milho**, 2004. p. 96-99.

ROUT, M. E.; CHRZANOWSKI, T. H. The invasive *Sorghum halepense* harbors endophytic N₂-fixing bacteria and alters soil biogeochemistry. **Plant and Soil**, v. 315, n. 1-2, p. 163-172, 2009.

SAIKIA, S. P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable target or a dogma. **Current Science**, v. 92, n. 3, p. 317-322, 2007.

SANS, L. M. A.; MORAIS, A. V. C.; GUIMARÃES, D. P. **Época de plantio de sorgo**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2003. 4p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica. 2003. 4p.

SARWAR, M.; KREMER, R. J. Determination of bacterially derived auxins using a microplate method. **Letters in Applied Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 282-285, 1995.

SANTOS, F.; COSTA, E.; RODRIGUES, J.; LEITE, C.; SCHAFFERT, R. Avaliação do comportamento de genótipos de sorgo para resistência a seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 21., 1996, Londrina. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1996. p. 32.

SANTOS, M. A.; NICOLÁS, M. F.; HUNGRIA, M. Identification of QTL associated with the symbiosis of *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* and soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 67-75, 2006.

SANTOS, M. J.; SIQUEIRA, J. O.; SOUZA M, F. M. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.

SHEARER, G.; KOHL, D. H. N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. **Functional Plant Biology**, v. 13, n. 6, p. 699-756, 1986.

SILVEIRA, J. A. G.; COSTA, R. C. L.; OLIVEIRA, J. T. A. Drought-induced effects and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* spp. under moderate nitrate level. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 3, p. 187-194, 2001.

SONTHAYANON, P.; KRASAO, P.; WUTHIEKANUN, V.; PANYIM, S.; TUNGPRADABKUL, S. A simple method to detect and differentiate *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* using specific flagellin gene primers. **Molecular and Cellular Probes**, v.16, n.3, p. 217-222, 2002.

SPRENT, J. I.; SPRENT, P. Nitrogen fixing organisms: pure and applied aspects. **Nitrogen fixing organisms: pure and applied aspects**. 1990.

STEENHOUDT, O.; VANDEREYDEN, J. *Azospirillum*, free-living nitrogen fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p. 487-506, 2000.

TABOSA, H. R.; PAES, D. M. B.; FERREIRA, A. L. D.; SOUZA, M. N. A. A gestão da informação no programa saúde na escola em Fortaleza-CE: impasses e alternativas. **RACIN**, v. 1, n. 1, p. 30-49, 2013

TABOSA, J. N.; ENCARNAÇÃO, C. R. F.; SOUZA, A. R.; GALLINDO, A. F. T. G.; SILVA, A. B.; BARROS, A. H. C.; GOMES, R. V. **Agrocaracterização ambiental das bases físicas do IPA-Instituto Agrônomo de Pernambuco**. Recife: IPA, 2010.

TABOSA, J. N.; FRANÇA, J. G. E. de; SANTOS, J. P. O.; MACIEL, G. A.; LIRA, M. de A.; ARAÚJO, M. R. A. de; GUERRA, N. B. Teste em linhas de sorgo no semi-árido de Pernambuco para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 1385-1390, 1993.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V.; BRITO, A. R. M. B.; MONTEIRO, C. D. M.; SIMPLÍCIO, J. B.; OLIVEIRA, J. A. C.; SILVA, F. G.; AZEVEDO NETO, A. D.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; NASCIMENTO, M. M. A.; LIMA, L. E.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, L. R. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos estados de Pernambuco e Alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 2, p. 47-58, 2002.

TABOSA, J. N.; TAVARES, J. A.; REIS, O. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; LIMA, J. D.; CARVALHO, H. D.; NASCIMENTO, M. D. Potencial do sorgo granífero em Pernambuco e no Rio Grande do Norte: resultados obtidos com e sem irrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27: Londrina PR. EMBRAPA, tabuleiros costeiros. 2008.

TABOSA, J.N.; AZEVEDO NETO, A.D.; REIS, O.V.; FARIAS,I.;TAVARES, J.J.; LIRA, M.A. Forage millet evaluation on harvest stage in the semi-arid region of Pernambuco State of Brazil. In: INTERNACIONAL PEARL MILLET WORKSHOP. B **Anais...** Brasília: Embrapa Sede. p.208-212. 1999.

TABOSA, J.N.; SIMPLÍCIO, J.B.; NASCIMENTO, M.M.A.; REIS, O.V.; SILVA, F.G.; LIMA, J.M.P. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes do semiárido nordestino. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E

SORGO, 27. 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPMS, 2008. 1 CD-ROM.

TABOSA, J.N.; TAVARES FILHO, J.J.; ARAÚJO, M.R.A.; ENCARNAÇÃO, C.R.F.; BURITY, H.A. Water use efficiency in sorghum and corn cultivars under field conditions. **Sorghum Newsletter**, v.30, p.91-92, 1987.

TEIXEIRA, P. E. G.; TEIXEIRA, P. P. M. Potencial nutritivo da silagem de sorgo. In: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE SILAGEM NA AMAZÔNIA,1., 2004, Belém. **Anais...** Belém: UFRA, 2004. p. 83-100.

THOMAS, R. L.; SHEARD, R. W.; MOYER, J. R. Comparison of conventional and automated procedures for nitrogen, phosphorus, and potassium analysis of plant material using a single digestion. **Agronomy Journal**, v. 59, n. 3, p. 240-243, 1967.

UNDERSANDER, D. J.; SMITH, L. H.; KAMINSKI, A. R.; KETLING, K. A.; DOLL, J. D. **Alternative field crops manual: sorghum-forage**. Minnesota EUA. Universidade de Minnesota. 2000.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F.; BATISTA R. B.; SCHULTZ N, L. J. M.; MAIA. S. J.; BARBOSA, K. P.; RESENDE, A. S, ALVES B.J. R.; BODDEY R. M. Evidence from field nitrogen balance and ^{15}N natural abundance data for the contribution of biological N_2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 5-21, 2012.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R. P.; MORAIS, R. F. de; BATISTA, R. B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J. M.; BODDEY, R. M. Evidence from field nitrogen balance and ^{15}N natural abundance data for the contribution of biological N_2 fixation to Brazilian sugarcane varieties. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 5-21, 2012.

VALVERDE A.; VELAZQUEZ, E.; GUTIERREZ, C.; CERVANTES, E.; VENTOSA A.; IGUAL, J.M. *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1979-1983, 2003.

VASCONCELOS M. J. V.; ROCHA, M. C.; MIRANDA, G.V.; SCHAFFERT, R. E. **Metodologia de avaliação de exsudados radiculares em linhagens de sorgo submetidos ao estresse de fósforo.** Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas MG. p. 1-4. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 115). 2009.

WHITE, J.S.; BOLSEN, K.K.; POSLER, G. Forage sorghum dry matter disappearance as influenced by plant part proportion. **Animal feed Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 313-322, 1991.

ZAGO, C. P. Cultura de sorgo para produção de silagem de alto valor nutritivo. In: SIMPOSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4., 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", p.169-217. 1991.

ZAGO, C. P.; GUIMARÃES F.B. Sistemas de produção para sorgo In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 27. Londrina. **Anais...** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 27. 2008. 1CD-ROM

ZAYED, A. M.; TERRY, N. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. **Plant and Soil**, v. 249, n. 1, p. 139-156, 2003. Dissertação de mestrado em Agrobiologia; Embrapa Agropecuária Oeste; Embrapa Soja. Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2000.