

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**TESE**

**Parâmetros Quantitativos e Qualitativos de Diferentes  
Genótipos de Capim Elefante com Potencial para Uso  
Energético**

**Diego Mureb Quesada**

**2005**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**CIÊNCIA DO SOLO**

**PARÂMETROS QUANTITATIVOS E QUALITATIVOS DE**  
**DIFERENTES GENÓTIPOS DE CAPIM ELEFANTE COM**  
**POTENCIAL PARA USO ENERGÉTICO**

**DIEGO MUREB QUESADA**

*Sob a Orientação da Professora*

**Verônica Massena Reis**

*e Co-orientação dos Professores*

**Segundo Urquiaga e Bruno José Rodrigues Alves**

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Ciências**, Área de  
Concentração em Ciência do Solo.

Seropédica, RJ.

Fevereiro de 2005

633.2

Q5p

T

Quesada, Diego Mureb, 1972-

Parâmetros quantitativos e qualitativos da biomassa de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com potencial para uso energético, na forma de carvão vegetal / Diego Mureb Quesada. – 2005.

65f. : il.

Orientador: Verônica Massena Reis.

Tese(doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia.

Bibliografia: f.57-65.

1. Capim - elefante - Teses. 2. Capim – elefante - Pesquisa – Teses. 3. Capim – elefante - Utilização - Teses 4. Energia – Fontes alternativas - Teses. I. Reis, Verônica Massena, 1961- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Agronomia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

**DIEGO MUREB QUESADA**

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciência do Solo, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, em Agronomia.

TESE APROVADA EM 16/02/2005

---

Verônica Massena Reis. Dr<sup>a</sup>. Embrapa Agrobiologia  
(Orientadora)

---

Segundo Urquiaga. Dr. Embrapa Agrobiologia  
(Co-orientador)

---

Leônidas Schalcher Valle. Ph.D. Embrapa Solos

---

Alexander Silva de Resende. Dr. Embrapa Agrobiologia

---

Everaldo Zonta. Dr. UFRRJ

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelos 14 anos em que aqui vivi, e que me fizeram, com certeza, uma pessoa muito mais madura e humana.

Ao Departamento de Solos, por toda a minha formação acadêmica e científica, e por me ter dado a oportunidade de fazer o Mestrado e o Doutorado.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Aos meus pais, Carlos Quesada Lucas e Maria Francisca Mureb Quesada, pelo amor e dedicação de sempre.

À minha noiva Flávia pelo incentivo e amor demonstrados nesses meses que antecederam a defesa de tese;

Às minhas irmãs Silvana e Adriana, por me dar o prazer e a alegria de ser seu irmão;

Aos meus tios e primos, que sempre me apoiaram, principalmente nas adversidades;

À Dra. Verônica Massena Reis, pela grata satisfação de ser orientado dela;

Ao Dr. Segundo Urquiaga pela confiança em meu trabalho e ensinamentos;

Ao Dr. Bruno Alves, pelas valiosas críticas e sugestões neste trabalho, e pela confiança em participar da minha banca de tese;

Aos funcionários e, graças a Deus, amigos do campo experimental da EMBRAPA Agrobiologia Srs.: Silvio, Carlinhos, Eugênio, Manoel Frade, Paulo Libano, Silas, Zezão Enivaldo, Elias, Roberto, Samuel, Oseás, João, Edilson, Zé Pedro, Arlei. Sem eles, com certeza não estaria aqui e agora escrevendo isto. Obrigado.

Aos funcionários da casa de vegetação Naldo, Hélio, Sérgio e Cláudio, pela amizade e ajuda.

Aos amigos de todas as horas, o “líder” Elvino Ferreira, Alex “machadada”, Rogério “gordinho” e Fábio “Fabão”, Jerri “Zilli”, Fábio “Small Paraíba”, Fábio “Sacola de Osso”, Lincoln “Cavanhaque de Fogo” valeu mesmo por tudo em que me ajudaram (física e intelectualmente);

Aos não menos amigos bolsistas do grupo: David (carne moída), Robert (negão), Ricardo (urubu), Polidoro (denguinho), Sérgio“SAM”, Rafael (Perigoso), Cláudia, e Raimundiinnnhhhoooo;

Aos amigos do 221 e do alojamento da Embrapa, por terem me aturado estes 14 anos;

Aos funcionários Roberto Grégio, Altiberto, José Vicente, Geraldo e Roberto Andrade pela colaboração e boa vontade nas análises e fotos de slides;

À “Diretoria”: Sérgio, Itamar, Jorge, Selmo, pela amizade e a alegre convivência;

À todos os funcionários e bolsistas pelo prazer do convívio;

Ao curso de Pós-Graduação em Ciência do solo da UFRRJ, a Embrapa Agrobiologia, que me deram a oportunidade de desenvolver este trabalho, e ao CNPq, pela bolsa “rica”, devido a taxa de bancada

E, principalmente, àqueles que deixei de mencionar por falta de espaço, o meu muito obrigado.

## BIOGRAFIA

Diego Mureb Quesada, nascido em Cabo Frio, Rio de Janeiro, no dia 02 de janeiro de 1972. Em 1991 prestou vestibular para Engenharia Agrônômica na UFRRJ, e graduou-se em 1996. Durante o curso, trabalhou inicialmente com gênese e classificação de solos, onde obteve seu primeiro contato com a área de pesquisa, desenvolvendo também atividade como monitor da disciplina Morfologia e Física do Solo. Em outubro de 1996, ingressou como bolsista de aperfeiçoamento na Embrapa Agrobiologia (CNPq), desenvolvendo muitos trabalhos na área de pesquisa, sendo bolsista desta modalidade até outubro de 1998. Em 1999 ingressou no Mestrado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo, como bolsista da CAPES, tendo defendido tese em fevereiro de 2001, intitulada “ Seleção de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN)”. Em março de 2001, ingressou no Doutorado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo, tendo desenvolvido seus estudos até fevereiro de 2005.

## SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 O Potencial Produtivo do Capim Elefante.....	3
2.2 Energia da Biomassa.....	4
2.3 A Importância da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) na Cultura do Capim Elefante.....	7
2.4. Técnicas de Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio em Gramíneas.....	9
2.4.1. Diferença de N-total do sistema solo-planta.....	10
2.4.2 Balanço de N-total do sistema solo-planta .....	10
2.4.3 Redução de acetileno.....	11
2.4.4 Diluição isotópica de <sup>15</sup> N.....	12
2.4.5 Uso de <sup>15</sup> N <sub>2</sub> .....	14
2.4.6 Abundância natural de <sup>15</sup> N.....	15
2.5 Extração de Macronutrientes em Capim Elefante.....	16
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Localização e Características de Solo e Clima da Area Experimental.....	19
3.2 Tratamentos e Delineamento Experimental.....	19
3.3 Implantação do Experimento.....	20
3.4 Produção de Matéria Seca de Capim Elefante.....	20
3.5 Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante.....	20
3.6 Relação C:N dos Materiais.....	21
3.7 Localização e Características de Solo e Clima da Área Experimental.....	21
3.8 Tratamentos e Delineamento Experimental.....	22
3.9 Implantação do Experimento.....	22
3.10. Produção de Biomassa de Capim Elefante.....	22
3.11 Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante.....	22
3.12 Relação C:N dos Materiais.....	22
3.13. Análise de Macronutrientes.....	23

3.13.1	Análise de cálcio e magnésio.....	23
3.13.2	Análise de fósforo.....	23
3.13.3	Análise de potássio.....	23
3.14.	Análise de Fibras.....	23
3.15.	Localização e Características de Solo e Clima da Área Experimental.....	24
3.16.	Tratamentos e Delineamento Experimental.....	24
3.17.	Implantação do Experimento.....	24
3.18	Produção de Biomassa de Capim Elefante.....	25
3.19	Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante.....	25
3.20.	Relação C:N dos Materiais.....	25
3.21	Análise de Macronutrientes e Fibras.....	25
4-	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1.	Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea e Quantificação da FBN, em Quatro Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo: Experimento 1.....	26
4.2.	Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea, Quantificação da FBN e Análise de Fibras e Nutrientes, em Quatro Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo : Experimento 2.....	30
4.3.	Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea, Análise de Fibras e Nutrientes, em Seis Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo: Experimento 3.....	48
5-	CONCLUSÕES.....	55
6-	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
7-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## RESUMO

QUESADA, Diego Mureb. **Parâmetros qualitativos e quantitativos de diferentes genótipos de capim elefante com potencial para uso energético.** Seropédica: UFRRJ, 2005. 65f. (Tese de Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo).

A intensa utilização de combustíveis fósseis e as constantes tensões envolvendo os países do Golfo Pérsico, grandes produtores de petróleo, tem levado a constantes aumentos nos preços de petróleo e seus derivados, somando-se a isso o fato dos mesmos serem fontes finitas de energia. Países e pesquisadores do mundo inteiro tem procurado pesquisar fontes alternativas de energia, para que os mesmos diminuam suas dependências ao petróleo. Por outro lado, através do protocolo de Kyoto, os países que produzam fontes alternativas de energia ficarão capacitados a obter recursos através de acúmulo de “créditos de carbono”, através do sequestro do mesmo, e também recursos através da produção de energia através de mecanismos de desenvolvimento limpo (MDL). O capim elefante é uma planta com elevada capacidade de produção de biomassa, aliada a outras características fundamentais para ser utilizada como fonte alternativa de energia, como fibras, ligninas, alta relação C:N, etc. Para isso, deve-se adequar os teores de nutrientes no campo, para que os mesmos sejam capazes de fornecer alta capacidade produtiva as plantas de capim elefante, sem que se atinjam valores elevados dos nutrientes, pois perderia em qualidade na indústria siderúrgica. Outro fator de suma importância é a FBN, que seria responsável pela diminuição dos custos a nível de campo, melhorando sensivelmente o balanço energético da cultura, fundamental para que a energia gerada seja de excelente qualidade. Em função disso, foi desenvolvido um estudo de campo, onde os genótipos estudados obtiveram em torno de 35 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., 50% de FBN, elevados teores de fibras, alta relação C:N, e com teores nutricionais suficientes para que se obtivessem as produções acima citadas, sem comprometer o rendimento industrial siderúrgico.

**Palavras chave:** Protocolo de Kyoto, carvão vegetal, energia alternativa, balanço energético e FBN.

## ABSTRACT

QUESADA, Diego Mureb. **Quantitative and qualitative parameters of different elephant grass genotypes with energy usage potential.** Seropédica: UFRRJ, 2005. 65f. (Thesis, Doctor in Agronomy, Soil Science).

The intense use of fossil fuels and the constant tensions involving countries of the Gulf Persian, large oil producers, has led to constant increasing of petroleum prices and, the additional fact of the fossil fuel being a finite source of energy. As a function of that, countries and researchers in the whole world have been trying to research alternative energy sources, in order to reduce their petroleum dependence. On the other hand, through the Kyoto protocol, the countries that produce alternative energy sources will be capable of obtaining revenues through accumulation of “carbon credits”, through the sequestering of carbon, and also through the production of energy through clean development mechanisms (CDM). The elephant grass is a plant with high biomass production capacity, allied to other fundamental characteristics, and may be used as alternative energy source, as fiber, lignin, and high C:N relationship. So, it should be adapted the nutrients levels in the field, so that they are capable to supply high productivity capacity to the grass elephant plants, without reaching high values of the nutrients, for it would compromise the metallurgical industry quality. Another important factor is BNF, which would be responsible for the decreasing costs in the field, improving the energy balance of the culture, fundamental to that the energy generated being of excellent quality. As a function of that, a study was developed where the studied genotypes obtained around 35 Mg of M.S per hectare, 50% BNF, high level of fibers and their components, high C:N relationship, and with enough nutritional levels to obtain high productions, without committing the metallurgical industrial yield.

**Key words:** Kyoto Protocol, vegetable coal, alternative energy, energy balance, BNF.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o problema da demanda energética vem se tornando uma preocupação mundial. Muitos países vem buscando alternativas energéticas ao uso de combustíveis fósseis, devido principalmente a três motivos: A necessidade de diminuição da dependência do petróleo e derivados, pelo fato de serem fontes finitas de energia; a preocupação com o meio ambiente; e os ganhos econômicos que os mesmos poderão ter, quer seja por produtos valorizados por não serem degradadores do meio ambiente, quer seja por créditos adquiridos através do sequestro de carbono, e de mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL), previsto no Protocolo de Kyoto.

A produção de material energético através da biomassa vegetal, é especialmente importante em Países tropicais, principalmente, devido ao regime de chuvas abundante, temperaturas elevadas e pela disponibilidade de energia luminosa. Soma-se a isso, o fato de que a queima de biomassa no máximo recicla o CO<sub>2</sub> que foi retirado da atmosfera pela fotossíntese, ao contrário da queima de combustível fóssil, que retira da crosta terrestre o carbono imobilizado durante milhões de anos. Para a produção de uma fonte alternativa de energia, faz-se necessário o uso de tecnologias que garantam a sua produção com balanços energéticos altamente positivos, ou seja, que a energia gerada seja bem maior que a gasta para gerá-la.

No Brasil, os adubos nitrogenados são usados em quantidades bem menores que nos países desenvolvidos. Além disso, vários genótipos de culturas em nosso País, apresentam uma estreita associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, obtendo assim grande parte do N necessário para o seu crescimento através da fixação biológica de nitrogênio. Este fato pode estar associado com a alta capacidade fotossintética, taxa de crescimento, eficiência do uso de água e interceptação da luz das espécies tropicais.

O capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) está entre as espécies de alta eficiência fotossintética (metabolismo C<sub>4</sub>), resultando numa grande capacidade de acumulação de matéria seca, tendo sido a forrageira mais utilizada em sistemas semi-intensivos de produção de leite. Entretanto, deve-se considerar que por se tratar de uma forrageira de alta produção, suas necessidades de nutrientes também são elevadas. Levando-se em conta que dentre os fertilizantes utilizados na agricultura, são os nitrogenados aqueles que mais oneram os custos com adubação, tem-se enfatizado a necessidade de uma maior exploração do potencial da FBN em gramíneas tropicais.

O capim elefante é uma planta altamente responsiva à fertilização nitrogenada e todos os estudos feitos até agora visaram somente o enriquecimento desta forrageira em produção de matéria seca, com o consequente aumento de proteína, através da adubação nitrogenada, para um ganho de peso mais rápido de bovinos e um maior aproveitamento desta fonte alimentar.

Nos últimos anos, vem sendo desenvolvido um projeto para substituir o carvão mineral utilizado na produção de pelotas de ferro, que por sua vez são utilizadas na produção do aço, por um “carvão” a partir de biomassa de capim elefante, e neste sentido, um novo rumo deve ser dado em relação às características que se deseja obter da planta para a produção de carvão. Não mais importa uma planta rica em proteína para a alimentação de bovinos, e sim uma planta com altos teores de fibras e lignina, aliada a alta produção de biomassa, para que a energia que se queira produzir deste material seja de boa qualidade para ser utilizada na produção de aço. Neste sentido, a redução ou eliminação completa do adubo nitrogenado na produção de biomassa, através da FBN,

além de aumentar o balanço energético, reduz os custos de produção apresentando melhores rendimentos energéticos.

Características qualitativas desejáveis para produção de energia, diz respeito ao percentual de fibras, e dentro desse os seus constituintes (celulose, lignina, etc.) e a relação C:N desses materiais, pois quanto maior essa relação, mais promissora é a planta para queima. A adequada composição de nutrientes na parte aérea precisa ser adequada para a obtenção de uma excelente produtividade ao nível de campo, não devendo porém exceder os limites que a indústria siderúrgica deseja, pois a planta então perderia qualidade para ser carvoejada.

Os objetivos do presente trabalho foram o de estudar genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), que apresentem elevadas produções quando adubados com adequados níveis de nutrientes (PK e micronutrientes) mas sem a aplicação de N; selecionar genótipos de capim elefante para alta fixação biológica de nitrogênio; verificar a qualidade desses materiais quanto a sua composição e qualidade de fibras; e avaliar os teores de nutrientes desses materiais, para que se saiba quais teores são ideais para obter altas produções, mas sem comprometer a qualidade dos mesmos no processo de carvoejamento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O Potencial Produtivo de *Pennisetum purpureum* Schum.

O capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma das gramíneas mais importantes e mais difundidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. É originária da África, onde ocorre naturalmente em vários países (Brunken, 1977). Após seu reconhecimento como forrageira de alto valor para a alimentação animal, principalmente bovinos, o capim elefante foi introduzido em vários países, sendo atualmente encontrado em regiões tropicais e subtropicais, em altitudes que variam do nível do mar até 2000 m (Bogdan, 1977).

O gênero *Pennisetum* L. Rich pertence à tribo Paniceae, que engloba outros gêneros de grande importância forrageira, tais como *Panicum*, *Melinis*, *Acroceras*, *Setaria*, dentre outros. *Pennisetum purpureum* Schumach se enquadra na seção *Pennisetum*, a qual engloba duas espécies reprodutivamente isoladas: *Pennisetum purpureum* Schum. e *P. americanum* (L.) Leeke. Até o início dos anos sessenta, as cultivares Mercker e Napier eram as mais utilizadas como forrageiras (Otero, 1961). Atualmente, existem no País uns números relativamente altos de cultivares, muitos deles já em uso em fazendas, principalmente naquelas de exploração leiteira. Sua utilização é quase sempre como forrageira para corte (capineira) e, mais recentemente, para pastejo (Lima et al., 1969; Lucci et al., 1972; Sartini et al., 1970, 71; Mozzer & Lobato, 1989).

O capim elefante está entre as espécies de alta eficiência fotossintética, ou seja, entre aquelas com maior eficiência no aproveitamento da luz. Isto resulta numa grande capacidade de produção de matéria seca. É uma espécie perene, cespitosa, de porte ereto e que consegue atingir mais de 3 m de altura. Cresce bem desde o nível do mar, até as altitudes de 2200 m, com temperaturas de 18° a 30°C e precipitação de 800 a 4000 mm, entretanto, o melhor desenvolvimento é obtido em altitudes de até 1500 m e com temperaturas de 24°C (Rodrigues et al., 1975)

Tratando-se de uma forrageira de alta produção, deve-se considerar que as necessidades de nutrientes estão relacionadas com o potencial produtivo, por isso a importância do solo estar corrigido e adubado corretamente. Deve-se ter em conta, que o capim elefante responde a doses crescentes de nitrogênio, comprovado, por exemplo, em trabalhos realizados em Porto Rico, por Vicente-Chandler et al (1974), onde foram encontradas respostas de até 896,8 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de nitrogênio, em termos de produção de forragem.

Esta resposta crescente do capim elefante à adubação nitrogenada, deve-se ao seu melhoramento ter sido sempre feito com este intuito. Se a seleção dos genótipos for feita em solos de baixa fertilidade natural (pobre em N), buscando altos rendimentos de matéria seca, associando à esta característica a contribuição da FBN na cultura em questão, pode-se tornar possível o estudo de fontes alternativas de energia a partir da biomassa de capim elefante. Esta é uma questão estratégica para o futuro, pois as fontes fósseis são finitas e poluidoras do meio ambiente, contribuindo com o aumento do efeito estufa, ao contrário de fontes renováveis de energia, que no máximo retornam a atmosfera o CO<sub>2</sub> que retiraram através da fotossíntese.

Outra característica importante do capim elefante, no que diz respeito a possibilidade de seu uso para a produção de carvão vegetal, é a semelhança que o

mesmo apresenta em relação ao bagaço de cana-de-açúcar, que tem em sua composição, 65% de fibras, sendo o teor de fibras fundamental para a produção de carvão.

## **2.2. Energia da Biomassa**

A importância da biomassa como objeto de estudo tornou-se inegável na sociedade moderna. No Brasil, em 1995, os recursos da biomassa respondiam com cerca de 28% da produção total de energia primária, superando inclusive toda a produção nacional de combustíveis fósseis (26,8%). O carvão vegetal brasileiro é responsável por cerca de um terço da produção mundial deste energético (FAO, 1993). Os produtos da cana-de-açúcar (álcool anidro e bagaço) contribuíram com aproximadamente 13% da produção primária de energia do país. O uso da biomassa sucro-alcooleira distingue o Brasil como detentor do mais importante programa de geração renovável de energia do planeta. O álcool carburante, apesar dos últimos percalços, ainda atende a cerca de 32% do consumo de energia de veículos leves, graças, nos últimos anos, ao lançamento de novos biocombustíveis. Como exemplos semelhantes no exterior, pode-se citar ações da International Energy Agency, da Organização Econômica de Cooperação para o Desenvolvimento (IEA - OECD) e do Painel Intergovernamental de Mudanças Climática das Nações Unidas (IPCC- ONU). O primeiro tem inúmeros projetos de desenvolvimento da energia de biomassa, e o segundo conseguiu a aprovação das Nações Unidas no relatório que prevê o uso crescente de energia de biomassa no mundo. A tendência histórica nos países desenvolvidos foi substituir combustíveis derivados de biomassa por fósseis (Nakicenovic et al, 1993). Há, entretanto, um renovado interesse desses países na biomassa energética que aponta uma participação maior da biomassa na matriz primária de energia no futuro próximo (Johansson et al, 1993; IPCC, 1995). A biomassa tem sido usada, por exemplo, na geração de eletricidade e no programa gasohol nos EUA (Robertson e Shapouri, 1993), no PROALCOOL no Brasil (Goldemberg et al, 1993), no aquecimento distrital na Áustria e Dinamarca e em outros países.

O Brasil possui todas as características necessárias para aumentar ainda mais sua produção comercial de biomassa energética de capim elefante, o que já ocorre com etanol, carvão vegetal e lenha, através de plantações. O desmatamento ocorrido na Amazônia tem sido causado, não pelo consumo energético da biomassa, mas sim pela abertura de áreas para pastos, exploração de madeiras nobres e valorização da terra. Embora a produção de carvão vegetal tenha destruído muitas florestas naturais, hoje, por exigência legal e pela exaustão de reservas, sua produção implica em aumento de florestas plantadas. Os programas de biomassa têm gerado um número superior a um milhão de empregos com investimento unitário inferior a outros setores da economia. Modernas tecnologias para uso de biomassa energética incluem cogeração de energia elétrica nos setores de papel, celulose, açúcar e álcool, produção de etanol e carvão vegetal de florestas plantadas. O uso de biomassa energética aumenta a oferta de empregos e a riqueza no campo, reduz o gasto de divisas na importação de petróleo e contribui para reduzir o efeito estufa ao substituir combustíveis fósseis. Todavia, a avaliação rigorosa do potencial de uso da biomassa no Brasil é de fundamental importância, já que os estudos realizados até o presente momento nesta área apresentam resultados controversos. Sendo assim, uma das principais ações do Fórum Permanente de Energias Renováveis foi a de criação do CENBIO - Centro Nacional de Referência em Biomassa, que tem como objetivo promover o uso da biomassa como fonte eficiente de energia no país, mediante o desenvolvimento de atividades de pesquisa, demonstração e divulgação dos resultados obtidos. Criado no fim do ano de 1996, o

CENBIO tem relação direta com estes temas. Oriundo das diretrizes do Plano Nacional de Energias Renováveis (Declaração de Brasília, 1995), o Centro Nacional de Referência em Biomassa é sediado no Instituto de Eletrotécnica e Energia da Universidade de São Paulo (IEE/USP), sendo uma iniciativa conjunta do Foro Permanente de Energias Renováveis, do Ministério de Ciência e Tecnologia, do Governo do Estado de São Paulo, do Biomass Users Network (BUN) e da USP, com apoio de diversas instituições do país.

O Programa Nacional do Álcool, ou PROÁLCOOL, foi criado em novembro de 1975, com o objetivo de substituir o uso da gasolina em automóveis. Dentre as razões de sua implantação, podem ser citadas as seguintes: o esforço para economizar divisas devido ao alto preço do petróleo e sua crescente participação na pauta de importações da época; a redução dos prejuízos dos produtores de açúcar em face as baixas cotações desse produto no mercado internacional; e o atendimento aos interesses da indústria automobilística. Nos últimos anos porém, a desordem empresarial e institucional nacional tem provocado uma forte instabilidade naquele que pode representar um dos maiores programas de geração de empregos (cerca de 700.000 empregos diretos) e de seqüestro de carbono no setor energético mundial.

O etanol produzido a partir da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, é um potente redutor do efeito estufa já que: o dióxido de carbono produzido desde a queima na pré-colheita, passando pelo processamento da cana até seu uso final como combustível, é inteiramente reciclado pelo processo da fotossíntese na cultura seguinte; o processo produtivo é praticamente auto-suficiente energeticamente (Goldemberg et al, 1993). Neste sentido, cabe destacar que desde sua implantação até os dias atuais, o setor sucro-alcooleiro buscou uma valorização cada vez mais integrada dos produtos e subprodutos da cana-de-açúcar, a fim de melhorar o seu rendimento econômico e reduzir impactos ambientais. Do lado econômico, os subprodutos mais importantes são o bagaço, o vinhoto, a torta de filtro e a levedura. Uma tonelada de cana-de-açúcar crua possui uma composição média de 14% de fibra, 12% de pol (sacarose), 3% de impurezas e os 71% restantes de água (Cortez, 1992). A título de ilustração, uma tonelada de cana-de-açúcar moída rende 250 kg de bagaço (média de 50% de umidade, 48% de fibras e 2% de sólidos solúveis) podendo atender a demanda energética na usina e também a cogeração de energia elétrica. Espera-se que o governo possa estabelecer uma política de preços realista para o álcool, refletindo custos efetivos e ganhos de produtividade do setor, adotando mecanismos institucionais que permitam a tributação diferenciada dos energéticos, nos níveis federal e estadual, reconhecendo a importância ambiental, social e estratégica para o país e estados, e também garantir a aplicação da Lei Nº 8.176 91, de 08/02/91 (Decreto Nº 238, de 24/10/91), que determina a implantação do Sistema Nacional de Estoques Combustíveis – SINEC, e estabelecendo acordos setoriais com a indústria automobilística para a produção de carros a álcool, etc., proporcionando como principais conseqüências, apoio social e ambiental, recuperação da credibilidade do programa, redução de riscos de desabastecimento, aproveitamento de oportunidades no mercado internacional, elevação dos preços da gasolina e do álcool aos consumidores e conseqüente eliminação de subsídios indiretos.

A partir das dificuldades que o uso da madeira com fins energéticos começou a apresentar no final dos anos 80, seja por questões ambientais, seja pela concorrência de usos mais nobres, como produção de pasta celulósica, mobiliário e uso na construção civil, alternativas à madeira passaram a ser observadas mais cuidadosamente, entre elas o uso do capim elefante. O capim elefante é uma gramínea que se mostrou com alto potencial produtivo para forragem picada verde ou conservado (Jacques, 1990), o que conseqüentemente, dado seu alto teor de fibra, também se apresenta com boas

perspectivas para uso energético. A energia da biomassa nada mais é do que a energia solar armazenada através do metabolismo da planta pela fotossíntese (IPT, 1992). Isto significa que quanto maior for o crescimento da massa vegetal num período curto de tempo, mais eficiente será o aproveitamento da energia solar pela planta. Neste sentido, as gramíneas forrageiras apresentam crescimento mais acelerado que outras fontes vegetais, como a madeira.

Diante destas características promissoras para o uso energético, iniciou-se na década passada um programa desenvolvido no IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas-SP), para a produção de energia renovável através da biomassa de capim elefante. Este programa é dividido em sub-programas, sendo este presente trabalho inserido em um deles, que é o de selecionar genótipos de capim elefante eficientes em produção de biomassa e contribuição da FBN, com consequência positiva no balanço energético final da cultura, melhorando sua capacidade de produzir carvão vegetal. Também foi parte constituinte desse sub-programa, fazer a caracterização qualitativa dos materiais, em relação a composição de fibras, e adequar os teores de nutrientes para que os mesmos não sejam limitantes para a produção à nível de campo, e também não sejam limitantes à nível industrial, porque em concentrações elevadas, esses nutrientes fariam com que o capim elefante perdesse qualidade para ser carvoejado.

Nos últimos anos esse programa obteve o apoio e incentivo da iniciativa privada, com a entrada e participação de uma empresa do ramo de siderurgia, a SAMARCO Mineração S.A. A intenção da mesma é substituir o carvão mineral utilizado na produção da pelota de ferro (5% da pelota), que é todo importado da África do Sul, por um “carvão” que seja produzido através de capim elefante. Por sua vez, o aço produzido com carvão vegetal a partir de biomassa seca de capim elefante teria um melhor valor de mercado, pelo fato de ser mantenedora da qualidade do ambiente, não contribuindo com o efeito estufa, e mais ainda, melhorando a qualidade ambiental, pois estaria deixando de queimar combustível fóssil, substituindo-o por um combustível que apenas recicla o carbono que retirou da atmosfera. Esse aço seria denominado então de “aço verde”.

Vários fatores estão envolvidos com relação a essa troca do carvão mineral por carvão vegetal de capim elefante. Utilizando a empresa Samarco Mineração S.A. como exemplo para essa troca, tem-se os seguintes dados: A mesma importa por ano, da África do Sul, 200 mil toneladas de carvão mineral, a custo de US\$ 100 a tonelada, o que daria US\$ 20.000.000. Por outro lado, com o teor de carbono em torno de 42% da matéria seca do capim elefante, com uma produtividade de 30 Mg. MS. ha<sup>-1</sup>. ano<sup>-1</sup>, teria-se um acúmulo de 12,6 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de C. Considerando um aproveitamento de 30% da biomassa na transformação em carvão, deduz-se que cerca de 3,8 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de C derivado de capim elefante possui potencial para substituir o carvão mineral (Urquiaga et al., 2004). Fazendo o cruzamento com a quantidade importada de carvão mineral (200.000), conclui-se que seriam necessárias 84.000 Mg.ano<sup>-1</sup> de C de capim elefante para substituir o carvão mineral, o que necessitaria, com a produtividade de 30 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de MS, de 12.000 hectares de capim elefante (Urquiaga et al., 2004). Dividindo-se os US\$ 20.000.000 por 12.000 ha, poderia se gastar US\$ 1.600 ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, na produção de capim, valor esse muito acima do necessário para a produção.

Portanto, através dos cálculos acima descritos, a empresa Samarco Mineração S.A. tem a possibilidade de lucrar em três vias. Economia de custos na troca carvão mineral x carvão vegetal; maior valor de mercado por produzir um “aço verde”; e ganho de créditos de carbono pelo fato de não mais retornar a atmosfera, o carbono que estava imobilizado na forma de carvão mineral. Junta-se a isso o balanço energético da cultura, superior ao balanço utilizando carvão mineral. Esse balanço, da produção de capim

elefante a nível de campo, é da ordem de 24 (24 Mcal gerada/1 Mcal gasta), sendo ainda mais positiva que a cultura da cana-de-açúcar, sabidamente uma cultura de elevado balanço energético, em torno de 12 Mcal gerada/1 Mcal gasta. O balanço diminuirá quando for contabilizado o gasto com o carvoejamento do capim elefante, sendo necessário o conhecimento desse valor para que se possa obter um balanço com alta precisão.

Uma grande fonte auxiliadora na possibilidade do capim elefante ser usado com fins energéticos, é a possível contribuição da fixação biológica de nitrogênio (FBN), que seria uma ferramenta relevante para a diminuição dos custos de produção. Estudos de FBN associada a capim elefante ainda são incipientes, bem como os estudos e ocorrência de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> associadas ao mesmo.

### **2.3. A importância da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) na Cultura de Capim Elefante**

Os estudos no Brasil sobre o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em gramíneas, obtiveram grande avanço em plena revolução verde, num momento em que a maioria dos países industrializados buscava auto-suficiência de alimentos através do uso maciço de fertilizantes nitrogenados na agricultura. Países como o Brasil intensificaram as pesquisas em fontes alternativas de nitrogênio, buscando diminuir a dependência pelos adubos nitrogenados, uma vez que a crise energética havia elevado os custos do produto e o mesmo não era subsidiado no Brasil. A associação de bactérias fixadoras de nitrogênio com gramíneas ganhou enorme importância, principalmente, com a descoberta de que bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Azospirillum* colonizavam os tecidos internos das raízes, indicando que sua interação com a planta poderia resultar em uma associação com maior potencial de exploração agrícola do que as associações de várias bactérias diazotróficas com a rizosfera dessas plantas (Döbereiner e Day, 1975). A partir desse conhecimento, diversos grupos mundiais de pesquisa se interessaram pela associação gramíneas/bactérias diazotróficas, o que culminou com a identificação de seis espécies de *Azospirillum* nos últimos 20 anos (Baldani et al., 1998a). Neste período foram gerados conhecimentos sobre a ecologia, fisiologia e genética, assim como do processo de infecção e colonização em cereais, principalmente as espécies *A. lipoferum* e *A. brasilense* (Baldani et al., 1997a). O grande desafio desta associação foi a busca imediata de resultados práticos de resposta à inoculação, entretanto, não foram considerados aspectos como estirpes, genótipos ou o ambiente (Boddey e Döbereiner, 1988). Desse modo, os primeiros resultados não foram relevantes devido a inconsistência e a falta de reprodutibilidade dos dados obtidos nos estudos de inoculação em cereais com *Azospirillum* conduzidos no Brasil e outros países (Baldani et al., 1987, Okon et al., 1995).

Uma associação que tem despertado bastante o interesse mundial refere-se àquela envolvendo gramíneas e bactérias diazotróficas endofíticas obrigatórias, que vivem no interior da planta (Döbereiner, 1992). A capacidade destas bactérias de colonizar nichos específicos no interior dos tecidos das plantas, onde permanecem protegidas das altas taxas de oxigênio (inibitória para a atividade da enzima nitrogenase) e possivelmente com carbono mais prontamente disponível, sugere uma associação bastante similar a da simbiose rizóbio/leguminosa, embora não possa ser classificada como endossimbiótica (Olivares et al., 1997). Como exemplo, pode-se citar a associação de algumas variedades de cana-de-açúcar com as bactérias diazotróficas endofíticas *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (Baldani et al., 1998b), onde se acredita que até 70% do N acumulado

na planta seja proveniente da fixação biológica de nitrogênio (Urquiaga et al., 1992). Vale ressaltar que estes resultados são baseados somente na seleção de genótipos mais eficientes, e que ainda existe a possibilidade de aumentar a eficiência da associação através da inoculação de estirpes endofíticas selecionadas ou geneticamente modificadas durante o processo de micropropagação das plantas. Resultados bastante promissores também foram observados em arroz inoculado com bactérias diazotróficas endofíticas (Baldani, 1996).

A capacidade que as gramíneas forrageiras tem em se associar com bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, utilizando o nitrogênio fixado pelas mesmas, ainda não está bem esclarecida. Como dito anteriormente, bactérias diazotróficas endofíticas já foram isoladas de raízes e parte aérea de diversas gramíneas como trigo, sorgo, milho, arroz, cana-de-açúcar e forrageiras. Em capim elefante, *Gluconacetobacter diazotrophicus* foi isolada do genótipo Cameroon. Como a propagação em capim elefante é principalmente de forma vegetativa, estes microrganismos não sobrevivem no solo, infeccionando as plantas com dificuldade em tais situações. Isto é um indicativo de que uma seleção de estirpes se faz necessária para se estabelecer outros patamares de contribuição da FBN, pois estes microrganismos evoluíram com as plantas em condições de campo e sua competição com estirpes selvagens parece ter sido bem sucedida no sentido de se estabelecer esta associação.

Em estudo avaliando três genótipos de *Brachiaria* (*B. humidicula*, *B. decumbens* e *B. brizantha*) coletados em Goiás, para a quantificação da população de *Azospirillum* spp., *A. amazonense*, *Herbaspirillum* spp. e *Gluconacetobacter diazotrophicus*, Reis Jr. et al (1999) não detectaram a presença dos microrganismos *G. diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp., encontrando somente espécies do gênero *Azospirillum*, até valores de 10<sup>6</sup> por grama de matéria fresca. Ocorreu crescimento bacteriano no meio semi-seletivo utilizado (JNFb) para o crescimento de *Herbaspirillum*, porém, após estudos morfológicos, ficou comprovado que as bactérias que cresceram nesse meio eram do gênero *Azospirillum*. Mais uma vez foi evidenciado que além dos meios semi-sólidos não possuem caráter seletivo, a metodologia de NMP não foi capaz de detectar a presença dos endofíticos obrigatórios, ou então que a FBN presente nos três genótipos de *Brachiaria* estudados é realizada por endófitos facultativos. No mesmo estudo não foram obtidos isolados da parte aérea, somente de raízes, o que gera dúvidas sobre a qualidade da desinfestação e/ou eficiência metodológica, demonstrando que para a elucidação das dúvidas, a metodologia utilizada poderia ser substituída por outras de maior precisão.

A presença de bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Herbaspirillum*, nas plantas fibrosas C<sub>4</sub> *Spartina pectinata*, *Miscanthus sinensis*, *Miscanthus sacchariflorus* e *Pennisetum purpureum* Schum., foi detectada por Kirchof et al (2001), utilizando meio semi-sólido livre de nitrogênio. Com base em propriedades fisiológicas, análise filogenética comparando a sequência 16s rDNA e hibridização DNA:DNA, os isolados se distinguiram acentuadamente das outras espécies *Herbaspirillum* spp., e foram então agrupados em uma nova espécie, denominada *Herbaspirillum frisingense*. A habilidade em fixar nitrogênio foi testada por amplificação em PCR do gene nifD e pela técnica de redução de acetileno. Nos isolados, foi observada a presença da bactéria nas quatro plantas estudadas, sendo que em *Pennisetum* e *Miscanthus sinensis* foi observada em raízes lavadas, em *S. pectinata* em raízes e caules lavados, e em *M. sacchariflorus* em folhas, raízes e caules lavados (Kirchof, 2001).

O papel destes microrganismos ainda não está bem definido (Boddey & Dobereiner, 1988). Estudos onde foi empregada a técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N para a estimativa de contribuição da FBN em gramíneas forrageiras (Boddey &

Victoria, 1986), registraram contribuições da FBN da ordem de 10% em *Paspalum notatum* cv. Batatais, e de 24 a 38% para ecótipos de *Panicum maximum* e 30 a 40% para *B. humidicula* e *B. decumbens*, respectivamente.

Para capim elefante e outras forrageiras, os estudos são bastante incipientes em relação à ocorrência de bactérias fixadoras de nitrogênio. Em dois experimentos realizados no campo em dois solos de texturas distintas, Quesada (2001) encontrou resultados bastante promissores para a contribuição da FBN na cultura. E em estudo para se quantificar a população bacteriana dos materiais, através da técnica de NMP (Dobereiner, 1995), encontrou-se a presença do endofítico facultativo *Azospirillum amazonense* e o obrigatório *Herbaspirillum spp*, para as duas colheitas do experimento realizado em Planossolo, e para a colheita realizada em Argissolo, ambos na quantidade de  $10^4$  por grama de matéria fresca, e em quantidades muito maiores na raiz em relação a parte aérea.

A baixa densidade populacional de bactéria encontrada pelo autor na parte aérea, no meio LGI, semi-seletivo para o endófito facultativo *Azospirillum amazonense*, fornece um indício de que esse microrganismo ou é predominantemente de rizosfera, e que a presença marcante nas raízes pode estar relacionada com uma desinfestação mal realizada, ou então que o método não foi capaz de detectar a presença do microrganismo na parte aérea. Esse fato vem corroborar a idéia de que a metodologia de NMP não é eficiente quando se quer estudar um verdadeiro comportamento do microrganismo quanto ao seu habitat específico, e que metodologias que utilizem técnicas de microscopia e genéticos/moleculares são mais eficientes quando se quer saber o real habitat do mesmo. Porém essas metodologias são mais dispendiosas, e a tomada de decisão sobre qual metodologia deva ser utilizada tem que se basear em aspectos que serão abordados mais adiante.

Tentando evidenciar diferenças na qualidade dos resultados, bem como no tempo de execução do trabalho, de métodos de detecção imunológica em relação ao método de NMP, Reis et al., (2000) testaram o uso da metodologia de ELISA no capim elefante, em uma estirpe de *Herbaspirillum seropedicae* e *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. Dois meses após a inoculação, as estirpes foram detectadas no rizoplane de capim elefante em altas densidades, da ordem de  $10^7$  células por grama de matéria fresca. A estirpe de *H. rubrisubalbicans* foi hábil também em colonizar o interior de raízes, sendo que ambas não foram detectadas no tratamento controle não inoculado, no limite de detecção do método ELISA (Reis et al., 2000). Ficou evidenciado no trabalho em questão, que métodos imunológicos são eficientes para se investigar a interação planta/microrganismos, e que poderiam ser utilizados para substituir a metodologia de NMP, que leva mais tempo para quantificar bactérias fixadoras de nitrogênio em materiais de planta.

#### **2.4. Técnicas de Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio em Gramíneas**

Atualmente, diversas técnicas vêm sendo utilizadas para determinação da contribuição da fixação biológica de nitrogênio em gramíneas. Entre elas destacam-se as diferenças de N-total (Boddey, 1987), o balanço de nitrogênio no sistema solo-planta (Bremner, 1965), redução de acetileno (Burris, 1975) e também técnicas isotópicas, tais como:  $N_2$  marcado com  $^{13}N$  ou  $^{15}N$  (Meeks et al., 1978; Ruschel et al., 1978), a diluição isotópica de  $^{15}N$  (Vallis et al., 1967; Boddey et al., 1994) e a abundância natural de  $^{15}N$  (Shearer & Kohl., 1986), sendo as mesmas descritas a seguir.

### **2.4.1 Diferença de N-total do sistema solo-planta**

Esta metodologia foi uma das primeiras usadas para estimar a contribuição da fixação biológica de nitrogênio em vegetais. Como todas as demais metodologias, sua eficiência para estimar a contribuição desta fonte às plantas é maior quanto maior for o nível desta contribuição.

Os princípios desta técnica baseiam-se em cultivar uma planta referência (não fixadora) e a planta teste (fixadora) em meios pobres em nitrogênio. Assim, estando o solo e/ou substrato pobre ou livre de nitrogênio, as únicas fontes de nitrogênio existentes seriam a própria semente, a disponível no solo/substrato, e o ar. Como premissa básica, esta técnica assume que tanto a planta teste como a testemunha acumulam a mesma quantidade de nitrogênio derivado do meio de cultivo (solo, substrato, etc). Estando as plantas crescendo em condições e períodos idênticos, analisa-se o N acumulado pelas duas plantas, fixadora e testemunha, separadamente, e subtraindo-se o N acumulado pela planta teste, do N acumulado pela planta testemunha obtém-se por diferença a contribuição da FBN para a planta teste. O percentual de contribuição desta fonte às plantas é determinado calculando-se esta proporção (Peoples et al., 1989).

Como relatado anteriormente, esta técnica se mostra mais eficiente para plantas que apresentem maior nível de contribuição da FBN, assim, sua aplicação é mais indicada para plantas da família das leguminosas, que apresentam esta característica. Deve-se ressaltar que esta técnica normalmente apresenta pouca precisão nos resultados, e um percentual subestimado da contribuição da FBN, uma vez que se considera que a planta controle não recebe contribuição de N desta fonte.

### **2.4.2 Balanço de N-total do sistema solo-planta**

Esta técnica é bastante difundida no meio científico, e baseia-se em medir as entradas e saídas de N no sistema solo-planta-atmosfera, calculando-se a diferença entre ambos, obtendo-se ganhos de N quando houver fixação. O balanço deveria incluir todas as entradas e saídas de N, incluindo-se fertilizantes, chuvas, água de irrigação, lençol freático, lixiviação, desnitrificação, volatilização de amônia, etc., monitorando-se assim todas as formas sólidas, dissolvidas e gasosas de nitrogênio (Boddey, 1987). Entretanto, tais medições são difíceis de ser obtidas na prática, principalmente o monitoramento das formas gasosas de N e muitas vezes de sua lixiviação.

Solos ricos em N tendem a aumentar os erros da estimativa da FBN, pois o N acumulado nas plantas é muito inferior ao nitrogênio total presente no solo. Erros associados a amostragem e análise de N afetam grandemente o cálculo do balanço. Um erro de 5%, que é comum, pode corresponder a 100-200 kg ha<sup>-1</sup> de N (Alves, 1996). O erro da estimativa do balanço, é o somatório dos erros envolvidos em cada estimativa de entrada/saída de N, e de todas as fontes/drenos (Boddey, 1987). Devido a esta variabilidade, é desejável a continuação do experimento por longos períodos para que o erro seja inferior a magnitude da mudança do conteúdo de N em um determinado período.

O uso de substratos pobres em N total em relação a um solo normal (vermiculita, horizontes inferiores de solos tropicais, etc.), aumentam a sensibilidade do método, não obstante as condições de crescimento das plantas serem atípicas. Preferivelmente, os experimentos de quantificação com balanço de N devem ser de longa duração em solos pobres em N e em condições de campo, obtendo-se estimativas mais reais das entradas e saídas de N no sistema. Porém, são poucos os estudos de balanço de N em campo que

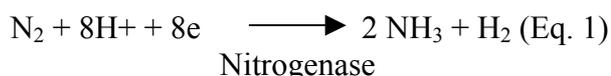
monitoram todas essas entradas, e podem ser considerados verdadeiros balanços de N (Boddey, 1987).

Apesar de teoricamente simples e de não exigir equipamentos sofisticados, a metodologia apresenta as desvantagens de não distinguir diretamente se houve a incorporação na planta de qualquer N<sub>2</sub> que tenha sido fixado e de exigir a manutenção do experimento por vários cultivos consecutivos.

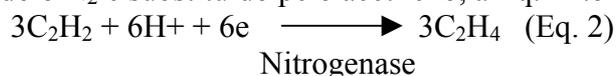
### 2.4.3 Redução de acetileno

A redução de acetileno é uma técnica utilizada normalmente para se detectar a atividade da enzima nitrogenase, responsável pela fixação biológica de nitrogênio. A atividade desta enzima é um forte indicativo da contribuição da FBN para as plantas, e tem como principais vantagens sua simplicidade e sua alta sensibilidade nesta detecção. Sua utilização como método de quantificação da FBN para as plantas é muito questionada por diversos autores, que ressaltam que se trata de uma medida pontual, e como se sabe a taxa de contribuição da FBN apresenta sazonalidade ao longo do dia. Outro problema citado por estes autores é que a perturbação do sistema pode afetar de forma direta a estimativa (Peoples et al., 1989).

A nitrogenase é a enzima responsável pela redução biológica do nitrogênio em amônia, e o princípio da técnica baseia-se justamente no fato do acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) ser reduzido pela nitrogenase a etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), da forma que segue:



Quando o N<sub>2</sub> é substituído pelo acetileno, a Eq. 1 torna-se:



O etileno é o único produto da reação de redução de acetileno, não inibindo a atividade da enzima, nem sendo reduzido pela nitrogenase (Boddey, 1987). A produção de etileno é então proporcional a atividade da nitrogenase do sistema na relação 3:1.

O sistema a ser testado (planta inteira, partes de planta, nódulos, colônias de bactérias em vidros, sistema solo+planta) deve ser exposto a uma atmosfera contendo acetileno em um ambiente fechado (garrafa, saco plástico, etc.), sendo a proporção de acetileno/ar geralmente de 10 a 15% v/v. Após um período de incubação, retiram-se amostras da atmosfera para análise por cromatografia gasosa.

A aplicação da técnica de redução de acetileno (ARA) exige algumas premissas básicas, tais como: que o acetileno sature o sítio ativo da nitrogenase; não haja produção ou consumo de etileno na amostra e que o tempo de incubação seja suficiente para ocorrer à redução de acetileno a etileno e a posterior liberação deste para a câmara de incubação.

O etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) é um gás com comportamento similar a um hormônio vegetal, que pode ser produzido por plantas, fungos e bactérias. Simultaneamente, microrganismos oxidantes de alcanos, como por exemplo as bactérias do gênero *Mycobacterium*, removem o etileno do solo, especialmente em solos úmidos. A presença de acetileno, no entanto, inibe essa oxidação do etileno (De Bont, 1976, citado por Oliveira, 1994). Ao se usar o método da redução de acetileno sem controlar a produção endógena de etileno, estaremos superestimando a ARA, pois o etileno endógeno que antes era removido pelas bactérias oxidantes será mantido no sistema e

computado como resultado da atividade da nitrogenase. A produção e decomposição de etileno variam de solo para solo, sendo difícil determinar um valor de erro de ARA causado pelo etileno endógeno (Witty, 1979). Witty (1988) usando acetileno marcado ( $^{14}\text{C}_2\text{H}_2$ ), detectou o aparecimento de etileno não marcado em amostras incubadas anaerobicamente, concluindo que o uso de “amostras de referência” sem acetileno são sem valor na determinação de etileno endógeno e propõe a utilização de acetileno marcado como controle. Tal tratamento, entretanto, é caro e requer manejo cuidadoso. Um tratamento simples para se avaliar a produção de etileno endógeno, é a aplicação de 100 a 500  $\mu\text{l L}^{-1}$  de  $\text{C}_2\text{H}_2$  à amostra controle, pois essa baixa concentração é suficiente para inibir completamente a oxidação de etileno, resultando porém em uma desprezível redução de acetileno (Nohrstedt, 1983)

Considerando as equações de redução do acetileno (Eq. 2) e do nitrogênio (Eq. 1), um sistema capaz de reduzir uma molécula de  $\text{N}_2$  a duas de amônia reduziria três moléculas de acetileno a três de etileno, considerando-se o mesmo número de elétrons. A relação teórica de 3:1 entre a atividade de redução de acetileno (ARA) e a fixação de nitrogênio ( $\text{C}_2\text{H}_2 : \text{H}_2$ ) nem sempre é encontrada, sendo relatadas variações de 3 até 25:1 em solos inundados. Normalmente, a relação encontrada é ao redor de 4:1 (Burris, 1975). Essa diferença encontrada entre a relação teórica e a observada, deve-se principalmente ao desvio de parte de ATP da nitrogenase da redução de acetileno para a produção (evolução) de hidrogênio (Hardy et al., 1971). Quando a enzima é submetida a uma atmosfera com acetileno, todo o ATP da nitrogenase é utilizado para a redução de acetileno, sem desvio para a produção de  $\text{H}_2$ . A variação desta relação é devida ao organismo analisado, estágio e condições de crescimento (Walker & Yates, 1978). Problemas como difusão de gases em solos inundados, produção de etileno endógeno e perturbação do sistema podem influenciar nos valores da relação molar. Esta variação é um dos principais motivos pelos quais a técnica de redução de acetileno é considerada apenas qualitativa pela maioria dos autores.

#### 2.4.4 Diluição isotópica de $^{15}\text{N}$

Atualmente a técnica disponível mais adequada para quantificar a FBN numa cultura é a diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$  (Boddey & Urquiaga, 1992). Esta técnica tem a vantagem de ser integrada, permitindo quantificar a contribuição da FBN no ciclo da cultura, do plantio até a colheita, e de se avaliar o N fixado que foi incorporado dentro da planta. Por esta técnica então, pode-se medir o benefício da FBN durante o crescimento das plantas (Peoples et al., 1989).

A técnica baseia-se na alteração da proporção natural entre os isótopos  $^{15}\text{N}$  e  $^{14}\text{N}$ , acrescentando-se ao substrato das plantas a serem testadas adubos nitrogenados artificialmente enriquecidos (át.%  $^{15}\text{N} > 0,3663$ ) em proporção conhecida, ou seja, adubos marcados. Plantas que só obtenham nitrogênio do solo marcado possuirão um enriquecimento em  $^{15}\text{N}$  semelhante ao do solo marcado. Por outro lado, plantas que obtenham além do N marcado proveniente do solo, N atmosférico (não marcado), sofrem uma diluição no seu enriquecimento em  $^{15}\text{N}$ . Quanto maior a magnitude da diluição, maior a quantidade de N atmosférico incorporado e, por conseguinte, maior a contribuição da FBN.

A aplicação da técnica de diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$  depende da premissa básica de que as plantas fixadora e testemunha devam absorver nitrogênio do solo com a mesma marcação. Para satisfazer essa condição é necessário ou que a marcação de  $^{15}\text{N}$  do solo seja constante em profundidade e em tempo ou que as plantas fixadora e testemunha tenham marcha de absorção de nitrogênio do solo idênticas (Boddey, 1987).

Além disso, outras entradas de nitrogênio no sistema solo-planta como água de irrigação, chuvas, agroquímicos, fertilizantes nitrogenados devem ser de magnitudes desprezíveis, ou iguais tanto para a planta fixadora de N<sub>2</sub> como para a planta testemunha. O nitrogênio total e o enriquecimento de <sup>15</sup>N contido nas sementes e mudas devem ser quantificados e levados em consideração, especialmente em leguminosas que forem colhidas precocemente, pois neste caso tais valores podem ser de tal magnitude que diluam (ou concentrem, no caso de semente enriquecida) a composição isotópica das plantas assim colhidas (Witty et al., 1991). A planta testemunha não deve fixar nenhum nitrogênio, ou a quantidade de nitrogênio fixado deve ser desprezível em relação à planta teste.

A quantificação (%) da Fixação Biológica de Nitrogênio através da técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N é calculada conforme a equação abaixo:

$$FBN = 100 * \frac{(1 - \text{átomos\% em exc. na planta teste})}{\text{átomos\% em exc. na testemunha}}$$

Onde: átomos% em excesso = át.% <sup>15</sup>N total - 0,3663 % .

As estimativas da fixação biológica de nitrogênio usando-se a técnica de diluição isotópica de <sup>15</sup>N com espécies não leguminosas são relativamente recentes. Em gramíneas, a técnica tem sido aplicada em forrageiras (Boddey & Victoria, 1986), cana-de-açúcar (Lima et al., 1987; Reis Júnior, 1998) e arroz (Oliveira, 1994; Campos, 1999). E nestes casos, devido a contribuição da FBN normalmente ser menor para estas plantas, a escolha da planta controle deve apresentar ainda maior rigor.

### **Escolha da planta controle**

A utilização do crescimento simultâneo de uma planta referência (não fixadora) com a planta teste é justificado para que esta planta possa ser um extrator natural do enriquecimento de <sup>15</sup>N disponível no solo. Esta característica possibilita a “amostragem” do solo de forma integrativa e não somente de forma pontual como seria o caso da amostragem direta do solo pura e simples. No entanto, para que esta planta controle possa realmente expressar esta condição da melhor forma possível, algumas características são necessárias.

Caso houvesse segurança em se afirmar que a marcação em <sup>15</sup>N do solo esteja estável em profundidade e ao longo do tempo, qualquer planta não-fixadora poderia ser utilizada como testemunha. Entretanto, tal estabilidade é extremamente difícil de se obter em condições de campo, devido a dinâmica do nitrogênio no solo. A diferença em enriquecimento de <sup>15</sup>N em profundidade e distância do local de aplicação do adubo marcado (variação espacial) pode ser resultado da não homogeneização do solo com o adubo. Plantas que explorem diferentes volumes de solo absorverão N com diferentes enriquecimentos, se crescidas em um solo assim marcado, levando a estimativas errôneas da FBN (Boddey & Victoria, 1986; Peoples et al., 1989). Visando-se eliminar ou reduzir este erro, algumas alternativas têm sido propostas. No caso de leguminosas, a utilização de testemunhas da mesma espécie botânica da planta teste, porém de variedades não nodulantes parece ser a solução mais apropriada. Não havendo variedade não fixadora disponível, a testemunha deve possuir um sistema radicular semelhante (da mesma família ou espécie botânica), que explorem o mesmo volume de solo. Em

forrageiras, as espécies *Brachiaria arrecta* e *Panicum maximum* cv. KK-16 mostraram-se adequadas para servir de controle não fixador em condições aeróbicas, face aos mínimos valores de contribuição da FBN relatados (Boddey & Victoria, 1986). Oliveira et al (1994) utilizaram várias plantas testemunhas de espécies diferentes para quantificar a FBN em feijão inoculado e concluíram que a utilização de mais de uma testemunha é uma boa estratégia para encontrar a melhor testemunha. Entretanto, quando estas condições não são viáveis, a melhor solução é a máxima homogeneização da marcação do solo em profundidade e tempo.

Uma alternativa para atenuar-se essa mudança temporal da marcação de  $^{15}\text{N}$ , é a utilização de material de liberação lenta de N (Boddey, 1987), como substratos de carbono como sacarose, glicose, celulose (Boddey, 1987) e matéria orgânica marcada proveniente de restos vegetais resultantes de experimentos marcados com  $^{15}\text{N}$  (Urquiaga et al., 1992). Outra possibilidade é a aplicação de doses parceladas de  $^{15}\text{N}$  (Boddey & Victoria, 1986), que tornam a marcação mais constante.

Ao se adicionar adubo nitrogenado marcado a um solo, a porcentagem de átomos de  $^{15}\text{N}$  na solução do solo torna-se alta. Entretanto, o N orgânico não marcado que é mineralizado dilui a porcentagem de átomos de  $^{15}\text{N}$  na fração mineral do nitrogênio do solo, reduzindo sensivelmente a marcação após a aplicação. Esta queda na marcação continua em menor intensidade por algum tempo (dependendo da temperatura, teor de matéria orgânica, umidade, etc.), quando a marcação do solo torna-se praticamente constante, ou seja, o enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  na fração potencialmente mineralizável torna-se igual ao enriquecimento na fração mineral do nitrogênio do solo. Diz-se que nesta fase o solo está estável em  $^{15}\text{N}$ , podendo então ser utilizado em estudos da quantificação da FBN (Boddey, 1987).

#### 2.4.5 Uso de $^{15}\text{N}_2$

Na natureza existem dois isótopos estáveis do nitrogênio, o de massa 14 e o de massa 15. No ar, a proporção média em que são encontrados é de 99,6337 e 0,3663 % de átomos de  $^{14}\text{N}_2$  e  $^{15}\text{N}_2$ , respectivamente (Junk & Svec, 1958), sendo essa proporção denominada abundância natural de  $^{14};^{15}\text{N}_2$ . Pequenas variações nesta relação ocorrem no solo e nas plantas (Shearer & Kohl, 1986). Compostos nitrogenados com proporções superiores ou inferiores a da abundância natural podem ser produzidos e estão comercialmente disponíveis, podendo o gás  $\text{N}_2$  enriquecido com  $^{15}\text{N}$  ser adquirido ou produzido em laboratório a partir de sais de amônio marcado.

A exposição de plantas a uma atmosfera com uma composição isotópica de  $^{15}\text{N}_2$  superior a normal e a posterior incorporação de  $^{15}\text{N}_2$  aos tecidos vegetais, é uma prova definitiva de que as plantas se beneficiam da fixação biológica de nitrogênio (Boddey, 1987). Para a utilização da técnica, é necessário que o  $\text{N}_2$  marcado seja puro, livre de compostos nitrogenados, e que a marcação obtida nas plantas seja suficientemente alta para não ser confundida com variações na abundância natural.

A construção de câmaras de incubação e crescimento de sistemas solo-planta é um dos principais obstáculos para a aplicação desta técnica, devido a necessidade de controlar vazamentos de gás nas câmaras. Um outro problema encontrado nesses estudos é a manutenção de uma atmosfera normal para as plantas, controlando-se  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , transpiração, intensidade de luz, temperatura, etc., visando manter o metabolismo vegetal normal. Até o momento, não tem sido possível cultivar plantas nestes sistemas por um ciclo completo da cultura, sendo o tempo máximo de exposição ao  $^{15}\text{N}_2$  inferior a duas semanas. A necessidade de se obter marcações altas nas plantas em períodos relativamente curtos de tempo, implica em manter uma atmosfera com alto

enriquecimento em  $^{15}\text{N}_2$ , que aliada aos elevados custos dos compostos enriquecidos, tornam os ensaios com  $^{15}\text{N}_2$  extremamente caros.

#### 2.4.6 Abundância natural de $^{15}\text{N}$

Nos últimos anos a técnica da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ ) vem ganhando destaque ao nível de campo. Esta técnica, baseia-se no fato de que geralmente, o N do solo é levemente enriquecido com o isótopo  $^{15}\text{N}$  em comparação ao  $\text{N}_2$  do ar (Shearer & Kohl, 1986). O nitrogênio do ar apresenta cerca de 0,3663% de  $^{15}\text{N}$  e o restante (99,6337%) de  $^{14}\text{N}$  (Junk & Svec, 1958 citado por Alves, 1996). Porém, devido a discriminação isotópica que ocorre durante as transformações do nitrogênio no sistema solo-planta, ambos podem apresentar valores de  $^{15}\text{N}$  um pouco maiores que os encontrados na atmosfera (Shearer & Kohl, 1986). Estas variações são extremamente pequenas, convencionando-se então que cada unidade de delta  $^{15}\text{N}$  seria a abundância natural dividida por mil, ou seja 0,0003663 átomos % de  $^{15}\text{N}$  em excesso. Espécies que são capazes de obter do ar a maior parte do nitrogênio necessário para sua nutrição, apresentarão valores de  $\delta^{15}\text{N}$  bem próximos a zero, uma vez que a maior parte do N virá do ar, que é o padrão da técnica e possui 0,3663 % de  $^{15}\text{N}$ , ou seja, zero unidade de delta  $^{15}\text{N}$ . Por outro lado, as espécies não fixadoras crescendo no mesmo solo terão valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mais elevados e próximos aos do solo, uma vez que toda ou a maior parte do N necessário para o seu desenvolvimento é derivada deste.

Esta técnica, como todas as outras utilizadas na determinação da contribuição da FBN para as plantas, também apresenta limitações, exigindo algumas considerações. Assim como as outras técnicas isotópicas, depende da premissa básica de que as plantas fixadoras e não fixadoras, crescendo no mesmo solo, absorvam nitrogênio do solo com a mesma marcação com  $^{15}\text{N}$  (Shearer & Kohl, 1986). Esta limitação pode ser contornada selecionando-se espécies-referência, com desenvolvimento radicular e demanda de N semelhantes à planta avaliada. Outra limitação do método consiste no alto custo das análises, e a necessidade de um maior cuidado com a manipulação das amostras (Boddey, 1987). Além das dificuldades descritas acima, é importante considerar também os valores de fracionamento isotópico (valor B) das plantas fixadoras crescendo em meios livres de N combinado. Estas variações se dão ao nível de espécie da planta, das estirpes das bactérias diazotróficas envolvidas, e do estágio e condições de crescimento. Sendo assim, é necessário que se utilize um fator de correção, (valor B), que possa expressar a discriminação isotópica de  $^{15}\text{N}$  feita por cada espécie (Peoples et al., 1989). Por outro lado, as diferenças que possam existir na exploração do volume do solo pelas raízes das plantas teste e controle e as diferenças na curva de absorção de nutrientes entre elas, são fatores que permitem sugerir o uso de mais de uma espécie como referência (Shearer & Kohl, 1986). Ainda assim, o uso desta técnica com os devidos cuidados descritos acima, normalmente apresenta altas correlações com a técnica de diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$  com aplicação de  $^{15}\text{N}$ -fertilizante na marcação do solo que é, atualmente, a técnica mais difundida e aceita para fins de quantificação da contribuição da FBN para as plantas (Peoples et al., 1989).

O estudo da Fixação Biológica de Nitrogênio para as gramíneas, é de fundamental importância para que se saiba a real contribuição da FBN nas mesmas, para que no futuro se possa potencializar a produtividade e viabilizar novas formas de manejo. Esta quantificação poderá então viabilizar novas tomadas de decisões, visando a redução de custos. A pesquisa sobre a FBN vem evoluindo bastante ao longo dos

anos, mas sabe-se que há um longo caminho até que se encontre um sistema produtivo que realmente possa ser considerado sustentável (Resende, 2000)

## 2.5. Extração de Macronutrientes em Capim Elefante

O capim elefante é reconhecidamente uma gramínea forrageira de alto potencial produtivo, sendo então de elevada extração de nutrientes do solo, mais ainda quando é utilizado para corte, como é o caso do presente estudo. A produtividade das pastagens brasileiras, além de baixa, é marcadamente estacional, sendo o nitrogênio e o fósforo os elementos que mais limitam a produção, e além desses, o potássio também se reveste de importância muito grande.

As deficiências nutricionais limitantes ao estabelecimento e produção de capim elefante têm sido associadas a fatores relacionados com acidez do solo, particularmente toxidez de alumínio e baixa disponibilidade de cálcio e magnésio, e a deficiência generalizada de fósforo. Outros nutrientes, como nitrogênio, potássio e enxofre podem limitar o estabelecimento de gramíneas.

Em trabalho realizado por Gallo et al (1974), avaliou-se a composição química inorgânica das principais forrageiras encontradas no estado de São Paulo, sobressaindo os seguintes valores para 6 macronutrientes analisados em capim elefante: Potássio (K), de 1,84 a 3,39%; Cálcio (Ca), de 0,43 a 0,67 %; Magnésio (Mg), de 0,17 a 0,30%; Fósforo (P), de 0,161 a 0,249% ; Enxofre (S), de 0,102 a 0,154% e Nitrogênio (N), de 1,96 a 2,63%. Os autores concluíram que além de elevada dispersão, a concentração de alguns nutrientes estava abaixo da exigência dos bovinos.

Dentre os diversos elementos essenciais ao desenvolvimento e crescimento das plantas, se sobressai o nitrogênio, pelas suas funções relevantes na produção e síntese de aminoácidos. Apresenta-se em quantidades insuficientes na quase totalidade dos solos brasileiros, estando predominantemente ligado aos compostos orgânicos (98% do total). Como componente essencial da proteína, encontra-se nos resíduos de plantas, de animais e de microrganismos (Cruz et al., 1993). Como o N do solo apresenta-se na forma orgânica, é necessário para a sua liberação e absorção pelas plantas, que haja mineralização, processo pelo qual o nutriente se torna disponível para a absorção pelas plantas, e que envolve a participação de microrganismos.

O nitrogênio é constituinte da estrutura de proteínas e de ácidos nucleicos, sendo absorvido pelas raízes na forma de nitrato e amônio. Enquanto a maior parte do amônio tem de ser incorporada aos compostos orgânicos das raízes, o nitrato é móvel no xilema, podendo ser armazenado nos vacúolos das raízes ou das folhas. Porém, para o nitrato ser incorporado aos compostos orgânicos, necessita ser reduzido à amônia, mediado pelas enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, sendo a atividade da primeira marcadamente reduzida em plantas deficientes em molibdênio.

Quando o nitrogênio é suprido em quantidades subótimas, o crescimento da planta é retardado, sendo mobilizado nas folhas mais velhas, e retranslocado para as partes em crescimento, aparecendo como consequência a clorose e senescência das folhas mais velhas. Com um elevado suprimento de nitrogênio, a proporção de N solúvel, aminoácidos, amidas e nitratos tende a elevar-se, principalmente nas folhas, não significando necessariamente aumento no teor de proteínas, mas sim aumento no teor de N total e de “proteína bruta”.

A literatura sobre o efeito da adubação nitrogenada em capim elefante é vasta, e tem mostrado efeitos pronunciados na produção de matéria seca e proteína bruta. Entretanto, para que esses efeitos se evidenciem, há necessidade de que outros fatores, relativos a clima, solo, vegetação, etc. não sejam limitantes ao crescimento da planta.

Quando os fatores citados não são limitantes, pode-se afirmar que a produtividade do capim elefante é controlada pelo fornecimento de nitrogênio (Monteiro, 1994).

O fósforo ocorre nas plantas em quantidades menores do que o nitrogênio, o potássio e o cálcio. É um elemento que desempenha papel fundamental no armazenamento e transferência de energia pelas plantas, na atividade de membranas e na transmissão de caracteres hereditários (Malavolta et al., 1986), além de ser constituinte de uma série de compostos vitais ao metabolismo de vegetais. É um elemento móvel nos tecidos das plantas, sendo parte essencial de diversos açúcares envolvidos na fotossíntese, respiração, fixação biológica de nitrogênio e outros processos metabólicos, além de fazer parte de nucleotídeos e de fosfolípidos presentes nas membranas. Desempenha papel importante no metabolismo energético, devido à sua presença em ATP, ADP, AMP e pirofosfato.

Um dos maiores problemas no estabelecimento e manutenção das pastagens nos solos brasileiros (especificamente oxissolos e ultissolos, por serem os que mais predominam em nossos solos), reside nos níveis extremamente baixos de fósforo disponível e total. Soma-se à pobreza natural em fósforo dos nossos solos, a alta capacidade de adsorção desse elemento, em consequência da acidez e teores elevados de óxidos de ferro e alumínio do solo. É natural que, em tais circunstâncias, a adubação fosfatada seja necessária, contudo, a relação entre os custos de produção e o valor do produto animal ante o tempo requerido para o retorno na pecuária, bem como as alternativas agrícolas para o uso do solo, impõem sérias restrições aos maiores investimentos na adubação de pastagens (Lobato et al., 1986). Daí a necessidade de se buscar combinações adequadas de espécies forrageiras e doses, fontes e métodos de adubação fosfatada. A produtividade das pastagens brasileiras é baixa e marcadamente estacional, e nesse processo, o nitrogênio e o fósforo são os nutrientes que mais limitam a produção (França et al., 1986).

O potássio é o único cátion monovalente essencial para todas as plantas e o mais abundante no citoplasma celular, desempenhando várias funções na planta. Na forma de íon inorgânico, está presente dentro das células como importante soluto, participando juntamente com outros solutos inorgânicos na osmorregulação celular da atividade enzimática (Malavolta et al., 1986). É o cátion mais abundante na planta, sendo notável a diferença na velocidade de absorção quando comparado com outros elementos. Embora não se conheça compostos orgânicos com o potássio, sabe-se que o elemento é necessário para a ativação de uma série de enzimas presentes em vários processos metabólicos. É necessário ao desenvolvimento da clorofila, embora não constitua fração predominante na sua estrutura molecular, na absorção de CO<sub>2</sub>, na abertura estomática, bem como no regime hídrico das células e dos tecidos da planta. Sabe-se que plantas deficientes em potássio acumulam carboidratos e compostos nitrogenados solúveis, tem taxa respiratória aumentada e taxa de fotossíntese reduzida, em relação a plantas adequadamente supridas. O teor de potássio na planta está estreitamente correlacionado com resistência a determinadas doenças, a estresse de umidade, a baixa temperatura e ao acamamento de plantas.

Em capim elefante utilizado em sistema de corte, e também de pastagem, pouco se conhece sobre o efeito do potássio na produção de biomassa. A adubação potássica reveste-se de uma importância muito grande, especificamente quando a utilização da forrageira é feita sob sistema de corte. Por apresentar grande capacidade de produção de biomassa, a remoção desse nutriente devido ao corte e transporte para outras áreas, que não a de produção, acarreta geralmente em grandes problemas de desequilíbrio de potássio no solo. Em estudo sobre a adubação potássica, Vicente-Chandler et al (1959),

registraram que para a produção de 15 a 50 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de M.S., o capim elefante removeu entre 510 e 620 kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de potássio.

Como mencionado anteriormente, estudos comprovaram que algumas concentrações de elementos na planta de capim elefante, em vários experimentos realizados, estavam aquém da necessidade dos bovinos. Para a produção de carvão vegetal a partir de biomassa de capim elefante, alguns elementos tem uma grande importância na parte industrial, pois se estiverem em concentrações acima das desejáveis pela indústria, acarretarão em perda de qualidade do capim que será carvoeado. Essas concentrações desejáveis para o processo industrial são bem menores do que as concentrações necessárias para uma adequada dieta de bovinos, e é exatamente nesse contexto que está inserido o maior desafio da produção de capim elefante para a utilização como carvão vegetal. É necessário que os nutrientes estejam em concentrações suficientes para uma boa e/ou elevada produtividade no campo, ao mesmo tempo em que as concentrações de alguns nutrientes não podem ser elevadas o suficiente para que o capim perca qualidade industrial, sendo parte fundamental desse estudo a análise desses nutrientes e suas comparações com os setores de produção animal e industrial.

Soma-se a isso o custo final de produção do capim, que está amplamente relacionado com os gastos em adubação, que tem grande peso no balanço energético da cultura, que quanto mais positivo, melhor e mais eficiente será a energia produzida. Quanto menor e mais racionalizadas forem as quantidades e gastos feitos com adubação, menor será o custo de produtividade, maior será o balanço energético, e o capim não perderá em qualidade devido à excesso de concentração de determinados elementos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### **Experimento 1 : Avaliação de Genótipos de Capim Elefante, Cultivados em Planossolo, no Município de Seropédica, RJ.**

##### **3.1. Localização e Características de Solo e Clima da Área Experimental**

Este estudo foi realizado na área da Embrapa Agrobiologia, para se avaliar a produtividade e o acúmulo de nitrogênio na parte aérea, de quatro genótipos de capim elefante estudados com e sem adubação nitrogenada, e também a contribuição da fixação biológica de nitrogênio nesses genótipos. A Embrapa Agrobiologia se situa na Baixada Fluminense, no município de Seropédica, Rio de Janeiro, e o experimento foi montado num Planossolo extremamente pobre em nutrientes, principalmente em nitrogênio, com baixo teor de matéria orgânica. Sua localização se dá entre os paralelos 22° 49' e 22° 45' de latitude sul e os meridianos 43° 38' e 43° 42' de longitude oeste de Greenwich numa altitude de 33 m.

As características climáticas da região indicam que há uma dominância do clima quente e úmido, sem inverno pronunciado sendo o regime pluviométrico caracterizado por um período chuvoso no verão e estiagem no inverno. Dentro da classificação de Köppen, este clima é do tipo Aw, muito embora o Aw clássico designe um clima de savanas, tipo de vegetação que não ocorre na região, na qual predominam matas. Ramos et al. (1973) citando Bernardes (1952), justifica a ocorrência de mata em lugar de savana, devido a inexistência, por causa da proximidade do litoral, de uma estação seca muito rigorosa. A estação chuvosa tem início em setembro, culminando em dezembro e janeiro com chuvas de alta intensidade e curta duração. A precipitação decresce em maio-junho, alcançando o mínimo em julho. Os meses mais quentes são janeiro e fevereiro, enquanto em julho ocorrem as médias mensais mais baixas de temperatura.

A análise de solo, realizada na profundidade de 0-20 cm, apresentou valores muito baixos para os nutrientes, e são mostrados a seguir: nitrogênio 0,048 % (N - Método semimicro-Kjeldahl, Alves et al., 1994); carbono 0,43 % (C - Carbono orgânico método Walkley & Black, Raij et al., 1987); matéria orgânica 0,74 %; pH<sub>H2O</sub> 5,1 (pH<sub>H2O</sub> - Embrapa-SNLCS 1979); alumínio 0,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Embrapa-SNLCS 1979); cálcio 0,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Embrapa-SNLCS 1979); magnésio 1,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> (Embrapa-SNLCS 1979); potássio 28 mg kg<sup>-1</sup> (Embrapa-SNLCS 1979) e fósforo 23 mg kg<sup>-1</sup> (Embrapa-SNLCS 1979).

##### **3.2. Tratamentos e Delineamento Experimental**

Os tratamentos consistiram do plantio de 4 genótipos de capim elefante previamente selecionados pelos seus desempenhos em produtividade e contribuição da FBN. Os genótipos foram: Cameroon, Gramafante, Roxo e o BAG 02 (banco ativo de germoplasma 02), que era denominado Merker e que está sendo reclassificado. Os materiais receberam dois tratamentos de adubação com N, que foram a testemunha sem aplicação de N-fertilizante e o de aplicação do equivalente a 100 kg.N.ha<sup>-1</sup> na forma de Uréia, aplicada 1/3 no plantio e 2/3 aos 50 dias após o plantio (DAP). O genótipo Roxo foi selecionado pelo seu baixo rendimento (testemunha) e somente recebeu o tratamento sem aplicação de N-fertilizante, constituindo assim 7 tratamentos neste experimento.

Cada unidade experimental constituiu-se de 5 linhas de capim elefante com 5 m de comprimento, espaçadas de 0,5 m, totalizando 12,5 m<sup>2</sup>. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. Os tratamentos ficaram assim numerados: T1- Gramafante com N-fertilizante; T2- Gramafante; T3- Cameroon com N-fertilizante; T4- Cameroon ; T5- BAG 02 com N-fertilizante; T6- BAG 02 e T7- Roxo.

### 3.3. Implantação do Experimento

O experimento foi implantado em outubro de 1999, sendo sua primeira colheita realizada em maio de 2000 e a última realizada em novembro de 2002.

Na área experimental, foi aplicado o equivalente a 1 Mg.ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico 100% PRNT antes do preparo do solo, e no fundo do sulco de capim elefante aplicaram-se 100 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio; 120 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples e 60 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR 12, este último, como fonte de micronutrientes. O calcário aplicado teve o objetivo principal de fornecer cálcio e magnésio para o capim elefante. As doses de P, K e micronutrientes, foram aplicadas com base no acúmulo médio destes nutrientes na cultura de capim elefante, e de forma a garantir que somente o nitrogênio seria o fator limitante para o desenvolvimento da cultura, visando estimar com maior exatidão o potencial da FBN para a mesma. Durante o período experimental, foram efetuadas capinas mecânicas e/ou químicas, de acordo com a necessidade. Após as colheitas, as adubações com P e K foram repetidas, o mesmo ocorrendo para a adubação nitrogenada, nas parcelas que receberam esse tratamento.

### 3.4. Produção de Matéria Seca de Capim Elefante

Na ocasião da colheita de capim elefante, foram cortadas as três linhas centrais de cada parcela, totalizando 7,5 m<sup>2</sup>, sendo que a parte aérea das plantas foi separada em colmo e folhas. Este material foi pesado fresco, separadamente, e em seguida foram retiradas amostras para determinação da matéria seca, N-total e enriquecimento em <sup>15</sup>N. Todos os resíduos de colmo e folhas foram retirados da área experimental.

### 3.5. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante

Neste experimento, a contribuição da FBN na cultura de capim elefante foi estimada utilizando-se a técnica de abundância natural de <sup>15</sup>N (Delta <sup>15</sup>N) (Boddey et al., 1994), com auxílio de um espectrômetro de massas Finnigan Mat, modelo Delta plus . De acordo com esta técnica, a contribuição percentual de nitrogênio derivado da FBN, para a cultura de capim elefante foi calculada através da fórmula:

$$\% \text{ FBN} = \left( \frac{\delta^{15}\text{N planta testemunha} - \delta^{15}\text{N planta teste}}{\delta^{15}\text{N planta testemunha} - B} \right) \times 100$$

**Sendo:**

$\delta^{15}\text{N}$  da planta testemunha – Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  do solo obtido através de plantas não fixadoras, utilizadas como referência

$\delta^{15}\text{N}$  da planta teste - Valor de  $\delta^{15}\text{N}$  da planta fixadora de N<sub>2</sub> (capim elefante)

B – Valor da discriminação isotópica de  $^{15}\text{N}$  feita pelas plantas durante o processo de FBN (Neste estudo, foi considerado igual a zero)

Em plantas não nodulantes, o fracionamento isotópico parece não ser da mesma magnitude que em plantas nodulantes, portanto para o capim elefante, o valor B da fórmula geral foi considerado 0 (zero), conforme trabalho efetuado por Yoneyama et al. (1997) em cana-de-açúcar.

Para determinação da contribuição da FBN em capim elefante, foram utilizados os valores de abundância natural de  $^{15}\text{N}$  das folhas verdes e dos colmos, coincidindo com o trabalho efetuado por Yoneyama et al (1997).

As análises estatísticas foram feitas utilizando o pacote estatístico MSTAT- C, da Universidade de Michigan, USA, e foi usado o teste LSD a 5% para separação de médias.

### **3.6. Relação C:N dos Materiais**

Um dos parâmetros de relevância para se avaliar a capacidade que o capim elefante tem em produzir energia, é a relação C:N apresentada pelos materiais. Esta relação foi feita através da divisão do teor de carbono na matéria seca (42% de média em dados de literatura) pelo nitrogênio acumulado na matéria seca, fornecendo então um valor para esta relação. Pelo valor apresentado, sabe-se um pouco mais sobre a capacidade que os materiais tem em acumular biomassa por unidade de N, o qual está associado com a produção de energia na forma de lenha e/ou carvão.

### **Experimento 2 : Avaliação de Quatro Genótipos de Capim Elefante Cultivados em Argissolo, no Município de Seropédica, RJ.**

### **3.7. Localização e Características de Solo e Clima da Área Experimental**

O experimento foi montado na área experimental da Embrapa Agrobiologia, com as mesmas características de localização e clima da área anterior, num Argissolo série Itaguaí. O estudo foi desenvolvido para se avaliar a produtividade e o acúmulo de nitrogênio de quatro genótipos de capim elefante crescidos com e sem adubação nitrogenada, bem como a contribuição da FBN nos mesmos. No último ano (2004), foram feitas as análises de nutrientes para se saber se os teores dos mesmos se enquadravam nos limites necessários no processo industrial de produção de carvão, e foram feitas também análises de composição de fibras, para se saber a qualidade do material, bem como a época de corte ideal para se conseguir maiores teores de fibra.

A análise de solo, realizada na profundidade de 0-20 cm, apresentou os seguintes valores para os nutrientes: nitrogênio 0,12 % (N - Método semimicro-Kjeldahl, Alves et al., 1994); carbono 1,3 % (C – Carbono orgânico método Walkley & Black, Raij et al., 1987); matéria orgânica 2,24 %;  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  5,4 ( $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  – Embrapa-SNLCS 1979); alumínio  $0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); cálcio  $3,8 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); magnésio  $1,8 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); potássio  $135 \text{ mg kg}^{-1}$  (Embrapa-SNLCS 1979) e fósforo  $7 \text{ mg kg}^{-1}$  (Embrapa-SNLCS 1979).

### **3.8. Tratamentos e Delineamento Experimental**

O experimento foi instalado em maio de 2000. Os quatro genótipos também foram plantados em parcelas que receberam N-fertilizante ( $100 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N na forma

de Uréia), parcelado 1/3 no plantio e 2/3 aos 50 DAP, e em parcelas que não receberam N-fertilizante (testemunha), totalizando 7 tratamentos.

Cada unidade experimental constituiu-se de 5 linhas de capim elefante com 5 m de comprimento, espaçadas de 0,5 m. Cada tratamento foi constituído de 3 repetições, totalizando 21 parcelas de 12,5 m<sup>2</sup> cada. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, ficando os tratamentos assim numerados: T1- Gramafante com N-fertilizante; T2- Gramafante; T3- Cameroon com N-fertilizante; T4- Cameroon; T5- BAG 02 com N-fertilizante; T6- BAG 02 e T7- Roxo.

### **3.9. Implantação do Experimento**

Na área experimental, devido aos resultados apresentados na análise de solo, não foi aplicado calcário, pois os valores de pH, cálcio e magnésio estavam satisfatórios. Nos sulcos de capim elefante, foram aplicados adubos equivalentes a 80 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O na forma de cloreto de potássio; 150 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> na forma de superfosfato simples e 50 kg ha<sup>-1</sup> de FTE BR 12, este último, como fonte de micronutrientes. As doses de P, K e micronutrientes, foram aplicadas com base no acúmulo médio destes nutrientes na cultura de capim elefante, e de forma a garantir que somente o nitrogênio seria o fator limitante para o desenvolvimento da cultura e desta forma estimar com maior exatidão o potencial da FBN para a cultura estudada. Tratos culturais como capina, irrigação, etc. foram realizados plenamente.

### **3.10. Produção de Biomassa de Capim Elefante**

Na ocasião das colheitas do capim elefante, foram cortadas as três linhas centrais de cada parcela, totalizando 7,5 m<sup>2</sup>, sendo que a parte aérea das plantas foi separada em colmos e folhas. Este material foi pesado fresco, separadamente, e em seguida foram retiradas amostras para determinação da matéria seca, N-total e abundância natural de <sup>15</sup>N, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 4.4.2. Todos os resíduos de colmo e bandeira foram retirados da área experimental.

### **3.11 Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante.**

Conforme o item 3.5

### **3.12 Relação C:N dos Materiais**

Conforme o item 3.6

### **3.13. Análise de Macronutrientes**

As análises de cálcio, magnésio, fósforo e potássio são precedidas de uma digestão nitro-perclórica, para a quantificação dos mesmos. A digestão é realizada através da pesagem de amostras (200 mg) previamente moídas, adicionando 5ml da mistura nitro-perclórica, levando ao bloco digestor para aquecimento, até a amostra se tornar incolor (em torno de 3 horas). Após a digestão e resfriamento das amostras, o conteúdo dos tubos com as amostras digeridas foi transferido para um balão volumétrico de 50ml, onde o volume é completado com água destilada até essa marca (Silva, 1999). Nesse estudo, devido as amostras serem sabidamente pobres em nutrientes,

consequência do manejo realizado no campo, o volume foi completado a 25ml, para que as concentrações dos nutrientes não ficassem abaixo do nível crítico de concentração.

### **3.13.1 Análise de cálcio e magnésio**

O procedimento para a análise foi feito pipetando-se 0,5 ml da amostra para um vidro de diluição, acrescentando 9,5 ml de solução de cloreto de lantânio para a diluição. Após o processo de diluição, procede-se a leitura de cálcio das amostras, seguida de magnésio, em aparelho de absorção atômica (Silva, 1999).

### **3.13.2 Análise de fósforo**

Foi retirada uma alíquota de 5ml para um vidro de diluição, adicionando então 30 mg de ácido ascórbico, e adicionou-se 10 ml de solução de molibdato de amônio diluída, descansando por 30 minutos (Silva, 1999). O espectrofotômetro é ligado então a 660 nm e procede-se a leitura dos padrões, verificando a curva de calibração, fazendo o mesmo em seguida com as amostras.

### **3.13.3 Análise de potássio**

Foi transferido 0,5 ml da amostra para um vidro de diluição, acrescentando-se 9,5 ml de água deionizada, lendo depois as amostras em Fotômetro de chama, procedendo a leitura de Potássio.

### **3.14. Análise de fibras**

A análise das fibras foi realizada conforme proposto por Van Soest (1968), que é baseado na separação das frações constituintes das forrageiras, por meio de reagentes específicos denominados detergentes. A utilização do detergente ácido específico tem por finalidade solubilizar o conteúdo celular e a hemicelulose, obtendo-se um resíduo insolúvel no detergente ácido, denominado fibra em detergente ácido (FDA), constituída em quase a sua totalidade de celulose (lignocelulose) e lignina. Por intermédio do permanganato de potássio ( $KMnO_4$ ), a lignina é solubilizada, completando-se então o fracionamento dos constituintes da parede celular. A celulose é estimada por diferença de pesagens, antes e depois de se levar os cadinhos à mufla.

O método sugerido por Van Soest, possui maior precisão que outros métodos para a análise da qualidade das forrageiras, além de fornecer informação sobre componentes importantes como FDA, celulose, lignina, cinzas, etc.

## **Experimento 3: Avaliação de Seis Genótipos de Capim Elefante Crescidos na Área Experimental da Empresa Samarco Mineração S.A., Município de Anchieta, ES**

### **3.15. Localização e Características de Solo e Clima da Área Experimental**

O estado do Espírito Santo é caracterizado por duas tipologias climáticas variáveis de acordo com o relevo local. Na Baixada Litorânea predomina o clima tropical ( $Aw'$ ), com ocorrências de chuvas no verão, de 1.250 mm anuais na base da serra e em Vitória. No restante da baixada, incluindo Anchieta, a média pluviométrica anual é de 1.000 mm. A temperatura média anual atinge 22°C podendo ser ainda mais elevada.

O experimento foi montado na área experimental da Samarco Mineração S.A., no município de Anchieta, ES, situado próximo ao nível do mar. A seguir, são apresentados os resultados da análise de solo (0-20 cm) realizada depois da adubação de plantio:  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  6,6 ( $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  – Embrapa-SNLCS 1979); alumínio  $0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); cálcio  $4,4 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); magnésio  $1,3 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$  (Embrapa-SNLCS 1979); potássio  $78 \text{ mg/dm}^3$  (Embrapa-SNLCS 1979) e fósforo  $7 \text{ mg/dm}^3$  (Embrapa-SNLCS 1979).

O estudo foi desenvolvido para se avaliar a produtividade e o acúmulo de nitrogênio de seis genótipos de capim elefante, três oriundos do banco de germoplasma da Embrapa Agrobiologia (Gramafante, Cameroon e BAG 02) e três oriundos da fazenda experimental da Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural), que foram o CNPGL 91 F27-1, CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 92 F79-2. Foram feitas também análises de nutrientes para se saber se os teores dos mesmos se enquadravam nos limites necessários no processo industrial de produção de carvão, e foram feitas também análises de composição de fibras, para se saber a qualidade desse material, bem como a época de corte ideal para se conseguir maiores teores de fibra.

### **3.16. Tratamentos e Delineamento Experimental**

O experimento foi instalado em março de 2004 e a primeira colheita realizada em julho do mesmo ano. Os seis genótipos foram plantados em talhões, que depois foram divididos em quatro repetições cada, totalizando 6 tratamentos e 24 parcelas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, ficando os tratamentos assim numerados: T1- Gramafante; T2- Cameroon; T3- BAG 02; T4- CNPGL 91 F27-1; T5- CNPGL 91 F06-3 e T6- CNPGL 92 F79-2.

### **3.17. Implantação do Experimento**

Na área experimental, devido aos resultados apresentados na análise de solo, foi feita a aplicação de  $2,5 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de calcário. Em função dos resultados da disponibilidade de nutrientes do solo, a adubação no plantio correspondeu a aplicação de  $500 \text{ kg.ha}^{-1}$  do formulado 4-14-8, nos sulcos de plantio.

### **3.18. Produção de Biomassa de Capim Elefante**

Na ocasião da colheita do capim elefante (4 meses de cultivo), os talhões foram divididos em quatro partes (repetições), onde em cada um dos quatro talhões dos seis genótipos, foram coletadas 3 linhas de 10 metros, espaçadas de 1 metro, totalizando  $30\text{m}^2$ . Este material foi pesado fresco, separadamente, e em seguida foram retiradas amostras para determinação da matéria seca, N-total, fibras e macronutrientes (Ca, Mg, K e P), seguindo o mesmo procedimento dos experimentos anteriores. Todos os resíduos de colmo e bandeira foram retirados da área experimental.

### **3.19. Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) Associada à Cultura de Capim Elefante.**

Conforme o item 3.5

### **3.20. Relação C:N dos Materiais**

Conforme o ítem 3.6

### **3.21 Análise de Macronutrientes (Ca, Mg, P, K) e de Fibras**

Conforme os itens 3.13 (e subdivisões) e 3.14

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações nos experimentos 1 e 2 vinham sendo realizadas desde 2000, mas o experimento 1 foi encerrado na colheita de novembro de 2002, por motivos de falhas na rebrota, e o experimento 2 continua sendo avaliado até os dias atuais. As do experimento 3 começaram a partir de julho de 2004, e serão apresentados os resultados das colheitas do ano de 2002 (abril e novembro) para o experimento 1, dos anos de 2001, 2002, 2003 e 2004 para o experimento 2 e do ano de 2004 (julho) para o experimento 3.

### 4.1. Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea e Quantificação da FBN, em Quatro Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo: Experimento 1

No ano de 2002, foram realizadas duas colheitas para os experimentos 1, uma em abril, onde as plantas se encontravam com 7 meses de cultivo (set 2001/abril 2002), e outra em novembro, onde também se encontravam com 7 meses de cultivo (abril 2002/nov. 2002). Na colheita de abril de 2002, os tratamentos que receberam adubação nitrogenada apresentaram uma produtividade maior que os demais tratamentos, ressaltando porém que não houve diferença significativa entre os tratamentos. A exceção foi o tratamento Cameroon, que produziu  $14,25 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de matéria seca (M.S.), diferindo estatisticamente do tratamento Gramafante +N, que produziu  $28,74 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S.. O genótipo Cameroon é conhecido por seu excelente desempenho no campo, e sua baixa produtividade no tratamento não fertilizado pode estar relacionado a falhas na rebrota das touceiras. Vale ressaltar que todos os tratamentos (exceção ao Cameroon sem N fertilizante) obtiveram produtividades em torno de  $20 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S. em sete meses de cultivo, confirmando os resultados de Quesada et al., (2003), que encontraram produtividades, para os mesmos genótipos e tratamentos desse estudo, de até  $27 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S. em seis meses de cultivo, inclusive para o tratamento Cameroon sem N-fertilizante.

Para a colheita abril/novembro, os tratamentos tiveram uma queda de produtividade em relação a colheita anterior. A época de crescimento dessa coleta foi a da estação da seca, em sua maioria, o que pode explicar essas baixas produtividades. Não houve diferença estatística entre os tratamentos, apesar do genótipo Cameroon sem N fertilizante ter apresentado tendência de menor produção dos tratamentos, pelo mesmo motivo da colheita anterior. Esses dados foram obtidos após 3 anos de experimentação, onde tratamentos não fertilizados, como o Gramafante por exemplo, foram capazes de produzir até  $15,5 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S., que são valores de grande relevância.

Estudando a produtividade de quatro genótipos de capim elefante, dentre eles Gramafante, Cameroon e Roxo, Queiroz Filho et al (1998) encontraram produtividades de  $19 \text{ Mg.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$  de M.S., mesmo com adubação de  $100 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N, na forma de sulfato de amônio, valores bem abaixo dos encontrados nesse estudo, onde se for somado o tempo das duas colheitas, em torno de 14 meses, tem-se produtividades de até  $40 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S.. Produtividade de  $31 \text{ Mg.ha}^{-1}$  de M.S. em 3,5 meses, para o genótipo Roxo, foi encontrada por Queiroz Filho et al (2000), produtividade essa acima das encontradas nas duas colheitas da Tabela 1. Porém, essa produção foi alcançada aplicando-se  $150 \text{ kg.ha}^{-1}$  de N, e nas colheitas da Tabela 1, alguns tratamentos não

receberam adubação nitrogenada. Sabe-se que o capim elefante responde com aumento de produtividade a doses elevadas de nitrogênio, porém, os elevados custos da adubação oneram demasiadamente os custos de produção. Como no presente estudo o balanço energético da cultura é de fundamental importância, mais vale elevadas produtividades no campo sem a utilização de adubação nitrogenada, com baixos custos de produção, o que aumenta substancialmente o balanço energético, à elevadas produtividades que apenas gerariam quantidades de energia equivalentes as que foram gastas para gerá-la.

Esses fatos indicam que estes materiais, se bem manejados, são promissores para se estudar o capim elefante para ser utilizado como uma forma alternativa de energia, onde se busca altas produtividades no campo, com baixo custo energético de produção

**Tabela 1** - Produção de matéria seca (Mg.ha<sup>-1</sup>) na parte aérea (colmo + folhas) de quatro genótipos de capim elefante em Planossolo, em duas colheitas, ambas com 7 meses de cultivo (set. 2001/ abril 2002 e abril 2002/nov. 2002)

Genótipos	Produção de matéria seca (Mg.ha <sup>-1</sup> )	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	28,74 a	12,99 a
<b>Gramafante</b>	19,96 ab	15,58 a
<b>Cameroon + N</b>	21,13 ab	11,62 a
<b>Cameroon</b>	14,25 b	7,85 a
<b>BAG 02 + N</b>	24,29 ab	14,05 a
<b>BAG 02</b>	17,75 ab	13,03 a
<b>Roxo</b>	18,20 ab	10,41 a
<b>Precipitação (mm)</b>	736,2	361,7
<b>CV (%)</b>	36	44

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Em relação ao N acumulado na parte aérea, os resultados acompanharam, de uma maneira geral, o que ocorreu com a produção de matéria seca, com os tratamentos que receberam adubação nitrogenada acumulando mais nitrogênio em relação aos tratamentos que não receberam esse tratamento, nas duas colheitas realizadas. Na colheita de setembro 2001/abril 2002, mais uma vez o único tratamento que diferiu foi o Cameroon sem N fertilizante, que acumulou menos nitrogênio que os tratamentos Gramafante e BAG 02, ambos fertilizados com N. O menor acúmulo deve-se a menor produtividade de matéria seca do tratamento Cameroon sem N, e não ao teor de nitrogênio do mesmo (dados não apresentados).

Na colheita de abril/novembro de 2002, a exceção foi o Gramafante, onde o tratamento não fertilizado acumulou N de forma semelhante ao tratamento fertilizado. Há de se ressaltar que não houve diferença estatística para a maioria dos tratamentos, ficando a exceção mais uma vez para o tratamento Cameroon sem N, que acumulou menos nitrogênio que o tratamento BAG 02 com N fertilizante. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Em estudo comparando o efeito que duas fontes diferentes de N teriam na produção de matéria seca e no teor de proteína bruta, Pereira et al (1976) encontraram valores de 116 kg.ha<sup>-1</sup> de N acumulados na planta inteira, para o tratamento equivalente a 80 kg.ha<sup>-1</sup> de N aplicado na forma de Uréia e em 160 dias de cultivo. Para o tratamento sem a aplicação de N-fertilizante, encontraram valores de 35 kg.ha<sup>-1</sup> de N

acumulados na parte aérea e no mesmo intervalo de tempo. Isto vem comprovar que os genótipos estudados neste estudo, são eficientes em acúmulo de N e recebem contribuição valiosa da FBN. De-Polli e colaboradores (1973), em estudo semelhante, encontraram valores de 34 e 62 kg.ha<sup>-1</sup> de N para o capim elefante sem e com a aplicação de N-fertilizante (80 kg.ha<sup>-1</sup> de N) respectivamente, ambos com 5 meses de cultivo.

**Tabela 2** – Nitrogênio acumulado na parte aérea (kg.ha<sup>-1</sup>) de quatro genótipos de capim elefante em Planossolo, em duas colheitas realizadas (set. 2001/abril 2002; abril/nov. 2002).

Tratamentos	N acumulado na parte aérea (kg.há <sup>-1</sup> )	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	143,3 a	115,9 ab
<b>Gramafante</b>	93,6 ab	116,3 ab
<b>Cameroon + N</b>	97,4 ab	99,6 ab
<b>Cameroon</b>	66,0 b	54,3 b
<b>BAG 02 + N</b>	150,7 a	148,4 a
<b>BAG 02</b>	96,2 ab	90,4 ab
<b>Roxo</b>	103,3 ab	83,3 ab
<b>CV%</b>	38	44

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos percentuais da contribuição da FBN nos tratamentos estudados. Nos tratamentos onde foi realizada a adubação nitrogenada, a FBN não é quantificada, pois a adubação nitrogenada estimula a mineralização do N do solo, e o valor de Delta <sup>15</sup>N do mesmo sofre alteração em função dessa adubação.

Todos os tratamentos obtiveram contribuições acima de 50% na colheita realizada em abril de 2002, que são valores de grande magnitude em se tratando de uma gramínea. O único tratamento que diferiu estatisticamente foi o Cameroon, que ficou abaixo do Gramafante e BAG 02. As únicas fontes de nitrogênio nos tratamentos que não receberam N-fertilizante, são o solo e a FBN. Sendo muito arenoso o solo onde foi realizado esse estudo, e conseqüentemente muito pobre em N disponível, a FBN pode se tornar a principal fonte de N nessa situação, e isso deve estar relacionado ao fato do tratamento Cameroon sem N, que obteve a menor contribuição da FBN, ter obtido o menor acúmulo de N, e conseqüentemente uma menor produtividade (Tabelas 1 e 2).

Na colheita de abril/nov. 2002, as contribuições da FBN também foram acima de 50%, como na colheita anterior. Dessa vez, o tratamento que diferiu em relação aos demais foi o genótipo Roxo, que recebeu uma menor contribuição da FBN, em relação aos genótipos Gramafante e BAG 02. Esses dados conferem com os de Quesada (2001), que verificou uma menor contribuição da FBN no genótipo Roxo, em relação ao Gramafante, Cameroon e BAG 02. Mesmo não diferindo estatisticamente dos tratamentos Cameroon e BAG 02, o maior valor numérico de contribuição da FBN do genótipo Gramafante, está relacionado com o seu maior acúmulo de N nessa mesma colheita, comparada ao Cameroon e BAG 02, e a sua maior produção de matéria seca, sempre comparando os tratamentos não fertilizados.

**Tabela 3** – Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na nutrição nitrogenada de 4 genótipos de capim elefante crescidos no campo, em Planossolo, em duas colheitas realizadas (set. 2001/abril 2002; abril/nov. 2002).

Tratamentos	FBN (%)	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante</b>	75,3 a	70,3 a
<b>Cameroon</b>	51,5 b	58,5 ab
<b>BAG 02</b>	77,6 a	66,0 a
<b>Roxo</b>	62,6 ab	53,4 b
<b>CV%</b>	34	23

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Na colheita realizada em abril de 2002, para o parâmetro relação C:N dos materiais, o tratamento BAG 02 com N fertilizante ficou abaixo dos genótipos Cameroon e Gramafante, para os dois tratamentos (com e sem N), diferindo estatisticamente dos mesmos, e não diferindo dos restantes. Apesar de não ter havido diferença significativa dentro dos genótipos, houve uma leve tendência de aumento na relação C:N dos tratamentos não fertilizados, em relação aos fertilizados, aumento esse que fica abaixo do esperado, pois em dados de literatura observa-se sempre um forte aumento da relação C:N de tratamentos não fertilizados com N, em detrimento aos fertilizados (Quesada et al., 2004).

Essa diferença mais elevada já foi observada na colheita realizada em novembro de 2002, com a relação C:N do tratamento BAG 02 + N ficando abaixo dos tratamentos Gramafante, Cameroon e o próprio BAG 02, todos não fertilizados. Dentro dos genótipos Gramafante e Cameroon não houve diferença significativa, mas os valores das relações dos tratamentos não adubados já são substancialmente mais elevados em relação aos adubados. Os resultados são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Relação C:N na biomassa de sete tratamentos de capim elefante, em Planossolo, em duas colheitas realizadas (set. 2001/abril 2002; abril/nov. 2002).

Tratamentos	Relação C:N dos tratamentos	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	85 a	49 ab
<b>Gramafante</b>	91 a	60 a
<b>Cameroon + N</b>	91 a	47 ab
<b>Cameroon</b>	93 a	63 a
<b>BAG 02 + N</b>	67 b	40 b
<b>BAG 02</b>	78 ab	61 a
<b>Roxo</b>	76 ab	53 ab
<b>CV%</b>	14	22

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

#### **4.2. Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea, Quantificação da FBN e Análise de Fibras e Nutrientes, em Quatro Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo : Experimento 2**

Para a colheita realizada em setembro de 2001, no experimento 2, com 10 meses de cultivo (nov. 2000/set 2001), os resultados são apresentados na Tabela 5. Como se pode observar, não houve diferença significativa para nenhum dos três parâmetros avaliados, em nenhum dos tratamentos estudados, onde então se comprova a capacidade que estes materiais possuem em produzir altos níveis de biomassa, sem a presença de N-fertilizante. Outro fato interessante, é a capacidade que os materiais possuem em acumular carbono por unidade de N absorvido, proporcionando uma relação C:N variando de 126 a 162. Esta característica é de grande importância quando se quer produzir energia renovável, com alto acúmulo de carbono em relação ao nitrogênio.

Mais uma vez, os genótipos produziram acima de 20 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., confirmando dados apresentados em literatura. Outro ponto de grande importância no presente trabalho, é que essas produtividades, na maioria dos trabalhos, são alcançadas sempre com elevada adubação nitrogenada, pois as mesmas sempre visam a alimentação animal, e nesse estudo as mesmas produtividades foram alcançadas nos tratamentos que não receberam adubação nitrogenada, fazendo com que a relação C:N dos materiais aumentasse bastante, pois os mesmos são pobres em nitrogênio, quando comparados à estudos de produtividade para a alimentação animal. Outro fato que pode ter elevado a relação C:N foi o tempo de intervalo entre cortes, que nessa coleta foi de 10 meses. Essa elevada produtividade pode estar relacionada com a contribuição da FBN nos materiais estudados, contribuição essa verificada em outros estudos (Quesada et al., 2003).

Estudando o efeito que a adubação de cobertura, e o intervalo entre cortes teriam na produção de capim elefante, variedade Taiwan A-146, Carvalho et al (2000) encontraram efeito tanto da adubação, quanto do intervalo entre cortes. Para o maior intervalo entre cortes, de 63 dias, o mais próximo do realizado nesse estudo, encontraram de média 21,84 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., com a participação dos 5 tratamentos de adubação de cobertura na obtenção da média desse intervalo, sendo que os tratamentos T4 e T5 foram de 360 e 720 kg.ha<sup>-1</sup> de N respectivamente. Para o tratamento T5, a média de produção foi de 24,91 Mg. ha<sup>-1</sup> de M.S. , e como dito acima, nesse tratamento foi realizada a adubação de 720 kg.ha<sup>-1</sup> de N, o que inviabilizaria qualquer possibilidade de se produzir capim elefante para a produção de carvão vegetal com essa adubação realizada.

Mais uma vez fica claro o potencial de produção que o capim elefante possui, aliada a alta adaptabilidade a solos pobres, somado a elevadas contribuições da FBN, pois, tratamentos que receberam no máximo 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N, obtiveram produções semelhantes as do artigo acima citado, assim como os que não receberam adubação nitrogenada, que nessa colheita produziram quantidades semelhantes as encontradas por Carvalho et al (2000), e que em outras colheitas desse experimento alcançaram produções ainda maiores.

**Tabela 5** - Produção de matéria seca ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), acúmulo de nitrogênio na parte aérea ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e relação C:N da biomassa de quatro genótipos de capim elefante em condições de campo, com dez meses de cultivo (nov. 2000/ set. 2001, Argissolo, 2º corte)

Tratamentos	Produção de biomassa	N acumulado	Relação
	(matéria seca) $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$	$\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	C:N
<b>Gramafante + N</b>	21,5 a	74,5 a	133 a
<b>Gramafante</b>	24,5 a	75,4 a	148 a
<b>Cameroon + N</b>	25,2 a	73,8 a	153 a
<b>Cameroon</b>	23,6 a	71,5 a	151 a
<b>BAG 02 + N</b>	16,2 a	46,1 a	162 a
<b>BAG</b>	21,1 a	63,6 a	153 a
<b>Roxo</b>	17,7 a	62,6 a	126 a
<b>Precipitação (mm)</b>	774,8	-	-
<b>CV %</b>	29	32	16

Em cada coluna os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Os resultados da Tabela 6, comprovam o que foi dito acima, com relação a contribuição da FBN nos genótipos estudados. Pode-se observar, para as duas testemunhas utilizadas, que além das contribuições serem elevadas, não houve diferença significativa para nenhum dos genótipos estudados, o que vem a comprovar os resultados encontrados em outros estudos, onde genótipos de capim elefante receberam altas contribuições de N, via FBN (Quesada et al., 2002; Quesada et al., 2003). Esses resultados comprovam, juntamente com resultados de outras colheitas desse experimento, assim como do experimento 1, que para o parâmetro FBN, os quatro genótipos estudados apresentam alta similaridade, e que nesse aspecto, todos poderiam ser indicados para serem utilizados como fonte de energia, na forma de carvão vegetal.

**Tabela 6** - Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN %) em quatro genótipos de capim elefante, com 10 meses de cultivo (Argissolo)

Tratamentos	FBN (%)	
	Banana (test.)*	Milho (test.)**
<b>Gramafante</b>	56,0 a	60,0 a
<b>Cameroon</b>	59,1 a	62,9 a
<b>BAG 02</b>	63,6 a	66,8 a
<b>Roxo</b>	58,6 a	62,4 a
<b>CV %</b>	8	7

Em cada coluna os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

\* Valor de Delta  $^{15}\text{N}$ : 10,73 / \*\* Valor de Delta  $^{15}\text{N}$ : 11,80

No ano de 2002, foram realizadas duas colheitas para o experimento 2, uma em abril, (set 2001/abril 2002), e outra em novembro, onde ambos se encontravam com 7 meses de cultivo (abril 2002/nov. 2002). Na Tabela 7 são apresentados os resultados de produção de matéria seca, nas coletas de abril e novembro de 2002.

Para a colheita de abril de 2002, houve uma forte influência da adubação nitrogenada na produtividade dos tratamentos, com os genótipos Cameroon e BAG 02, ambos adubados com N-fertilizante, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, produzindo acima de  $30 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de biomassa seca. O tratamento Gramafante + N, apesar de não diferir dos demais tratamentos, também obteve uma produção acima de  $30 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de M.S.. As produções em torno de  $20 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de M.S. dos tratamentos não fertilizados são de grande magnitude e, mais uma vez, encontra-se em concordância com os dados de literatura de produtividades de capim elefante adubados com até  $180 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N. O fato de ter havido influência da adubação na colheita de abril de 2002, deve estar relacionado à maior umidade desse período, pois sabe-se que a influência e eficiência da adubação é maior quando a umidade do solo está em nível satisfatório.

Com a aplicação de  $20 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, e estudando a influência que a altura e o intervalo entre cortes teriam na produção do capim elefante anão, de porte menor que a maioria dos outros genótipos de capim elefante, Acunha et al (1997) encontraram produtividades de  $8,5 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de M.S. para o tratamento de 140 dias de intervalo entre cortes e 10 cm de altura, a mesma altura em que as plantas são cortadas nesse estudo. Esse menor valor de produtividade está relacionado ao tamanho da planta, mas deve-se ressaltar que os valores encontrados para as colheitas de todos os três experimentos desse estudo giram em torno de 4 vezes mais, por ano, e que as mesmas produções, girando em torno de  $30\text{-}40 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$  de M.S., são de excelente valor, e supririam com grande eficiência as necessidades produtivas da indústria siderúrgica.

Em relação a colheita de novembro de 2002, não houve diferença significativa entre os tratamentos, com uma produção de  $10 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de M.S. (Roxo), até  $20 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de M.S. (Cameroon + N). Nessa colheita, as produtividades tiveram uma queda em relação a colheita de abril, mas vale ressaltar que essa época é de baixa pluviosidade, o que poderia explicar essas baixas produtividades em relação à colheitas anteriores, e também o fato de não ter havido diferença entre os tratamentos com e sem adubação nitrogenada, pois como dito antes, a umidade do solo aumenta a eficiência da adubação.

Se for feito um cruzamento de dados entre as Tabelas 1 e 7, verifica-se uma maior produtividade para o experimento realizado em Argissolo, quando comparado ao Planossolo, o que pode ser explicado pela diferença entre as texturas, e a consequente fertilidade natural dos dois solos, pois sabe-se que um solo mais argiloso possui uma maior retenção de umidade e uma maior CTC em relação a um arenoso. Os resultados de produtividade de matéria seca do experimento 2, em 2002, encontram-se na Tabela 7.

**Tabela 7** – Produção de matéria seca ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) de quatro genótipos de capim elefante em Argissolo, em duas colheitas, ambas com sete meses de cultivo (set. 2001/abril 2002 e abril 2002/nov. 2002).

Genótipos	Produção de matéria seca ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	32,76 ab	13,47 a
<b>Gramafante</b>	20,64 b	18,47 a
<b>Cameroon + N</b>	38,06 a	20,66 a
<b>Cameroon</b>	21,17 b	13,77 a
<b>BAG 02 + N</b>	38,64 a	12,64 a
<b>BAG 02</b>	22,17 b	11,95 a
<b>Roxo</b>	19,93 b	9,58 a
<b>Precipitação (mm)</b>	736,2	361,7
<b>CV %</b>	34	42

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Em relação ao N acumulado na parte aérea, os resultados acompanharam o que ocorreu com a produção de matéria seca, com os tratamentos que receberam adubação nitrogenada acumulando mais nitrogênio em relação aos tratamentos que não receberam adubação nitrogenada. Isso ocorreu tanto para o Planossolo, como para o Argissolo, e para ambas as colheitas. A exceção foi o Gramafante na colheita de novembro de 2002, para ambos experimentos, onde o tratamento não fertilizado acumulou N de forma semelhante ao tratamento fertilizado (Tabela 8). Na colheita de abril de 2002, o tratamento Cameroon + N chegou a acumular  $220 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, diferindo estatisticamente dos tratamentos Gramafante, BAG 02 e Roxo, ambos sem adição de N-fertilizante. O tratamento Roxo, que obteve a menor produção, acumulou em torno de  $80 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N.

Utilizando os mesmos tratamentos realizados nesse estudo, Quesada et al (2003) também encontraram influência da adubação nitrogenada no acúmulo de nitrogênio na parte aérea de capim elefante, com o tratamento Cameroon + N acumulando até  $230 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, em seis meses de cultivo.

Para a segunda colheita do ano de 2002, mais uma vez o tratamento Cameroon + N acumulou mais N em relação aos demais tratamentos ( $150 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N), diferindo estatisticamente do Gramafante + N, Cameroon sem N e BAG 02 sem N ( $76,1$ ;  $66,7$ ;  $61,8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, respectivamente). O menor acúmulo de N nessa coleta acompanhou a menor produtividade dessa coleta, pois a maior parte do desenvolvimento da planta foi na época da seca. Os tratamentos que não receberam a adição de N acumularam entre 62 e  $112 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N, valores relativamente baixos para as produtividades alcançadas, o que mostra a eficiência dos genótipos em converter o N absorvido em matéria seca. Os resultados são mostrados na Tabela 8.

**Tabela 8** – Nitrogênio Acumulado na parte aérea ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) em sete tratamentos de capim elefante, em Argissolo, em duas colheitas realizadas (set. 2001/maio 2002; maio/nov. 2002).

Tratamentos	N acumulado na parte aérea ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	131,9 ab	76,1 b
<b>Gramafante</b>	74,4 b	111,9 ab
<b>Cameroon + N</b>	223,3 a	150,4 a
<b>Cameroon</b>	138,4 ab	66,7 b
<b>BAG 02 + N</b>	144,2 ab	93,7 ab
<b>BAG 02</b>	74,2 b	61,8 b
<b>Roxo</b>	80,2 b	67,2 a
<b>CV%</b>	50	51

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Os resultados de contribuição da FBN nos genótipos estudados são apresentados na Tabela 9. Mais uma vez, as contribuições foram muito significativas em ambas colheitas. Em abril de 2002, não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos estudados, com as contribuições variando entre 47% e 58%. Em novembro de 2002, os tratamentos também obtiveram relevantes contribuições, entre 39% e 57%, ficando apenas o genótipo Roxo abaixo dos demais. Essa menor contribuição da FBN no genótipo Roxo foi também verificada por Quesada (2001), que encontrou contribuições menores no genótipo Roxo, quando comparado ao Gramafante, Cameroon e BAG 02.

Na colheita de novembro de 2002 as contribuições foram, a exceção do Cameroon, menores que na colheita de abril, comprovando que a umidade do solo é um fator de grande importância no processo de FBN, assim como em todos os processos de natureza biológica. O mesmo fato ocorreu no experimento em Planossolo (experimento 1).

**Tabela 9** - Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), na nutrição nitrogenada de 4 genótipos de capim elefante crescendo em Argissolo, e sem adubação Nitrogenada. Experimento realizado em Seropédica, R.J.

Tratamentos	FBN nas colheitas (%)	
	Abril 2002	Novembro 2002
<b>Gramafante</b>	53,5 a	47,2 ab
<b>Cameroon</b>	50,9 a	57,3 a
<b>BAG 02</b>	57,8 a	41,3 ab
<b>Roxo</b>	47,4 a	38,8 b
<b>CV%</b>	31	18

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Os resultados de relação C:N dos tratamentos, nas duas colheitas realizadas em 2002, encontram-se na Tabela 10. O genótipo Cameroon, na colheita de abril de 2002, apresentou as menores relações (71 e 64 com e sem N respectivamente), pois o fertilizado acumulou mais nitrogênio em seus tecidos, e o não fertilizado também, além de ter obtido baixa produtividade. Eles diferiram estatisticamente dos tratamentos Gramafante sem adição de N e nos dois tratamentos com o BAG 02. Todos

os demais tratamentos apresentaram relação maior que 100, fornecendo um indicativo de uma boa qualidade desses materiais para serem carvoejados. O mesmo foi encontrado por Quesada et al (2003), que encontraram menor relação C:N para o tratamento Cameroon + N, pelo fato do mesmo ter acumulado mais nitrogênio em seus tecidos, onde também foram encontradas relações C:N maiores que 100 para os tratamentos que não receberam N-fertilizante.

Para a colheita de novembro de 2002, os tratamentos não fertilizados apresentaram, de uma forma geral, relações C:N maiores que os fertilizados, a exceção dos tratamentos Roxo e Gramafante. O tratamento BAG 02 + N diferiu estatisticamente do tratamento Cameroon sem adição de N. Os demais tratamentos não diferiram do BAG 02 + N, nem do Cameroon sem adição de N. As relações da colheita de novembro, de uma maneira geral, foram menores que as da colheita de abril, devendo-se isso ao fato de que as produtividades foram menores. O acúmulo de N também foi menor na colheita de novembro, mas não da magnitude da produtividade, sendo então a produtividade a responsável pela menor relação C:N na colheita de novembro.

**Tabela 10** – Relação C:N da biomassa de sete tratamentos de capim elefante, em Argissolo, em duas colheitas realizadas (set. 2001/abril 2002; abril/nov. 2002).

Tratamentos	Relação C:N dos tratamentos	
	set. 2001/abril 2002	abril 2002/nov. 2002
<b>Gramafante + N</b>	105 ab	74 ab
<b>Gramafante</b>	116 a	69 ab
<b>Cameroon + N</b>	71 b	57 ab
<b>Cameroon</b>	64 b	86 a
<b>BAG 02 + N</b>	112 a	56 b
<b>BAG 02</b>	125 a	81 ab
<b>Roxo</b>	104 ab	59 ab
<b>CV%</b>	23	22

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Na colheita realizada em julho de 2003 (Tabela 11), quando a cultura se encontrava com 8 meses de rebrota, é de grande relevância o fato dos tratamentos sem adição de N, à exceção do genótipo Roxo, terem produzido em torno de 20 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S. (BAG 02), ou mesmo próximo a 30 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S. (Gramafante e Cameroon), no quinto corte do experimento, e sem adição de N-fertilizante, com os tratamentos com e sem adubação nitrogenada apresentando valores semelhantes de produtividade. Os tratamentos Gramafante sem N-fertilizante e Cameroon + N, foram os que obtiveram as maiores produtividades (29,9 e 29,5 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S. respectivamente), e diferiram estatisticamente do genótipo Roxo, que produziu em torno de 14 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., não diferindo dos demais tratamentos. Apesar de não ter havido diferença significativa para a maioria, os genótipos Gramafante e Cameroon se destacaram em relação ao BAG 02 e Roxo, independente de adubar-se ou não com nitrogênio.

Botrel et al (2000), estudando novos clones de capim elefante, dentre eles Cameroon, e mais dois materiais presentes no experimento 3, o CNPGL 91 F27-01 e o CNPGL 91 F06-03, com adubação nitrogenada de 50 kg.ha<sup>-1</sup> de N após 2 meses de formação, mais 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N por ano, durante os dois anos de avaliação, encontraram produtividade média anual de 31, 43 e 37 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S.,

respectivamente para os três clones acima citados. Na presente colheita, têm-se em oito meses de cultivo, valores de até 30 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., em tratamentos que não receberam a aplicação de N-fertilizante, como são os casos do Gramafante sem N e Cameroon sem N.

Essas elevadas produtividades sem a utilização de N fertilizante, são de grande importância no estudo em questão, pois se for realizado um balanço energético e/ou um estudo de custos de produção, a não utilização de adubo nitrogenado, com elevada produtividade, acarreta em grande economia de custos e se torna de grande valor (em termos de produção) para a indústria siderúrgica. Esse é um grande indício de grande contribuição da FBN no sistema, já confirmado em outras colheitas realizadas.

**Tabela 11** – Produção de matéria seca (Mg.ha<sup>-1</sup>) de quatro genótipos de capim elefante em Argissolo, com oito meses de cultivo (nov. 2002/julho 2003).

Tratamento	Produtividade (Mg. ha <sup>-1</sup> )
	nov. 2002/jul. 2003
<b>Gramafante + N</b>	26,1 abc
<b>Gramafante</b>	29,9 a
<b>Cameroon + N</b>	29,5 a
<b>Cameroon</b>	28,8 ab
<b>BAG 02 + N</b>	17,5 abc
<b>BAG 02</b>	19,5 abc
<b>Roxo</b>	14,1 c
<b>Precipitação (mm)</b>	1.041,7
<b>C.V. (%)</b>	33

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

O tratamento Cameroon com N-fertilizante foi o que acumulou mais nitrogênio na parte aérea (Tabela 12), confirmando os resultados encontrados em outras colheitas do presente experimento, bem como no experimento implantado no Planossolo. Isso mostra a capacidade que o genótipo Cameroon possui em acumular nitrogênio, e converter com grande eficiência esse acúmulo em produtividade, pois o mesmo tratamento foi o que obteve a maior produção, juntamente com o Gramafante sem a adição de N. O tratamento Gramafante sem N vem sempre se comportando como de excelente produtividade e acúmulo de N, o que pode ser explicado pela FBN, que será abordada posteriormente (Tabela 13).

O tratamento Cameroon com N-fertilizante (102,3 kg.ha<sup>-1</sup> de N) acumulou mais nitrogênio que todos os outros tratamentos, em quantidades relevantes, porém só diferiu estatisticamente do genótipo Roxo (42,8 kg.ha<sup>-1</sup> de N), mas não diferiu estatisticamente de nenhum outro tratamento, assim como o Roxo também não diferiu dos demais tratamentos. O mesmo comportamento ocorreu para a produção de matéria seca, mostrada na tabela anterior, o que mostra a estreita relação entre a nutrição nitrogenada e a produtividade dos tratamentos. Mais uma vez, vale ressaltar que com baixos valores de acúmulo de nitrogênio, os tratamentos obtiveram elevadas produtividades, mostrando a eficiência dos mesmos na fixação de C-CO<sub>2</sub>, quando comparada a estudos de produtividade de capim elefante para a alimentação animal. Os resultados são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** – Nitrogênio Acumulado na parte aérea ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) de quatro genótipos de capim elefante sob tratamento de adubação nitrogenada, em Argissolo aos oito meses de cultivo (nov. 2002/julho 2003).

<b>Tratamento</b>	<b>N-Acumulado na Parte Aérea (<math>\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}</math>)</b>
<b>Gramafante + N</b>	91,0 abc
<b>Gramafante</b>	85,9 abc
<b>Cameroon + N</b>	102,3 a
<b>Cameroon</b>	92,6 ab
<b>BAG 02 + N</b>	64,9 abcd
<b>BAG 02</b>	64,6 abcd
<b>Roxo</b>	42,8 d
<b>CV%</b>	31

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Na Tabela 13, fica comprovada uma vez mais como os quatro genótipos estudados nesse trabalho possuem a capacidade de se associar à bactérias fixadoras de nitrogênio, e delas obterem elevadas contribuições de nitrogênio, através da FBN por elas realizadas. Todos os genótipos obtiveram percentuais de contribuição acima de 40%, e não diferiram estatisticamente entre si, mostrando o que já vinha sendo encontrado em resultados anteriores, onde todos os genótipos possuem capacidade de se associar com bactérias fixadoras de nitrogênio, e que essa capacidade tem elevado grau de semelhança entre os genótipos. Nessa tabela, e em outras sobre a contribuição da FBN anteriormente apresentadas, pode-se dizer que os quatro genótipos de capim elefante estudados nesse trabalho, obtem ao redor de 50% de sua nutrição nitrogenada derivada da FBN.

**Tabela 13** - Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), na nutrição nitrogenada de 4 genótipos de capim elefante crescendo em Argissolo, aos 8 meses de cultivo. Experimento realizado em Seropédica, R.J.

<b>Tratamentos</b>	<b>FBN na colheita Julho 2003</b>
<b>Gramafante</b>	47,7 a
<b>Cameroon</b>	42,2 a
<b>BAG 02</b>	45,5 a
<b>Roxo</b>	44,3 a
<b>CV%</b>	29

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Os resultados das relações C:N dos tratamentos são apresentados na Tabela 14. Todos apresentaram valores acima de 100, o que comprova a grande capacidade que todos os materiais tem em converter cada unidade de N absorvido, em produção de biomassa seca.

Como em outras colheitas, os tratamentos sem adubação de N-fertilizante apresentaram valores da relação C:N maiores que os adubados, embora sem significância estatística. A única diferença observada foi entre o tratamento Gramafante

sem N-fertilizante e o BAG 02 + N, que apresentaram valores de 146 e 113 respectivamente.

**Tabela 14** – Relação C:N na biomassa de quatro genótipos de capim elefante sob diferentes tratamentos de adubação nitrogenada, em Argissolo, na colheita de julho de 2003, aos 8 meses de cultivo (nov. 2002/julho 2003).

Tratamentos	Relação C:N dos tratamentos
	Novembro 2002/Julho 2003
<b>Gramafante + N</b>	120 ab
<b>Gramafante</b>	146 a
<b>Cameroon + N</b>	121 ab
<b>Cameroon</b>	130 ab
<b>BAG 02 + N</b>	113 b
<b>BAG 02</b>	126 ab
<b>Roxo</b>	138 ab
<b>CV%</b>	11

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Em 2004 foram realizadas duas colheitas no experimento 2, uma em março, onde as plantas se encontravam com oito meses de crescimento (julho 2003/março 2004) e outra em setembro, onde as mesmas se encontravam com seis meses de crescimento (março/setembro 2004). Para a colheita realizada em março, os tratamentos variaram entre 16 e 30 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., não ocorrendo diferença significativa para nenhum dos tratamentos avaliados, porém, em números absolutos, o genótipo Roxo produziu menos em relação aos demais, ficando um pouco acima das 15 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S.. Todos os outros tratamentos obtiveram produtividades acima de 20 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., ressaltando que os que não receberam adubação nitrogenada produziram as mesmas quantidades dos que receberam a mesma.

As produtividades apresentadas, da ordem de 25 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de M.S., e sem adubação nitrogenada, são de grande valia para as empresas de siderurgia que desejam substituir o carvão mineral por um “carvão” derivado da biomassa de capim elefante, pelo fato de ter uma produtividade elevada, e dessa produtividade ser obtida com baixos níveis de insumos, com reflexos positivos no balanço energético da cultura. Além desse fato, os ganhos principais giram em torno de não mais se retirar da crosta terrestre uma fonte de energia fóssil, e portanto finita de combustível, substituindo por uma forma renovável, com grandes ganhos para o meio ambiente. E também pelo fato de se obter ganhos com créditos de carbono através da obtenção de produtos desenvolvidos através de mecanismos de desenvolvimento limpo (MDL), previsto no protocolo de Kyoto, que entra em vigor com a adesão da Rússia, em fevereiro de 2005.

Na segunda coleta, em setembro de 2004, os genótipos variaram suas produtividades entre 6 e 19 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., e o genótipo Roxo mais uma vez, apresentou a mais baixa produção dentre todos os tratamentos, diferindo estatisticamente dos dois tratamentos avaliados com o genótipo Cameroon. Os outros tratamentos estudados não diferiram dos tratamentos com Cameroon, e tampouco do Roxo, apesar deste estar bem abaixo dos demais em valores absolutos. Nessa colheita, a produtividade foi de 10 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S. a menos, em relação a colheita anterior, mostrando que a umidade do solo, bem menor nessa segunda coleta que cresceu durante todo o período de seca, é fundamental no aumento e/ou na manutenção da produtividade

no campo. Portanto, a irrigação seria uma prática agrícola fundamental no processo de produção de biomassa de capim elefante para fins de carvoejamento. Aliado a isso, é importante ressaltar que essa colheita foi realizada com 6 meses de cultivo, e a de março com 8 meses.

É de grande importância salientar que na coleta de março de 2004, quatro anos após a instalação do experimento, os tratamentos sem adubação nitrogenada sejam capazes de produzir entre 16 e 27 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., mostrando definitivamente o potencial que os mesmos apresentam, em relação a produtividade, quer seja pelo fornecimento de N através da FBN, quer seja pela própria adaptação a solos de baixa fertilidade. Os resultados são apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15** – Produção de matéria seca (Mg.ha<sup>-1</sup>) de quatro genótipos de capim elefante crescidos em Argissolo, em duas colheitas (julho 2003/março 2004 e março 2004/setembro. 2004).

Genótipos	Produção de matéria seca (Mg.ha <sup>-1</sup> )	
	julho. 2003/março 2004	março 2004/set. 2004
<b>Gramafante + N</b>	29,6 a	15,4 ab
<b>Gramafante</b>	26,8 a	15,0 ab
<b>Cameroon + N</b>	24,9 a	15,9 a
<b>Cameroon</b>	22,8 a	18,8 a
<b>BAG 02 + N</b>	29,9 a	12,6 ab
<b>BAG 02</b>	26,6 a	12,9 ab
<b>Roxo</b>	16,0 a	5,6 b
<b>Precipitação (mm)</b>	1.068,1	450,6
<b>CV %</b>	33	41

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD (p=0,05).

Na Tabela 16, seguem os resultados de nitrogênio acumulado na parte aérea das plantas, nas duas colheitas realizadas no ano de 2004. Os valores variaram de 55 a 112 kg.ha<sup>-1</sup> de N, na coleta realizada em março de 2004. O genótipo Roxo foi o que menos acumulou N em seus tecidos, pois foi também o que menos acumulou biomassa seca (Tabela 15), tendo essa diferença significância estatística, quando comparada com os tratamentos do genótipo Gramafante, que foram os únicos a acumular mais de 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N em seus tecidos. Não houve diferença significativa entre os demais tratamentos e os do genótipo Gramafante, e nem entre esses e o Roxo.

Mesmo não apresentando diferença significativa em nenhum dos dois parâmetros, o tratamento BAG 02 + N foi o que apresentou a maior produtividade de biomassa seca, porém, acumulou menos nitrogênio que os dois tratamentos do genótipo Gramafante, o que confirma a capacidade que o genótipo Gramafante possui em acumular nitrogênio, acúmulo esse que pode ser devido a contribuição da FBN nesse genótipo, elevada em outras colheitas, e que poderá ser confirmado quando da discussão da Tabela 17.

Na colheita de setembro de 2004, os valores de N acumulado acompanharam os de produtividade, assim como na colheita de março. Os valores foram mais baixos, em relação a colheita de março, devido as menores produtividades, e variaram entre 20 e 54 kg.ha<sup>-1</sup> de N, ficando o genótipo Roxo (20 kg.ha<sup>-1</sup> de N) abaixo dos tratamentos Gramafante (51 kg.ha<sup>-1</sup> de N) e Cameroon (54 kg.ha<sup>-1</sup> de N), ambos sem a adição de N-fertilizante. Os demais tratamentos não diferiram do Gramafante sem N e do Cameroon sem N, e nem do Roxo. Mais uma vez fica comprovado a eficiência do genótipo

Gramafante, nessa coleta juntamente com o Cameroon, em acumular N no tratamento sem a adição de N-fertilizante, ficando evidenciada uma elevada contribuição da FBN no sistema solo/planta.

**Tabela 16** – Nitrogênio Acumulado na parte aérea ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ) de quatro genótipos de capim elefante sob diferentes tratamentos de adubação com N, em Argissolo, em duas colheitas realizadas (julho 2003/março 2004; março 2004/setembro 2004).

Tratamentos	N acumulado na parte aérea ( $\text{kg.há}^{-1}$ )	
	Julho 2003/março 2004	Março 2004/set. 2004
<b>Gramafante + N</b>	111,6 a	46,6 ab
<b>Gramafante</b>	104,6 a	51,3 a
<b>Cameroon + N</b>	63,9 ab	45,7 ab
<b>Cameroon</b>	74,7 ab	53,6 a
<b>BAG 02 + N</b>	89,9 ab	46,6 ab
<b>BAG 02</b>	87,7 ab	37,1 ab
<b>Roxo</b>	54,5 b	20,2 b
<b>CV%</b>	39	37

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Para a contribuição da FBN nos genótipos, nas duas colheitas realizadas, os resultados são apresentados na Tabela 17. Para a colheita de março, não houve diferença significativa entre os tratamentos, mas vale ressaltar o que foi anteriormente mencionado. O genótipo Gramafante, que seguidamente apresentou os maiores valores de acúmulo de nitrogênio na parte aérea, apresenta o maior valor de contribuição da FBN, em números absolutos, da ordem de 65%, confirmando o que foi encontrado em outras colheitas nos dois experimentos, onde o genótipo Gramafante se comportou como o mais bem sucedido na relação genótipo/bactéria fixadora, apresentando resultados consistentes de contribuição da FBN. Resultados consistentes são sempre encontrados para os quatro genótipos estudados, porém, o Gramafante possui uma leve tendência à apresentar valores maiores que os demais.

Para a colheita de setembro de 2004 também não houve diferença significativa entre os quatro tratamentos, e todos apresentaram grandes contribuições da FBN, como nas outras colheitas e estudos realizados. Vale ressaltar que em termos absolutos, o genótipo Cameroon, que acumulou mais nitrogênio em seus tecidos, alcançou a maior contribuição de FBN, mostrando também seu grande potencial de associação com bactérias fixadoras de nitrogênio. Os resultados de FBN das duas colheitas, assim como as demais, estão de acordo com os dados de literatura, como por exemplo os de Quesada, (2001) e Quesada et al (2003), que encontraram contribuições elevadas de FBN, nos mesmos genótipos apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17** – Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), na nutrição nitrogenada de 4 genótipos de capim elefante crescendo em Argissolo, e sem adubação Nitrogenada. Experimento realizado em Seropédica, R.J.

Tratamentos	FBN nas colheitas	
	Março 2004 ( $\delta^{15}\text{N}$ da testemunha: 5,40)	Setembro 2004 ( $\delta^{15}\text{N}$ da testemunha: 5,49)
<b>Gramafante</b>	65,6 a	57,7 a
<b>Cameroon</b>	54,9 a	67,3 a
<b>BAG 02</b>	47,4 a	66,8 a
<b>Roxo</b>	59,3 a	58,5 a
<b>CV%</b>	20	8

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Para os valores da relação C:N, da colheita realizada em março de 2004, o tratamento Cameroon + N apresentou a maior relação (162), e somente não diferiu do tratamento BAG 02 + N, que apresentou relação de 138. Os dois apresentaram as maiores relações, pois apresentaram uma das maiores produtividades de matéria seca, e acumularam menos nitrogênio que outros tratamentos, embora não tenham diferido nesse parâmetro. Já o Gramafante sem N-fertilizante apresentou a menor relação (107), pois foi um dos dois tratamentos que acumularam mais de 100 kg.ha<sup>-1</sup> de N, acarretando na diminuição da relação. Esse maior acúmulo de N se deve a elevadas contribuições da FBN nesse genótipo.

Na colheita de setembro de 2004, o genótipo Roxo apresentou a menor relação C:N entre todos (112), mas somente diferiu estatisticamente dos dois tratamentos do genótipo Cameroon, que apresentaram as maiores relações, 148 e 146, respectivamente para os tratamentos com e sem N-fertilizante, devido ao fato de terem apresentado as maiores produções. Vale ressaltar que para ambas colheitas, as relações C:N ficaram sempre bem acima de 100, provando que quanto mais longo o experimento, e mais longo o intervalo entre cortes, maior se tornam as relações C:N dos tratamentos, melhorando então a qualidade dos materiais para serem queimados (mais rico em fibras, lignina e celulose). Os resultados se encontram na Tabela 18.

**Tabela 18** – Relação C:N na biomassa de quatro genótipos de capim elefante crescidos em Argissolo, em duas colheitas realizadas (julho 2003/março 2004; março/setembro 2004).

Tratamentos	Relação C:N dos tratamentos	
	julho 2003/março 2004	março 2004/set. 2004
<b>Gramafante + N</b>	112 b	145 ab
<b>Gramafante</b>	107 b	124 ab
<b>Cameroon + N</b>	162 a	148 a
<b>Cameroon</b>	127 b	146 a
<b>BAG 02 + N</b>	138 ab	116 ab
<b>BAG 02</b>	126 b	144 ab
<b>Roxo</b>	122 b	112 b
<b>CV%</b>	15	14

Em cada coluna, os valores médios seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD ( $p=0,05$ ).

Nas duas colheitas em 2004, foram avaliados outros aspectos qualitativos dos tratamentos utilizados, além da relação C:N, para se saber se havia diferença entre os mesmos, no que diz respeito as qualidades desejadas para um material ser carvoejado

Em relação ao teor de nutrientes dos tratamentos, na coleta de março, os valores estão abaixo dos encontrados em experimentação para a alimentação animal, apesar de atender as necessidades mínimas para a mesma, e adequados para serem utilizados na indústria de siderurgia. Porém, o teor de potássio pode ser ajustado um pouco para baixo, pois o teor de 1,12%, encontrado no tratamento Gramafante sem N, está próximo do teor encontrado para potássio em teste realizado no carvão mineral utilizado na Samarco Mineração S.A., que foi de 1,4% (dados não publicados), sendo um valor razoável para o teor de potássio em torno de 1,0%. Para cálcio, os valores se situaram entre 0,32% (Cameroon + N), e 0,55% (Gramafante + N), havendo grande diferença entre os tratamentos. Para magnésio os valores variaram entre 0,18% e 0,29%, que foram os valores que diferiram estatisticamente. De 0,08% a 0,19% foi o intervalo de teores encontrado para o fósforo, e de 0,54% e 1,12% para o potássio.

Estudando o efeito da época de vedação sobre o valor nutritivo de capim elefante, Andrade et al (1990), encontraram teores para cálcio de 0,49%, valores esses que são suficientes para a produção animal, e que estão próximos aos encontrados nesse estudo. Para fósforo, os valores variaram entre 0,31% e 0,09%, faixa essa maior que a encontrada na presente colheita. Esses maiores valores encontrados em trabalhos que visam a alimentação animal, em relação a esse trabalho, provavelmente serão uma constante, pois ocorre a elevada adubação de nutrientes na produção de forragem para a alimentação animal. É provável que, através da planilha de análise do carvão mineral da Samarco Mineração S.A., nenhum elemento, a exceção do potássio, mereça preocupação com seus teores nas colheitas realizadas nos três experimentos desse estudo, em relação ao potencial da planta para ser carvoejada.

Para potássio, fósforo, cálcio e magnésio, em trabalho de Acunha & Coelho, (1997) os valores encontrados, respectivamente, foram 1,38%, 0,33%, 0,31% e 0,36%, valores esses maiores que os encontrados na Tabela 19, a exceção do cálcio. O referido trabalho foi em função do intervalo entre cortes, e os autores constataram que a medida que aumenta o intervalo entre cortes, menor vai ficando os teores do nutrientes, sendo os valores acima citados referentes ao intervalo de 140 dias, quase a metade do intervalo ocorrido na presente colheita. Resultados semelhantes aos de Acunha & Coelho, (1997), foram encontrados por Gomide et al (1969) e por Nascimento Júnior et al (1976).

**Tabela 19** - Teor de Macronutrientes (Ca, Mg, K e P), em folhas e colmos de quatro genótipos de capim elefante aos 8 meses de cultivo, da colheita realizada em março de 2004: Experimento 2

Tratamentos	Teor de nutrientes no tecido foliar (%)			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante + N</b>	0,55 a	0,18 b	0,14 ab	1,04 ab
<b>Gramafante</b>	0,48 ab	0,18 b	0,19 a	1,12 a
<b>Cameroon + N</b>	0,32 c	0,29 a	0,10 bc	0,74 ab
<b>Cameroon</b>	0,38 bc	0,24 ab	0,12 bc	0,83 ab
<b>BAG 02 + N</b>	0,39 bc	0,27 ab	0,08 c	0,54 b
<b>BAG 02</b>	0,35 c	0,18 b	0,11 bc	0,89 ab
<b>Roxo</b>	0,34 c	0,29 a	0,11 bc	0,95 ab
<b>C.V. %</b>	18	23	17	33

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Os conteúdos de nutrientes foram bem elevados para o potássio, devido ao teor elevado do mesmo, e não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os valores para os demais nutrientes foram baixos e acompanharam os teores encontrados, o que era esperado, sendo a produção de matéria seca a responsável pela possível diferença que um tratamento que tenha obtido menor teor, tenha conseguido maiores conteúdos, comparativamente. Para cálcio, os valores variaram de 61,3 kg.ha<sup>-1</sup> (Roxo), até 169,1 kg.ha<sup>-1</sup> (Gramafante + N), sendo essa diferença significativa, tendo o tratamento de maior acúmulo diferido também do genótipo Cameroon, assim como do BAG 02 sem a adição de N-fertilizante. Em relação ao magnésio, as diferenças foram menores, e variaram de 79,2 kg.ha<sup>-1</sup> (BAG 02 +N), até 46,7 kg.ha<sup>-1</sup> (Gramafante sem N-fertilizante), sendo essa diferença significativa, assim como do tratamento BAG 02 sem N-fertilizante, que acumulou 47,2 kg.ha<sup>-1</sup>. Para fósforo as diferenças voltaram a ser elevadas, variando de 52,3 kg.ha<sup>-1</sup> (Gramafante sem N-fertilizante) à 19,5 kg.ha<sup>-1</sup> (Roxo). O tratamento Gramafante sem a adição de N-fertilizante diferiu de todos os tratamentos, a exceção do Gramafante + N.

O maior acúmulo de nutrientes, de uma forma geral, nos tratamentos que receberam a adubação nitrogenada, era de se esperar, pois a nutrição nitrogenada auxilia as nutrições dos outros elementos. Como mencionado anteriormente, o maior acúmulo de nutrientes nesse estudo não é desejado, pois a indústria de siderurgia necessita de níveis baixos desses nutrientes, para o capim possuir uma boa qualidade para ser carvoejado. Se os genótipos conseguirem elevadas produtividades no campo sem a utilização de N-fertilizante, quer seja através da FBN, quer seja por adaptação a solos pobres e a sua alta capacidade produtiva, essas altas produções serão acompanhadas de baixas concentrações de nutrientes, o que é de suma importância no processo de carvoejamento de capim elefante, e altamente desejado pela indústria.

**Tabela 20** - Conteúdo de nutrientes (Ca, Mg, K e P), em folhas e colmos de quatro genótipos de capim elefante aos 8 meses de cultivo, da colheita realizada em março de 2004: Experimento 2

Tratamentos	Conteúdo de nutrientes no tecido foliar (kg.ha <sup>-1</sup> )			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante + N</b>	169,1 a	53,6 ab	41,4 ab	310,0 a
<b>Gramafante</b>	127,4 ab	46,7 b	52,3 a	306,4 a
<b>Cameroon + N</b>	86,6 bc	71,1 ab	24,2 bc	168,0 a
<b>Cameroon</b>	88,5 bc	54,0 ab	27,4 bc	180,2 a
<b>BAG 02 + N</b>	127,7 ab	79,2 a	22,9 bc	148,6 a
<b>BAG 02</b>	91,7 bc	47,2 b	30,6 bc	244,4 a
<b>Roxo</b>	61,3 c	53,7 ab	19,5 c	170,4 a
<b>C.V. %</b>	32	29	33	47

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Na Tabela 21, tem-se os resultados dos teores de nutrientes na segunda colheita realizada no ano de 2004, no mês de setembro. Não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos, para os teores de cálcio, sendo os valores encontrados nessa Tabela menores que os da Tabela 19, provavelmente pelo fato da menor umidade estar influenciando em menores teores de nutrientes. Já para magnésio foram encontradas diferenças significativas, com o genótipo Roxo, que apresentou maior teor, de 0,29%, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, com exceção do Cameroon + N e BAG 02 + N, que apresentaram respectivamente teores de 0,24% e 0,22%. Para fósforo,

também o genótipo Roxo apresentou o maior teor, de 0,44%, diferindo estatisticamente dos dois tratamentos do genótipo Cameroon, não diferindo dos demais.

Mensurando o conteúdo mineral de um pasto de capim elefante, Clavero et al (2000) obtiveram valores percentuais de 0,8% para cálcio, e segundo os autores, o nível crítico de cálcio para a alimentação bovina é de 0,30%, ou seja, tanto os trabalhos dos referidos autores, como os resultados das Tabelas 19 e 21, estão acima do nível crítico. Para fósforo, os valores encontrados pelo referidos autores se situaram entre 0,31 e 0,35%, estando acima do nível crítico de fósforo (0,25%), assim como os níveis encontrados na Tabela 21 estão acima de 0,25%. Para potássio, os resultados encontrados pelos autores foram de 2,74 a 2,84%, estando essa faixa bem acima do nível crítico de potássio, e bem acima também dos valores encontrados na Tabela abaixo, assim como na Tabela 19. O mesmo ocorreu para magnésio, que possui nível crítico de 0,20%, segundo os autores, e os mesmos encontraram teores de 0,23%. Os dois tratamentos com o genótipo Gramafante, na Tabela 21, ficaram abaixo do nível crítico.

Mais uma vez vale salientar que os teores de nutrientes encontrados nas Tabelas 19 e 21 estão, em sua maioria, abaixo dos valores encontrados em estudos para nutrição animal, e também abaixo dos exigidos pela indústria de siderurgia para a obtenção de carvão vegetal a partir de capim elefante, foco principal do presente trabalho. De grande valia na Tabela 21, é o fato dos valores de potássio apresentarem tendência de decréscimo, com quatro tratamentos apresentando valores menores que 1%, o que já seria de excelente qualidade para a indústria siderúrgica.

**Tabela 21** - Teor de Nutrientes (Ca, Mg, K e P), em folhas e colmos de quatro genótipos de capim elefante aos 7 meses de cultivo, da colheita realizada em setembro de 2004: Experimento 2

Tratamentos	Teor de nutrientes no tecido foliar (%)			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante + N</b>	0,39 a	0,15 cd	0,43 ab	1,5 a
<b>Gramafante</b>	0,31 a	0,13 d	0,43 ab	1,4 ab
<b>Cameroon + N</b>	0,38 a	0,24 ab	0,31 c	0,4 c
<b>Cameroon</b>	0,38 a	0,20 bcd	0,35 bc	0,8 abc
<b>BAG 02 + N</b>	0,29 a	0,22 abc	0,38 abc	0,6 bc
<b>BAG 02</b>	0,40 a	0,20 bcd	0,37 abc	0,8 abc
<b>Roxo</b>	0,34 a	0,29 a	0,44 a	1,2 abc
<b>C.V. %</b>	27	23	15	47

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Os valores do conteúdo de nutrientes apresentaram semelhança, não havendo diferença significativa para os teores de cálcio, fósforo e potássio. Para magnésio, o maior valor encontrado foi para o tratamento Cameroon + N, que diferiu estatisticamente dos tratamentos Gramafante e Roxo, ambos sem a adição de N-fertilizante. Vale ressaltar que a exceção do potássio, os valores encontrados foram baixos, devido a uma menor produtividade dessa colheita, e a uma tendência de diminuição dos teores dos nutrientes, ao longo das colheitas. Os resultados se encontram na Tabela 22.

**Tabela 22** - Conteúdo de Nutrientes (Ca, Mg, K e P), na parte aérea de quatro genótipos de capim elefante aos 7 meses de cultivo, da colheita realizada em setembro de 2004: Experimento 2

Tratamentos	Conteúdo de nutrientes no tecido foliar (kg.ha <sup>-1</sup> )			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante + N</b>	64,6 a	25,5 ab	64,8 a	211,7 a
<b>Gramafante</b>	45,2 a	19,6 b	65,8 a	212,9 a
<b>Cameroon + N</b>	61,2 a	38,8 a	48,9 a	62,0 a
<b>Cameroon</b>	66,4 a	31,7 ab	67,1 a	181,8 a
<b>BAG 02 + N</b>	36,7 a	27,3 ab	47,2 a	78,3 a
<b>BAG 02</b>	56,8 a	25,7 ab	45,4 a	97,4 a
<b>Roxo</b>	19,1 a	15,7 b	25,6 a	70,1 a
<b>C.V. %</b>	54	35	49	65

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Para os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e seus componentes, nas duas colheitas realizadas em 2004, os resultados são apresentados nas Tabelas 23 e 24. Para a colheita de março (Tabela 23), onde as plantas se encontravam com oito meses de rebrota, os percentuais de FDA nas folhas variaram de 45% (BAG 02 + N) a 51% (Cameroon + N), sendo essa a única diferença significativa apresentada. Para colmos, os resultados variaram entre 52% (Roxo) e 58% (Gramafante + N), também sendo essa a única diferença estatística entre os tratamentos. Os valores de FDA de colmo sempre maiores que os de folha, estão em conformidade com a literatura (Quesada et al., 2004), e os teores acima de 52% indicam a boa qualidade desses materiais para serem carvoejados. A presente colheita foi realizada com 8 meses, e sabe-se que quanto mais longo o intervalo entre cortes, maiores são os teores de FDA nas folhas e nos colmos, por isso os valores de FDA nas colheitas desse experimento, através do manejo dado ao mesmo (intervalo de 6-7 meses entre cortes), provavelmente serão sempre elevados. Esse manejo seria o ideal a ser feito, quando se quer produzir capim elefante com fins energéticos, e não para a alimentação animal, que deve ser rico em proteína, e portanto deve ser um capim jovem.

Em relação a celulose, o componente de maior valor percentual dentro da FDA, os valores variaram entre 41% (Roxo) e 45% (Gramafante + N) em colmos, não havendo diferença significativa para os mesmos. O colmo é a parte da planta de maior importância no processo de carvoejamento. Porém, para folhas, o genótipo Roxo apresentou o maior valor em percentual, da ordem de 41%, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, a exceção do Cameroon + N (32%), que apresentou os maiores valores para FDA.

Para lignina, componente mais rico em carbono, e por isso de maior importância num processo de carvoejamento, os valores variaram de 9% (Roxo) a 13% (Gramafante + N) para colmos, sendo essa a única diferença estatística. A exceção do Roxo e Gramafante sem N, os valores de lignina acima de 10% fornecem um bom indício da qualidade desses materiais para a produção de energia. Esses percentuais são mais baixos que os de algumas plantas utilizadas para o mesmo fim, como Eucalipto por exemplo, mas quando inserida a produtividade e a quantidade de cortes por ano no contexto, o capim elefante leva grande vantagem, pois o Eucalipto leva sete anos para ser cortado, e o capim elefante, nesse manejo, pode ser cortado até 14 vezes (2 cortes/ano), superando substancialmente o Eucalipto em produtividade, compensando assim um menor percentual de lignina. Para folhas, o Cameroon + N, que obteve o

maior percentual de FDA, obteve o maior percentual de lignina (12%), diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, a exceção do BAG 02 sem N-fertilizante. Esse valor de 12% foi superior a quase todos os valores de lignina em colmos, o que não é esperado e nem encontrado em literatura.

Nas cinzas, componentes indesejáveis num processo de queima de material para a produção de energia (quanto menos cinza melhor), os valores não diferiram estatisticamente para colmos, variando entre 0,6% e 2%, valores esses baixos e satisfatórios para a queima. Esses valores são menores que os encontrados por Quesada et al (2004), mas é provável que isso esteja relacionado com o fato de que os resultados apresentados por Quesada et al (2004) sejam referentes a primeira colheita do experimento, onde o solo e a planta estão mais ricos em minerais, ao passo que na colheita apresentada na Tabela 23, o experimento se encontrava com 4 anos, com o sistema solo/planta se encontrando empobrecido. Para folhas, os valores de cinzas ficaram entre 4% (Roxo) e 12% (Gramafante + N), sendo essa a única diferença estatística entre os tratamentos do experimento, nessa colheita. Esses valores estão em conformidade com os do mesmo autor acima citado.

Filho et al (2000), estudando a qualidade do capim elefante cultivar Roxo em diferentes idades de corte, encontraram valores percentuais de 48% para FDA, aos 100 dias de cultivo, média da planta inteira, ficando esses valores um pouco abaixo dos encontrados neste estudo (Tabela 23), se for levado em conta a planta inteira. Estudando a degradabilidade do capim elefante em diferentes estágios de maturidade, Campos et al (2002) encontraram valores percentuais de 41% para FDA, aos 105 dias, e de 37% e 5%, respectivamente para celulose e lignina, estando esses valores abaixo dos encontrados na Tabela 23. Esses resultados comprovam que o manejo realizado no presente estudo, com cortes de 6 em 6 meses, propicia as plantas de capim elefante obterem elevados teores de fibras, celulose e lignina, sendo inversamente proporcional aos teores de proteína bruta. Prova disso é que no mesmo trabalho de Campos et al (2002), os teores de proteína bruta decresceram de 9,3% aos 45 dias, para 6,0% aos 105 dias.

**Tabela 23** - Teores de fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e cinzas, da colheita realizada em março de 2004, em Argissolo.

Tratamentos	Teores							
	FDA		Celulose		Lignina		Cinzas	
	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo
<b>Gramafante N</b>	48,4 ab	57,9 a	28,0 b	45,2 a	8,8 b	12,8 a	11,6 a	0,6 a
<b>Gramafante</b>	47,6 ab	54,4 ab	29,0 b	44,5 a	8,5 b	9,4 ab	10,2 a	0,7 a
<b>Cameroon N</b>	51,5 a	53,3 ab	31,8 ab	41,4 a	12,4 a	10,9 ab	7,3 ab	1,0 a
<b>Cameroon</b>	48,1 ab	54,2 ab	29,6 b	42,0 a	9,5 b	11,1 ab	9,0 ab	1,1 a
<b>BAG 02 N</b>	44,8 b	54,2 ab	28,8 b	41,8 a	9,0 b	11,3 ab	7,0 ab	1,1 a
<b>BAG 02</b>	48,3 ab	55,3 ab	29,2 b	43,9 a	9,7 ab	10,5 ab	9,4 ab	1,0 a
<b>Roxo</b>	47,7 ab	52,1 b	41,1 a	41,4 a	8,3 b	9,0 b	4,1 b	1,9 a
<b>C.V. (%)</b>	5	4	17	7	16	18	39	74

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Para a colheita de setembro (Tabela 24), os valores de FDA são menores que os da colheita de março, tanto para colmo como para folha, pelo fato da mesma ter sido realizada com praticamente dois meses a menos de crescimento, em relação a de março. Não houve diferença significativa para a FDA em folhas, com os tratamentos variando

entre 43% (Roxo) e 47% (Gramafante). Em colmos, os valores variaram entre 44% (Roxo) e 49% (Cameroon + N). Essa diferença, adicionada à do Gramafante + N, são as que estatisticamente foram diferentes entre si, ficando os demais tratamentos semelhantes ao Roxo, a ao Gramafante + N e Cameroon + N.

Os valores percentuais de celulose nos colmos variaram de 32%, para o genótipo Roxo e 37%, para o tratamento Cameroon + N, porém, não houve diferença significativa entre nenhum dos tratamentos estudados, ficando os valores de celulose desta colheita em torno de 8 pontos percentuais abaixo dos valores da colheita de março, pelo mesmo motivo dos valores de FDA. Para as folhas, os valores variaram de 28%, para o genótipo Roxo à 32%, para o tratamento Gramafante +N. O tratamento Roxo diferiu de todos os outros tratamentos, e o Gramafante + N diferiu dos tratamentos Cameroon e BAG 02, ambos sem a utilização de N-fertilizante.

Para lignina nas folhas, os valores variaram de 7%, para o tratamento Roxo, até 8,5%, para o Gramafante + N, não havendo porém diferença significativa entre nenhum dos tratamentos. Já para colmos, variaram entre 10% (BAG 02) e 12% (BAG 02 + N). O BAG 02 + N diferiu estatisticamente dos tratamentos BAG 02, Roxo e Cameroon, ambos sem a adição de N-fertilizante. Nesta coleta, todos os valores de lignina para colmos se situaram em 10% ou mais, indicando que não houve diferença entre os valores de lignina, para colmos, entre as duas coletas do ano, sendo que para folhas houve uma pequena diminuição no valor percentual na coleta de setembro, em relação a março.

Não houve diferença significativa para cinzas nas folhas, com os valores variando entre 6 e 8%, um pouco abaixo aos valores encontrados para a colheita de março. Os valores apresentados para colmo foram baixos, entre 0,6 e 1%, não tendo relevância, como na outra coleta, para uma possível queima desse material. As diferenças de FDA entre as coletas recaem então sobre os valores de celulose e também os de cinzas, sendo possível as cinzas devido a um empobrecimento constante do sistema solo/planta, o que acarreta menos cinzas, não sendo encontrada uma explicação para a diminuição da celulose, além do fator tempo, sendo necessárias mais análises desse parâmetro para que se tenha um melhor entendimento do assunto.

Em trabalho estudando quatro genótipos de capim elefante, sendo desses quatro estudados o Roxo, Cameroon e Gramafante, Filho et al (1998), encontraram valores de FDA, de média anual, de 41,5%, 41% e 44%, respectivamente para o Roxo, Cameroon e Gramafante, sendo esses valores próximos aos encontrados na Tabela 24. Valores semelhantes foram encontrados por Savioli et al (2000), que comparando valores de FDA entre várias forrageiras, encontraram teores de 42% para o capim Napier, sendo esse valor maior que as demais forrageiras (Brizanta, Pangola, etc.), ficando abaixo apenas do Colômbio, com 44% de FDA. Porém, o percentual de 44% é menor que teores encontrados nas colheitas realizadas nesse estudo, com corte de 6 em 6 meses. Para lignina, os valores encontrados por Savioli et al (2000), foram de 11,5%, valores semelhantes aos encontrados nesse estudo, para colmos. Os resultados se encontram na Tabela 24.

**Tabela 24** - Teores de fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e cinzas, da biomassa de 4 genótipos de capim elefante crescidos em Argissolo, na colheita realizada em setembro de 2004.

Tratamentos	Teores							
	FDA		Celulose		Lignina		Cinzas	
	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo
<b>Gramafnate N</b>	46,2 a	48,0 a	31,9 a	35,7 a	8,5 a	11,3 ab	8,3 a	0,97 ab
<b>Gramafante</b>	47,3 a	45,9 ab	30,9 ab	34,5 a	7,8 a	10,5 ab	7,0 a	0,81 ab
<b>Cameroon N</b>	45,3 a	48,9 a	31,3 ab	36,8 a	8,2 a	11,2 ab	7,8 a	0,62 ab
<b>Cameroon</b>	45,9 a	45,8 ab	30,3 b	35,4 a	7,8 a	9,6 b	7,0 a	0,70 ab
<b>BAG 02 N</b>	45,8 a	47,4 ab	30,9 ab	34,3 a	8,4 a	12,3 a	6,2 a	0,60 b
<b>BAG 02</b>	43,3 a	46,4 ab	30,2 b	35,5 a	7,5 a	9,9 b	7,9 a	0,94 ab
<b>Roxo</b>	43,0 a	43,9 b	28,0 c	32,3 a	6,9 a	10,0 b	8,1 a	1,17 a
<b>C.V. (%)</b>	6	4	2	7	16	10	25	38

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

### 4.3. Produção de Matéria Seca, Nitrogênio Acumulado na Parte Aérea e Análise de Fibra e Nutrientes em Seis Genótipos de Capim Elefante, Crescendo em Condições de Campo : Experimento 3

Os resultados de biomassa seca (65°C/72 h) dos diferentes genótipos em estudo, produzida em 4-5 meses de crescimento, são apresentados na Tabela 25.

Com exceção ao genótipo CNPGL 91 F27-1 (Pioneiro), que apresentou a mais baixa produção de biomassa seca (6,85 Mg ha<sup>-1</sup>) nos primeiros 5 meses de crescimento, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, todos os demais genótipos apresentaram alta produção de biomassa, variando de 14,4 a 20,7 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S.. Estes rendimentos são muito promissores e vem confirmar o alto potencial de produção de biomassa dos genótipos em estudo, especialmente porque foram plantados no início da época seca e com baixa adubação nitrogenada (20 kg.ha<sup>-1</sup> de N). Deve-se destacar a estabilidade de rendimento dos genótipos Gramafante, Cameroon e BAG 02, que embora crescendo com um mês a menos do que os outros genótipos, e com quatro meses de crescimento, conseguiram produzir rendimentos em torno de 15 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S., diferindo estatisticamente apenas do CNPGL 91 F06-3, que produziu 20,7 Mg.ha<sup>-1</sup> de M.S. e diferiu de todos os tratamentos.

O menor rendimento do genótipo CNPGL 91 F27-1 (Piomeiro) pode estar associado com seu porte mais baixo, com talos mais finos e uma maior quantidade de folhas, comparado com os demais genótipos. Os dados de rendimento de biomassa estão em conformidade com outros dados da literatura, como os obtidos por Quesada (2001), que encontrou produtividade de matéria seca em torno de 40 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, para os genótipos Gramafante, Cameroon e BAG 02. Em nosso caso, se os resultados de biomassa forem extrapolados para 12 meses, incluindo-se os rendimentos da época de chuvas, quando a cultura obtém maior produtividade, poder-se-ia chegar a valores de até 48 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de biomassa seca, um pouco acima dos resultados encontrados por Quesada (2001). Vale ressaltar, que como as produtividades apresentadas anteriormente foram obtidas na época da seca (março-julho), pode ser que a extrapolação possa estar ainda subestimada. Os elevados níveis de produtividade (acima de 40 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de M.S.) são comuns nos primeiros 2 cortes, com tendência a estabilização em torno de 30 Mg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> de M.S. ao longo dos anos.

**Tabela 25** - Produção de biomassa seca de 6 genótipos de Capim Elefante ( $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), aos 4-5 meses de cultivo, na área experimental da empresa Samarco Mineração S.A., Anchieta, ES.

<b>Tratamentos</b>	<b>Produtividade (<math>\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}</math>)</b>
<b>Gramafante*</b>	14,94 b
<b>Cameroon*</b>	14,70 b
<b>BAG 02*</b>	14,40 b
<b>CNPGL 91 F27-1</b>	6,85 c
<b>CNPGL 91 F06-3</b>	20,70 a
<b>CNPGL 92 F79-2</b>	16,72 b
<b>C.V. %</b>	18

\* Genótipos cortados com quatro meses de idade.

Os valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Os teores de N total da parte aérea das plantas variaram de 0,49 a 1,41%. O surpreendente foi com relação ao genótipo CNPGL 91 F27-1, que embora apresente o mais alto teor de N (diferença significativa em relação a todos, a exceção do Gramafante), foi o que acumulou menos ( $98 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N), sendo significativamente distinto do Gramafante ( $157,6 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N). Disso deduz-se que o baixo potencial de rendimento não obedeceu a uma limitação na disponibilidade de N, e sim a alguma característica da própria planta. No caso dos demais genótipos, os teores de N da parte aérea das plantas foram baixos, variando de 0,49 (CNPGL 91 F06-3) a 1,05% (Gramafante), embora os rendimentos de biomassa seca tenham sido mais que o dobro, em relação ao CNPGL 91 F27-1, demonstrando a alta eficiência da cultura na produção de biomassa por unidade de N absorvido. O genótipo CNPGL 91 F06-3 foi o que se mostrou mais eficiente, pois apresentou o menor teor de nitrogênio (diferença significativa para todos, a exceção do CNPGL 92 F79-2), sendo o tratamento que apresentou maior rendimento de matéria seca (Tabela 25).

Esse fato poderia vir a ser explicado pela FBN, porém, o experimento foi adubado com nitrogênio, o que acarreta numa mineralização do N do solo, alterando os valores da abundância natural de  $^{15}\text{N}$  do mesmo (alteração confirmada através de análise), a FBN não foi quantificada nesta colheita do experimento, e será analisada nas próximas colheitas.

Em relação ao nitrogênio acumulado na parte aérea, os valores variaram entre 98 e  $158 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N. Mesmo tendo todos os genótipos apresentado similar acumulação de N, o maior valor correspondeu ao genótipo Gramafante (diferiu estatisticamente dos genótipos CNPGL 91 F27-1 e CNPGL 91 F06-3), que tem sido indicado como um dos mais eficientes em fixação biológica de nitrogênio (FBN), e por isso apresenta alta capacidade de adaptar-se a solos pobres em N disponível. Através dos resultados, percebe-se que em relação ao nitrogênio acumulado, o tratamento CNPGL 91 F06-3, que apresentou os menores teores de N, somente diferiu do Gramafante, devido ao fato de que o mesmo apresentou a maior produção de matéria seca, acarretando numa elevação da quantidade de nitrogênio acumulado na parte aérea.

Deve-se destacar que os baixos valores dos teores de N na parte aérea das plantas de capim elefante deste estudo, comparado com outros onde esta cultura é empregada na nutrição animal (Andrade, 1972; Gomide et al., 1976; Obeid et al., 1984), contribui significativamente para a economia e o balanço energético desta cultura para seu uso como fonte de bioenergia, uma vez que os adubos nitrogenados são um dos insumos de maior custo, não apenas econômico senão também do ponto de vista

energético (Quesada et al., 2000). Desta forma, os genótipos que consigam obter altas produtividades com consumo nulo ou mínimo de N-fertilizante, serão os mais eficientes para uso como fonte de energia renovável. Os resultados são apresentados na Tabela 26.

**Tabela 26** - Teor de N total e nitrogênio acumulado na parte aérea de 6 genótipos de capim elefante, na área experimental da empresa Samarco Mineração S.A., Anchieta, ES.

<b>Tratamentos</b>	<b>Teor de N (%)</b>	<b>N-acumulado na parte aérea (kg.ha)</b>
<b>Gramafante</b>	1,05 ab	157,6 a
<b>Cameroon</b>	0,90 b	132,5 ab
<b>BAG 02</b>	0,93 b	133,1 ab
<b>CNPGL 91 F27-1</b>	1,41 a	97,95 b
<b>CNPGL 91 F06-3</b>	0,49 c	100,2 b
<b>CNPGL 92 F79-2</b>	0,75 bc	124,0 ab
<b>C.V. %</b>	18	22

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

A relação C:N da biomassa dos diferentes genótipos fornece um indicio da qualidade que os genótipos teriam para ser carvoejados, porque quanto maior a relação C:N, normalmente mais fibroso e lignificado é o material, ou seja, apresenta melhores condições para seu uso em carvoejamento, além de indicar maior capacidade produtiva com menos nitrogênio acumulado.

Para colmos, que seria a parte da planta de maior interesse para produção de energia, o genótipo que mais se destacou foi o CNPGL 91 F06-3, que além da maior produção de matéria seca, obteve o menor teor de nitrogênio em seus tecidos, o que conferiu uma alta relação C:N (159), só não diferindo estatisticamente do tratamento CNPGL 92 F79-2. O mesmo comportamento foi observado para a relação C:N das folhas, e da parte área total, apesar de não haver diferença estatística para a relação C:N das folhas. Para a relação C:N da parte aérea total, o genótipo CNPGL 91 F06-3 diferiu de todos os tratamentos, apresentando valores da relação em torno de 87.

Os genótipos Gramafante, Cameroon, e BAG 02, em estudos desenvolvidos na Embrapa Agrobiologia, apresentaram alta relação C:N, sempre acima de 100, crescendo em solo muito pobre em N disponível (< 0,07%N) (Quesada et al., 2003). No caso do experimento em desenvolvimento na empresa Samarco Mineração, em Anchieta, onde o solo foi arado e gradeado, após vários anos de pastagens produtivas, estas operações devem ter favorecido uma rápida mineralização da matéria orgânica do solo liberando significativas quantidades de N mineral disponível para as plantas, razão pelo qual os valores da relação C:N não foram tão altos. A medida que a disponibilidade de nitrogênio do solo for diminuindo, e a produtividade desses três materiais for sendo mantida (seja pela alta eficiência demonstrada, seja através da FBN), a relação C:N dos mesmos deve retornar a valores acima de 100, melhorando sua qualidade energética (Tabela 27).

**Tabela 27** - Relação C:N da biomassa da parte aérea de 6 genótipos de capim elefante, na área experimental da empresa Samarco Mineração S.A., Anchieta, ES.

Tratamentos	Relação C:N das partes:		
	Colmos	Folhas	Parte aérea
<b>Gramafante*</b>	77 c	19 a	41 bc
<b>Cameroon*</b>	96 bc	26 a	47 bc
<b>BAG 02*</b>	100 bc	20 a	46 bc
<b>CNPGL 91 F27-1</b>	88 bc	21 a	31 c
<b>CNPGL 91 F06-3</b>	159 a	28 a	87 a
<b>CNPGL 92 F79-2</b>	131 ab	23 a	57 b
<b>C.V. %</b>	21	19	22

\* Genótipos cortados com quatro meses de idade.

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Os teores dos nutrientes em geral (com exceção feita ao potássio), foram similares aos observados por Gomide (1997) em áreas de capineira empregada na alimentação animal para produção de leite. Estes resultados demonstram as boas condições do manejo (correção da acidez do solo e adubação) que foi aplicado na produção dos genótipos de capim elefante em estudo na área experimental (Tabela 28). Deve-se destacar que no caso do potássio, em geral, os teores encontrados no estudo são cerca da metade do encontrado por Gomide (1997), o qual aparentemente é muito favorável para o uso potencial desta cultura na produção de carvão vegetal, visto que este elemento em altos níveis pode afetar a qualidade do carvão. Os genótipos CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 92 F79-2 obtiveram os maiores teores de potássio, e diferiram estatisticamente do genótipo Cameroon.

Para os teores de cálcio, os valores variaram entre 0,13%, no caso do CNPGL 91 F06-3, e 0,38%, no caso do CNPGL 91 F27-1, que diferiu estatisticamente de todos os tratamentos, à exceção do Cameroon. O CNPGL 91 F06-3 diferiu estatisticamente de todos os tratamentos. Os teores de cálcio são um importante componente qualitativo no que diz respeito ao processo de carvoejamento do capim elefante, pois se o mesmo for elevado, pode haver grandes perdas por calcinação no processo de carvoejamento do capim elefante.

Os teores de magnésio variaram de 0,16% (CNPGL 91 F06-3) a 0,22% (Cameroon), que diferiu de todos os tratamentos, a exceção do Gramafante. Já o CNPGL 91 F06-3 diferiu do Cameroon e do Gramafante. Os valores dos teores de magnésio são semelhantes aos encontrados por Gomide, (1997). Com exceção dos tratamentos BAG 02 e CNPGL 92 F79-2, que não diferiram estatisticamente entre si, todos os demais tratamentos diferiram estatisticamente, variando entre 0,08% a 0,21%, em relação ao teor de fósforo dos mesmos.

Deve-se destacar também que por tratar-se do primeiro corte das plantas, logo após a primeira adubação de estabelecimento da cultura, os teores de nutrientes não poderiam ser baixos, mas com o passar do tempo, nas colheitas posteriores, espera-se que os teores de nutrientes diminuam significativamente. Espera-se determinar no estudo, os níveis mínimos de nutrientes da parte aérea das plantas que garantam ótima produção de biomassa, com o qual se estará contribuindo não apenas para diminuir o empobrecimento do solo, mas também, e principalmente, para a qualidade do carvão vegetal. Os resultados se encontram na Tabela 28.

**Tabela 28** - Teor de Nutrientes (Ca, Mg, K e P), em folhas e colmos de seis genótipos de capim elefante, da primeira colheita realizada na Samarco Mineração S.A., Anchieta, E.S.

Tratamentos	Teor de nutrientes no tecido foliar (%)			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante*</b>	0,31 bc	0,20 ab	0,18 b	1,29 ab
<b>Cameroon*</b>	0,36 ab	0,22 a	0,13 c	1,19 b
<b>BAG 02*</b>	0,23 d	0,17 bc	0,11 d	1,30 ab
<b>CNPGL 91 F27-1</b>	0,38 a	0,17 bc	0,21 a	1,30 ab
<b>CNPGL 91 F06-3</b>	0,13 e	0,16 c	0,08 e	1,39 a
<b>CNPGL 92 F79-2</b>	0,36 cd	0,18 bc	0,10 d	1,35 a
<b>C.V. %</b>	16	18	15	6

\* Genótipos cortados com quatro meses de idade.

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Os valores das quantidades de nutrientes acumuladas pela parte aérea das plantas dos seis genótipos de capim elefante em estudo, colhidas aos 4-5 meses de idade são apresentadas na Tabela 29. Para os conteúdos de cálcio, os maiores valores foram observados nos genótipos Gramafante ( $47 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e Cameroon ( $52 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), que justamente tem se comportado como muito promissores para produção de biomassa em solos pobres neste nutriente. Além disso, como este nutriente influi significativamente na composição da parede celular, o que da maior sustentação as plantas, pode-se deduzir que um maior teor de cálcio possa estar contribuindo para um maior conteúdo de fibra, o que indiretamente contribuiria para uma melhor qualidade da biomassa para uso em carvoejamento. O genótipo CNPGL 91 F06-3 mais uma vez se comportou como o mais eficiente, pois foi o que obteve a maior produção, acumulando menos cálcio na parte aérea.

Observa-se que no caso de fósforo e magnésio, os valores foram similares ao encontrado por Gomide (1997), para rendimentos de biomassa similares ao presente estudo. O genótipo CNPGL 91 F27-1, que apresentou o maior teor de fósforo, apresentou o menor conteúdo, devido a sua produtividade ter sido bem menor que os demais, porém, diferiu estatisticamente somente do genótipo Gramafante. Para magnésio, apesar de não ter apresentado o maior teor, também foi o tratamento que menos acumulou esse nutriente, em função também de sua menor produção de matéria seca, sendo essa diferença significativa para todos os tratamentos.

No caso do potássio, os valores acumulados pela parte aérea da planta variaram de  $175$  a  $286 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de K, valores significativamente altos comparados com culturas de cereais por exemplo, mas ainda assim, estes resultados são cerca da metade do observado em capineira de capim elefante produzida para produção animal. É importante destacar que neste estudo os maiores valores de acúmulo de potássio não somente acompanharam a produção de biomassa, mas também se observou uma forte tendência dos genótipos CNPGL 91 F06-3 CNPGL 92 F79-2, que foram selecionados para alimentação animal, em acumular as maiores quantidades deste nutriente, sendo o CNPGL 91 F06-3 estatisticamente diferente de todos os tratamentos estudados. Os resultados preliminares deste estudo vêm demonstrando que nesta cultura, especial cuidado deve ser dado ao manejo do Ca e K, para que o suprimento adequado permita a maior produção de biomassa e qualidade com fins de carvoejamento.

**Tabela 29** - Conteúdo de Nutrientes (Ca, Mg, K e P), em colmos e folhas, de 6 genótipos de capim elefante, da primeira colheita realizada na área experimental da empresa Samarco Mineração S.A., Anchieta, E.S.

Genótipos	Conteúdo de nutrientes na parte aérea (kg.ha <sup>-1</sup> )			
	Ca	Mg	P	K
<b>Gramafante*</b>	46,7 ab	31,8 a	27,3 a	195,5 b
<b>Cameroon*</b>	51,8 a	32,8 a	19,3 b	175,2 b
<b>BAG 02*</b>	33,1 bc	25,1 a	16,4 b	186,8 b
<b>CNPGL 91 F27-1</b>	26 c	12,1 b	14,4 b	88,68 c
<b>CNPGL 91 F06-3</b>	28,3 c	33,0 a	17,2 b	286,1 a
<b>CNPGL 92 F79-2</b>	43,4 ab	29,1 a	16,7 b	225,4 b
<b>C.V. %</b>	26	28	22	19

\* Genótipos cortados com quatro meses de idade.

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

Com relação aos teores de fibras e seus constituintes, a celulose, lignina e cinzas, os resultados são apresentados na Tabela 30. Para a produção de energia através da biomassa de capim elefante, o componente da planta de maior interesse é o colmo. Nesse compartimento, não houve diferença significativa entre os tratamentos para os teores de fibra em detergente ácido, o mesmo ocorrendo para um dos componentes de seu desmembramento, a celulose. Os teores dos mesmos são menores que os das duas colheitas do experimento 2, realizadas em 2004, devido ao fato do presente experimento ter sido colhido com 4-5 meses de crescimento, e os dois citados com 8 e 6 meses, respectivamente para as colheitas de março e setembro, e como já mencionado, quanto maior a idade das plantas, mais fibrosas se tornam as mesmas. Comparados com os resultados obtidos por Quesada et al (2004), os teores de fibra estão abaixo em torno de 10 pontos percentuais, também devido a idade fisiológica.

Para os teores de lignina, os mesmos variaram entre 8,1 e 9,6%, valores esses abaixo dos apresentados para o experimento em Argissolo, mas de percentuais bem aceitáveis, se for mais uma vez levado em conta o fato da idade das plantas na época da colheita. Mais uma vez, como em todas as análises realizadas no Argissolo, os teores de cinzas ficaram bem abaixo do limite aceitável pela indústria siderúrgica, no que diz respeito a qualidade do material para ser carvoejado.

Para folhas houve diferença significativa entre os tratamentos, com o genótipo CNPGL 91 F06-3 obtendo teor de FDA maior que os demais, diferindo estatisticamente do Gramafante, Cameroon e CNPGL 92 F79-2. Para celulose, os resultados acompanharam os teores de FDA, o que era de se esperar. Em relação as cinzas, material não desejável quando se quer produzir carvão vegetal, quase todos os tratamentos produziram a mesma quantidade, porém, o genótipo BAG 02 obteve um percentual de 3,1%, e diferiu estatisticamente de todos os tratamentos, a exceção do CNPGL 91 F27-1. Essas diferenças não foram observadas para os percentuais de lignina, que foram similares entre os tratamentos, ficando os resultados abaixo dos encontrados em outras análises.

Teores em torno de 36% de FDA foram encontrados por Silva et al (2002), estudando 17 genótipos de capim elefante, dentre eles o CNPGL 91 F27-1 e o CNPGL 91 F06-3, presentes no experimento 3. Esses valores mais baixos foram encontrados na época das águas, outro importante fator, além da idade fisiológica, para o teor de fibras. Os resultados são apresentados na Tabela 30.

**Tabela 30** - Teores de fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e cinzas, na biomassa de capim elefante da colheita realizada em 26 e 27 de julho de 2004, na área da SAMARCO, município de Anchieta, E.S.

Tratamentos	Teores							
	FDA		Celulose		Lignina		Cinzas	
	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo	Folha	Colmo
<b>Gramafante</b>	30,2 b	41,8 a	21,9 b	32,6 a	6,0 a	8,1 c	2,3 bc	1,0 ab
<b>Cameroon</b>	30,3 b	41,6 a	22,6 b	31,9 a	5,7 a	9,3 ab	2,0 bc	0,3 b
<b>BAG 02</b>	34,8 ab	40,9 a	25,2 b	31,9 a	6,4 a	8,2 c	3,1 a	0,8 ab
<b>CNPGL 91</b>	34,7 ab	43,5 a	25,5 b	33,8 a	6,4 a	8,6 bc	2,7 ab	1,1 a
<b>F27-1</b>								
<b>CNPGL 91</b>	39,1 a	44,1 a	29,7 a	34,5 a	7,2 a	8,9 abc	2,2 bc	0,7 ab
<b>F06-3</b>								
<b>CNPGL 92</b>	33,3 b	42,8 a	24,4 b	32,3 a	7,2 a	9,6 a	1,6 c	0,9 ab
<b>F79-2</b>								
<b>C.V. (%)</b>	11	5	11	6	16	8	22	59

Em cada coluna, valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste LSD 5%

## 5. CONCLUSÕES

- O genótipo Roxo confirmou sua baixa capacidade de produtividade nos experimentos de Seropédica. Os genótipos Gramafante, Cameroon e BAG 02 obtiveram elevadas produções, não havendo diferença marcante entre os mesmos.
- Não houve um padrão de resposta à adubação nitrogenada, com respostas em algumas colheitas, e sem respostas em outras. Porém, quando houve resposta, os tratamentos que não receberam adubação nitrogenada também obtiveram relevantes produtividades, sempre ao redor de 25 Mg. M.S. ha<sup>-1</sup>
- No sítio de Anchieta, E.S., os genótipos CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 92 F79-2 obtiveram elevadas produções, juntamente com Gramafante, Cameroon e BAG 02, oriundos de Seropédica. O genótipo CNPGL 91 F27-1 (Pioneiro) produziu bem abaixo dos demais, não sendo recomendado para a continuação dos estudos.
- Em relação a FBN, todos os genótipos avaliados em Seropédica obtiveram elevadas contribuições da mesma, ao redor de 50%, possuindo todos a mesma qualidade, nesse aspecto. Os genótipos CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 92 F79-2, avaliados em Anchieta, não foram estudados quanto a FBN, necessitando ainda de todo o estudo nessa área.
- Todos os genótipos apresentaram elevada relação C:N, sendo essa característica obtida mais em função do manejo utilizado nos experimentos, com cortes em torno de 6 meses.
- Os percentuais de fibras e seus componentes foram elevados e semelhantes para todos os genótipos, sendo os mesmos semelhantes nessa característica. O manejo utilizado também tem como consequência um aumento nos percentuais dos mesmos.
- Os teores de nutrientes foram baixos, para todos os genótipos, sendo essa característica excelente quando se quer produzir carvão vegetal. Esses baixos teores foram suficientes, junto com a FBN, para os genótipos produzirem elevada matéria seca no campo.
- Os genótipos Gramafante, Cameroon, BAG 02, são indicados para serem produzidos em escala industrial, para a produção de carvão vegetal, no que diz respeito as suas produtividades à nível de campo.
- Para serem indicados para a produção no campo, os genótipos CNPGL 91 F06-3 e CNPGL 92 F79-2 necessitam de demanda de estudo de quantificação da FBN.
- Para todas as outras características estudadas, os genótipos são semelhantes, sendo então a produtividade e a FBN, as características decisivas no processo de escolha sobre quais genótipos serão utilizados.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de obtenção de carvão vegetal a partir da biomassa de capim elefante não se encerra com essa tese. As mensurações realizadas nesse estudo fazem com que a parte de campo esteja bem adiantada, em relação ao processo industrial, permitindo que escolhas quanto a genótipos, manejo, adubação e etc. já se tornem possíveis. Em relação a parte industrial, estudos estão sendo desenvolvidos em São Paulo e Belo Horizonte, e resultados preliminares satisfatórios estão sendo alcançados.

A parte microbiológica desse estudo, que estava prevista para ser realizada no mesmo, não foi feita, devido à falta de material humano e condições laboratoriais, pois essa parte demanda um grande tempo e dedicação por parte de quem irá realizá-lo. Dito isso, fica claro que o estudo da interação planta/bactérias, quanto a infecção, fisiologia, quantidade, eficiência, etc. devem ser realizados para que se saiba realmente quais bactérias estão associadas aos genótipos estudados, para então ser dado mais um passo em relação a seleção dos genótipos que continuarão sendo estudados.

A obtenção de carvão vegetal a partir da biomassa de capim elefante será um grande avanço tecnológico, e uma excelente ferramenta para a diminuição da emissão de CO<sub>2</sub> para a atmosfera, contribuindo para a diminuição dos danos causados pelo efeito estufa. Além disso, permitirá às empresas brasileiras que detiverem essa tecnologia, a capacidade de obter lucros através de créditos de carbono, previsto no Protocolo de Kioto. Mais ainda, qualquer tecnologia alternativa que ajude a humanidade a viver em melhores condições, sejam elas de qualquer caráter, é bem vinda e de grande valia para que o planeta Terra se torne mais viável para as gerações futuras.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACUNHA, J.B.V. & COELHO, R.W. Efeito da altura e intervalo de corte do capim elefante anão. I. Produção e Qualidade da Forragem. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.32, n.1, p. 117-122, Brasília, 1997.

ACUNHA, J.B.V. & COELHO, R.W. Efeito da altura e intervalo de corte do capim elefante anão. II. Composição Mineral da Forragem. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.32, n.3, p. 339-344, Brasília, 1997.

ALVES, B.J.R.; SANTOS, J.C.F.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Métodos de determinação do nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., (Ed). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. P. 409-449. (Embrapa CNPAF. Documentos, 46).

ALVES B.J.R. Aplicação da técnica de análise de solutos nitrogenados da seiva para a quantificação da fixação biológica de nitrogênio em *Desmodium ovalifolium* CV. Itabela. Seropédica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 150p. Tese de Doutorado, 1996.

ANDRADE, J.M.S. Efeito das adubações química e orgânica e da irrigação sobre a produção e o valor nutritivo do capim elefante “Mineiro” (*Pennisetum purpureum* Schum.) em latossolo roxo distrófico do município de Ituiutaba, Minas Gerais. Viçosa: UFV, 1972. 42p. Tese de Mestrado

ANDRADE, I.F.; AIRES, I.M.; BASTOS, C.M.C.; CARNEIRO, A.M. Efeito da época de vedação sobre a produção e o valor nutritivo do capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Cameroon. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.19, n.4, 1990

ANDRADE, I.F. & SALGADO J.G.F. Efeito da época de vedação do capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cultivar Cameroon sobre sua produção e valor nutritivo. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.21, n.4, 1992

BALDANI, V. L. D., BALDANI, J. I. & DOBEREINER, J. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. Biol. Fert. Soils, 4: 37-40, 1987.

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R. & DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.29, p. 911-922, 1997.

BALDANI, V.L.D. Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e, ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica. Seropédica, UFRRJ, 1996, 234 p. Tese de Doutorado.

- BALDANI, J.I.; KRIEG, N.R.; BALDANI, V.L.D. & DOBEREINER, J. The genus *Azospirillum*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2, 2<sup>nd</sup> Edition (submitted), 1998a.
- BALDANI, J.I.; OLIVARES, F.L.; HEMERLY, A. S.; REIS JR., F.B.; OLIVEIRA, A. L.M.; BALDANI, V.L.D., GOI, S.R. REIS, V.M.& DOBEREINER, J. Nitrogen-fixing endophytes: Recent advances in the association with graminaceous plants grown in the tropics. In: ELMERICH et al. (eds.), Biological nitrogen fixation for the 21<sup>st</sup> century. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1998b. P. 203-206.
- BERNARDES L.M.C. Tipos de clima do Estado do Rio de Janeiro. Revista. Bras. Geogr. 1: 58-60, 1952.
- BODDEY, R. M. & DOBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent results and perspectives for future research. Plant Soil, Dordrecht, 108: 53-65, 1988
- BODDEY R.M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. CRC Crit. Rev. Plant Sci. 6:209-266, 1987.
- BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. & URQUIAGA, S. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio associada a plantas utilizando o isótopo <sup>15</sup>N. In: Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola, eds. Hungria, M. & Araújo, R.S. EMBRAPA-CNPAF, pp 471-494, 1994.
- BODDEY, R.M. & URQUIAGA, S. 1992. Calculations and assumptions involved in the use of the  $\delta^{15}\text{N}$ -value and <sup>15</sup>N isotope dilution techniques for the estimation of the contribution of plant-associated biological N<sub>2</sub> fixation. Plant and Soil, 145:151-155.
- BODDEY, R.M. & VICTORIA, R.L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with Brachiaria and Paspalum grasses using 15N-labelled organic matter and fertilizer. Plant and Soil, Dordrecht, 90: 265-292. 1986.
- BOGDAN, A.V. Tropical pastures and fodder plants (Grasses and Legumes). London: Longman, 1977. P. 236-241 (Tropical Agricultural Series).
- BOTREL, M. de A.; PEREIRA, A.V.; FREITAS V. de P.; XAVIER, D.P. Potencial Forrageiro de Novos Clones de Capim Elefante. Revista Brasileira de Zootecnia, v.29 (2), p.334-340, 2000.
- BREMNER J.M Inorganic nitrogen. IN: Nitrogen fixation by free-living microorganisms. D.P. Stewart ed. International Biological Programme. V6, p. 249-258. Cambridge Univ. Press., New York, 1965.
- BRUNKEN, J.N. A systematic study of *Pennisetum* Sect. *Pennisetum* (Gramineae). American Journal of Botany, Columbus, v.64, n.2, p.161-176, 1977
- BURRIS R.H. The acetylene reduction technique. In: Nitrogen fixation by free-living microorganisms. D.P. Stewart ed. International Biological Programme. V.6, p. 249-258. Cambridge Univ. Press., New York, 1975.

CAMPOS, D.V.B. Identificação de genótipos de arroz irrigado com potencial para Fixação Biológica de Nitrogênio. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Tese de Mestrado, 1999.

CAMPOS, F.B. de; LANNA, D.P.D.; BOSE, M.L.V.; BOIN, C.; SARMENTO, P. Degradabilidade do capim elefante em diferentes estágios de maturidade avaliada pelo método *in vitro*/gás Scientia Agricola, v.59, n.2, p.217-225, 2002.

CARVALHO, C.A.B.; MENEZES, J.B.OX.; CÓSER, A.C. Efeitos da fertilização de cobertura e do intervalo entre cortes sobre a produção e o valor nutritivo do capim elefante. Ciências Agrotécnicas, v.24, n.1, p.233-241, Lavras, 2000.

CLAVERO, T.; CARABALLO, L.; GONZÁLEZ, R. Respuesta del pasto elefante enano *Pennisetum purpureum* cv Mott. al pastoreo. Contenido Mineral. Revista Facultad de Agronomía, 17, p.208-213, 2000, Venezuela.

CORTEZ, L. ET AL. "Principais produtos da agro-indústria canavieira e sua valorização" in *Revista Brasileira de Energia*, Vol. 2, Nº 2., pp. 111-146. 1992.

CRUZ, J.C., MONTEIRO J.A ; SANTANA D.P.; GARCIA J.C.; BAHIA F.G.F.T.C.; SANS L.M.A.; PEREIRA I.A. Manejo da fertilidade do solo. In: CRUZ J.C.; MONTEIRO J.A.; SANTANA D.P.; GARCIA J.C.; BAHIA F.G.F.T.C.; SANS L.M.A.; PEREIRA I.A. ed. Recomendações técnicas para o cultivo do milho. Brasília, Embrapa SPI, p.45-83, 1993.

DE – POLLI, H.; FRANCO, A.A.; ALMEIDA, D.L. Consorciação do capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) com cinco leguminosas forrageiras tropicais. Boletim Técnico nº 104, Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Sul, 1973.

DÖBEREINER J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. Symbiosis, Rehovot, v. 13, p. 1-13, 1992.

DÖBEREINER, J. & DAY, J.M. Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and nitrogen-fixing sites. In International Symposium On Nitrogen Fixation,. Pullman. Proceedings... Washington: Washington State University, 1975, P 518-538.

DÖBEREINER J. E RUSCHEL A.P. Uma nova espécie de Beijerinckia. R. Biol. (São Paulo) 1: 261-272, 1958.

DOBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas. Brasília: Embrapa- SPI, Itaguaí, RJ. Embrapa Agrobiologia, 60p. 1995.

EMBRAPA. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro, SNLCS, 1979.

FAO . "Yearbook of forest products : 1978 - 1993". Food and Agriculture Organisation, Rome. 1993

FILHO, J.L. de Q.; SILVA, D.S.; NASCIMENTO, I.S.; SANTOS, E.A.; FILHO, J.J.O Produção de matéria seca e qualidade de cultivares de capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) Revista Brasileira de Zootecnia, v.27, n.2, p.262-266, 1998.

FILHO, J.L. de Q.; SILVA, D.S.; NASCIMENTO, I.S. Produção de matéria seca e qualidade do capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) cultivar roxo em diferentes idades de corte Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, n.1, p.69-74, 2000.

FRANÇA, G. E.; BAHIA, F. A.C.; VASCONCELOS, C. A.; SANTOS, H. L. Adubação nitrogenada no Estado de Minas Gerais. In: Simpósio sobre adubação nitrogenada no Brasil, 1985, Ilhéus, Anais...Ilhéus: CEPLAC, 1986. p. 107-124.

GALLO, J.R.; HIROCE, R.; BATAGLIA, °C.; FURLANI, P.R.; FURLANI, °M.C.; MATTOS, H.B. de; SARTINI, H.J.; FONSECA, M.P. Composição química inorgânica de forrageiras do estado de São Paulo. Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa, v.31, p. 115-137, 1974.

GHISI, O.M.A.A.; JÚNIOR, E.F.; WERNER, J.C.; BEISMAN, D.A.; LEITE, V.B.O.; MARTELLO, P.V. Avaliação do capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Guaçu) visando o carvoejamento. Relatório final da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, 12. Maio. 1995.

GOLDEMBERG,J.; MONACO, L.C.; MACEDO, I.C. The Brazilian Fuel-Alcohol Program in Renewable Energy-Sources for Fuels and Electricity, eds Johansson, T.B.; Kelly, H.; Reddy, A.K.N.; Williams, R.H., Island Press, Washington. 1993.

GOMIDE, J.A.; NOLLER, C.H.; MOTT, G. O.; CONRAD, J.H.; HILL, D.L. Mineral composition of six tropical grasses as influenced by plant age and nitrogen fertilization. Agronomy Journal, v.61, n.1, p.120-123, Madison, 1969.

GOMIDE, J.A. Formação e utilização de capineira de capim elefante. Capim Elefante: Produção e Utilização/ Editado por Margarida Mesquita Carvalho, Maurílio José Alvim, Deise Ferreira Xavier e Limírio de Almeida Carvalho. 2.ed., ver., Embrapa CNPGL, Juiz de Fora, 1997.

GOMIDE, J.A.; CHRISTMAS, E.P.; OBEID, J.A. Competição de quatro cultivares de capim elefante e seus híbridos com Pearl Millet 23a e Pearl Millet DA2. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.5, n.2, p.226-247, 1976

HARDY, R.W.F., BURNS, R.C., PARSHAL, G.W. The biochemistry os N<sub>2</sub> fixation. Advances in Chemistry Series, Washington, v.100, p.219-244, 1971.

IPCC . Intergovernmental Panel on Climate Change Working Group II, chapter 19, 3rd. Session, Montreal, 16-20 de Outubro, WMO, UNEP, draft. 1995

IPT – INSTITUTO DE PESQUISAS TÉCNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. Análise da Pré-viabilidade econômica de aproveitamento de gramíneas forrageiras para carvoejamento e extração de proteínas. Relatório IPT/DEES-APAT nº 30.157/92, São Paulo, maio de 1992.

JACQUES, A.V.A. Fisiologia do crescimento do capim elefante. In: Carvalho, L. de A. et al., Eds.; Simpósio sobre capim elefante. Anais; Coronel Pacheco, Embrapa Gado de Leite, 195p., 1990.

JOHANSSON, T.B.; KELLY, H.; REDDY, A.K.N.; WILLIAMS, R.H.; Eds. Renewable Energy - Sources for Fuels and Electricity, Island Press, Washington DC. 1993.

JUNK G. & SVEC H.J. The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. Geochim. Cosmochim. Acta. 14: 234-243, 1958.

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 C<sub>4</sub>- fibre plants. Intern. J. of System. and Evolution. Microb., 51 000-000, 2001

LIMA, F.P.; MARTINELLI, D.; SARTINI, H.J.; PARES JUNIOR, M.F.; BIONDI, P. Pastejo competitivo entre quatro gramíneas tropicais em latossolo roxo, na engorda de bovinos da raça Nelore. Boletim da Indústria Animal, Nova Odessa, v.26, n. único, p.189-197, 1969.

LIMA E., BODDEY R.M. E DÖBEREINER J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using a <sup>15</sup>N aided nitrogen balance. Soil Biol. Biochem. 19: 165-170, 1987.

LOBATO, E.; CORNELIUS E.; SANZO NOWICZ, C. Adubação fosfatada em pastagens. In: MATTOS, B. B.; WERNER J. C.; YAMADA T.; MALAVOLTA, E. ed. Calagem e adubação de pastagens. Piracicaba: POTAFOS, 1986. p.145-174.

LUCCI, C.S.; ROCHA G.L. da; FREITAS E.A.N. de. Produção de leite em regime exclusivo de pastagens de capins fino e napier. Boletim da Indústria Animal, Nova Odessa, v.29, n.1, p. 45-51, 1972.

MALAVOLTA, E.; LIEM T. H.; PRIMAVESI A. C. P. A. Exigências nutricionais das plantas forrageiras. In: MATTOS, B. B.; WERNER J. C.; YAMADA T.; MALAVOLTA, E. ed. Calagem e adubação de pastagens. Piracicaba: POTAFOS, 1986. p.31-76.

MEEKS J.C., WOLK C.P., SCHILLING N., SHAFFER P.W., AVISSAR Y. & CHIEN W.S. Initial organic products of fixation of (<sup>13</sup>N) dinitrogen by roots nodules of soybean (*Glycine max*) Plant Physiol. 61: 980-987, 1978.

MONTEIRO, F.A. Adubação para estabelecimento e manutenção de capim elefante. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L. de A., ed. Capim Elefante, produção e utilização, Coronel Pacheco, Embrapa CNPGL, p.49-79, 1994.

MOZZER, O.L.; LOBATO NETO, J. Manejo de Capim Elefante sob pastejo. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, 1989. 4p (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 5).

NAKICENOVIC, N.; et al . Long-term strategies for mitigating global warming. Energy 18 (5), 401-609. 1993.

NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SILVA, J.F.C.; PINHEIRO, J.S. Teores de alguns minerais no capim-jaraguá (*Hyparrhenia rufa* Nees Stapf.) em várias idades de corte. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.5, n.1, p.48-55, Viçosa, 1976.

NOHRSTEDT, H. O . Natural formation of ethylene in forest soil and methods to correct results given by the acetylene reduction assay. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, v.15, n.3, p.281-286, 1983.

OBEID, J.A.; GOMIDE, J.A.; COMASTRI FILHO, J.A. Efeito da adubação sobre a produtividade e o valor nutritivo do capim elefante “Mineiro” cultivado em solo sob vegetação de cerrado. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.13, n.4, p.488-500, 1984.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S. & HARPEL, M. Advances in Agronomy and ecology of the *Azospirillum*/plant association. In: TIKHONOVICH et al., eds. Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1995, P. 635-640.

OLIVARES, F.L. Taxonomia, ecologia e mecanismos envolvidos na infecção e colonização de plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. Híbrido) por bactérias endofíticas do gênero *Herbaspirillum*. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1997. Tese de doutorado.

OLIVEIRA, O.C. Quantificação da fixação biológica de nitrogênio em arroz (*Oryza sativa*, L.) inundado. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994. Tese de mestrado.

OLIVO, C.J.; MOREIRA, J.C.; BARRETO, I.L. Use of elephant grass and setaria grass pasture as a feedingbase for dairy cows during summer. Braz. J. Anim. Sci., n.21, p.347-352, 1992.

OTERO, J.R. de. Informações sobre algumas plantas forrageiras. 2 ed. Rio de Janeiro: SAI, 1961. 334p. (Série Didática, 11).

PEOPLES M.B., FAIZAH A.W., RERKASEM B. & HERRIDGE D.F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. ACIAR, Monograph N<sup>o</sup>. 11, Canberra, 1989. 76p.

PEREIRA, J.R.; OLIVEIRA, L.O.B. de. Efeito de duas fontes de nitrogênio na produção de matéria seca e proteína bruta no capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) . v .26, n.1, p.28-32, março de 1976

QUESADA D.M ., RESENDE A.S., XAVIER R.P., COELHO C.H.M., REIS V.M., BODDEY R.M., ALVES B.J.R. & URQUIAGA S. Efeito da adubação verde e N-fertilizante no acúmulo de biomassa e fixação biológica de nitrogênio em genótipos de

capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). Revista Agronomia, UFRRJ (2003) v.37, nº2, p. 53-58.

QUESADA D.M., FRADE C., RESENDE A.S., POLIDORO J.C., REIS V.M., BODDEY R.M., ALVES B.J.R., XAVIER D., URQUIAGA S. A fixação biológica de nitrogênio como suporte para a produção de energia renovável. AGRENER 2000, Campinas.

QUESADA D.M., Seleção de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN) . Fevereiro de 2001. Tese de Mestrado, UFRRJ, Seropédica, R.J. 140p.

QUESADA D.M., GAGO J., BODDEY R.M., ALVES B.J.R., URQUIAGA S., REIS V.M. Relação C:N e análise de fibras em genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) estudados para produção de energia renovável. FERTBIO, julho 2004, Lajes, Santa Catarina.

RAMOS D.P., CASTRO A.F. & CAMARGO M.N. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Agron., 8: 1-27. 1973.

REIS JÚNIOR, F.B. Influência do genótipo da planta, micropropagação e fertilização nitrogenada sobre a população de bactérias diazotróficas em cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1998. Tese de mestrado.

REIS JR, F.B.; REIS, V.M.; TEIXEIRA, K.R.S.; URQUIAGA, S. Avaliação da diversidade de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de *Brachiaria*. Embrapa: Pesquisa em Andamento, n.24, p. 1-4, nov. 1999.

REIS, V.M.; REIS JR, F.B.; SALLES, J.F.; SCHLOTTER, M. Characterization of different polyclonal antisera to quantify *Herbaspirillum* spp. in elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). Symbiosis, 29: 139-150, 2000.

RESENDE, A.S. A Fixação Biológica de nitrogênio (FBN) como suporte da fertilidade nitrogenada dos solos e da produtividade da cana-de-açúcar: uso de adubos verdes. Seropédica – RJ, 2000. Tese de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

ROBERTSON, T. and SHAPOURI, H. Biomass: an Overview in the United States of America, Proceedings First Biomass Conference of the America: Energy, Environment, Agriculture, and Industry, Agosto 30 - Setembro 2, Burlington, Vermont, U.S.A. 1993.

RODRIGUES, L.R. de A.; PEDREIRA, J.V.S.; MATTOS H.B. de. Adaptação ecológica de algumas plantas forrageiras. Zootecnia, Nova Odessa, v.13, n.4, p. 201-218, 1975.

RUSCHEL A.P., VICTORIA R.L., SALATI E. E HENIS Y. Nitrogen fixation in sugar cane (*Saccharum officinarum*). Ecol. Bull. (Stockholm) 26: 297-305, 1978.

SARTINI, H.J.; MARTINELLI, D.; PARES JUNIOR, M.F.; BIONDI, P. Pastejo baixo comparado com pastejo alto visando a produção de carne em pastagens de elefante Napier (*Pennisetum purpureum* Schum.). Boletim da Indústria Animal, Nova Odessa, v.27/28, p.295-303 1970/1971.

SAVIOLI, N.M. de F.; FUKUSHIMA, R.S.; LIMA, C.G.; GOMIDE, C.A. Rendimento e comportamento espectrofotométrico da lignina extraída de preparações de parede celular, fibra em detergente neutro ou fibra em detergente ácido. Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, n.4, p. 988-996, 2000.

SHEARER, G. & KOHL, D.H. N<sub>2</sub> fixation in field settings: estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance. Aust. J. Plant Physiol., 13, 699-756, 1986.

SILVA, D.J. Análise de Alimentos (Métodos Químicos e Biológicos), Imprensa Universitária, UFV. Viçosa, M.G., 1990.

SILVA, F.C. da Manual de análise química de solos, plantas e fertilizantes/ Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária, Brasília, 173-184p., 1999.

SILVA, M.M.P.; VASQUEZ, H.M.; SILVA, J.F.C.; BRESSAN-SMITH, R.E.; ERBESDOBLER, E.A.; SOARES, C.S. Composição bromatológica, disponibilidade de forragem e índice de área foliar de 17 genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) sob pastejo, em Campos dos Goytacazes, RJ. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.1, p. 313-320, 2002 (suplemento).

URQUIAGA S., CRUZ K.H.S. E BODDEY R.M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. Soil Sci. Soc. Am. J. 56:105-114, 1992.

URQUIAGA S., ALVES, B.; BODDEY R.M. Capim Elefante: Uma nova fonte alternativa de energia. Ambiente Brasil ([www.ambientebrasil.com.br](http://www.ambientebrasil.com.br)), 2004.

VALLIS I., HAYDOCK K.P., ROSS P.J. & HENZELL E.F. Isotopic studies on the uptake of nitrogen by pastures. III. The uptake of small additions of <sup>15</sup>N-labelled fertilizer by Rhodes grass and Townsville lucerne. Aust. J. Agric. Res. 18: 865-877, 1967.

VAN SOEST, P.J. & WINE, R.H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. J. Assoc. Official Agr. Chem., 51:780-785, 1968.

VICENTE-CHANDLER, J.; FIGARELLA, J.; SILVA, S. Effects of nitrogen fertilization in frequency of cutting on the yield and composition of Napier in Puerto Rico. Journal Agriculture University Puerto Rico, Rio Piedras, v. 43, p. 215-227, 1959.

VICENTE-CHANDLER, J.; CARO-COSTAS, R.; PEARSON, R.W.; ABRUNA, F.; FIGARELLA, J.; SILVA, J. The intensive management of tropical forages in Puerto Rico. Puerto Rico: University Puerto Rico – Agricultural Experimental Station, 1974. 152p. (Bulletin, 187).

YONEYAMA, T.; MURAOKA, T.; KIM, T.H.; DACANAY, E.V. & NAKANISHI, Y. The natural <sup>15</sup>N abundance of sugarcane and neighbouring plants in Brazil, the Philippines and Miyako (Japan). *Plant and Soil* 189:239-244, 1997.

WALKER, C.C., YATES, M.G. H<sub>2</sub> evolution and acetylene effects in N<sub>2</sub>-fixing *Azotobacter chroococcum* and different nutrient limitations. In: *International Symposium on Nitrogen Fixation. Proceedings...* Steenboc, 1978.

WITTY, J.F. Acetylene reduction assay can overestimate nitrogen fixation in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.11, p.209-210, 1979.

WITTY J.F. & MINCHIN F.R (1988). Measurement of nitrogen fixation by the acetylene reduction assay; myths and mysteries. In: Beck, D.P.& Materon L.A., ed. *Nitrogen fixation by legumes in Mediterranean agriculture*. Dordrecht, Netherlands. 331-344.

WITTY, J.F., GILLER, K.E. Evaluation of errors in the measurement of biological nitrogen fixation using <sup>15</sup>N fertilizer. In: *Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies*. Vienna: IAEA, p.59-72, 1991.