

HARIANE LUIZ SANTOS

SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO EM CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA A *Bacillus velezensis* UFV 3918 E DIFERENTES DOSES DE FOSFATO MONOAMÔNICO

Botucatu

2023

HARIANE LUIZ SANTOS

SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO EM CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA A *Bacillus velezensis* UFV 3918 E DIFERENTES DOSES DE FOSFATO MONOAMÔNICO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva

Botucatu

2023

S237s

Santos, Hariane Luiz

Solubilização de fósforo em cana-de-açúcar submetida a *Bacillus velezensis* UFV 3918 e diferentes doses de fosfato monoamônico / Hariane Luiz Santos. -- Botucatu, 2023

172 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Marcelo de Almeida Silva

1. *Saccharum* spp.. 2. bactérias solubilizadoras de fosfato. 3. eficiência fotossintética. 4. nutrição. 5. indicadores microbiológicos do solo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

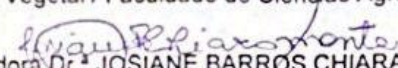
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO EM CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA
A *Bacillus velezensis* UFV 3918 E DIFERENTES DOSES DE FOSFATO
MONOAMÔNICO

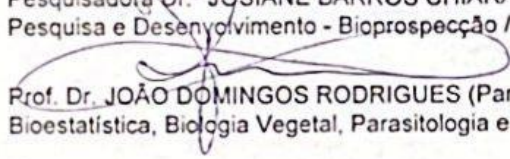
AUTORA: HARIANE LUIZ SANTOS

ORIENTADOR: MARCELO DE ALMEIDA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Agricultura),
pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA (Participação Presencial)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu


Pesquisadora Dr.ª JOSIANE BARROS CHIARAMONTE (Participação Presencial)
Pesquisa e Desenvolvimento - Bioprospecção / Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.


Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES (Participação Presencial)
Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Botucatu, 03 de março de 2023

*Aos meus amados pais, Clemencia e José,
que são meus maiores incentivadores,*

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão misericordioso e ter me sustentado em todos os momentos.

Aos meus pais, Clemencia e José, e aos meus irmãos, Hariadne e Victor, pelo carinho e apoio incondicional durante essa etapa e pela compreensão nos momentos em que estive ausente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva, por ser um exemplo de profissional e pelos ensinamentos, paciência, atenção, amizade e confiança depositada durante o mestrado.

Ao meu padrinho, Natanael Ferreira Costa (*in memoriam*), pelo carinho, inspiração e por ter sido um dos meus maiores incentivadores.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Agricultura), pela oportunidade de realização do mestrado e pela infraestrutura disponibilizada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de mestrado (Processo nº 2021/02991-0).

Ao Grupo Vittia, pelo fornecimento do produto utilizado e financiamento do experimento conduzido.

À equipe do Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura (LECA), que foi fundamental em todas as etapas de condução da pesquisa, em especial ao Gustavo Ferreira da Silva, que foi meu braço direito em todas as análises realizadas.

Ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental (LAMAA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), pela parceria nas análises dos indicadores microbiológicos do solo, em especial ao professor Adão de Siqueira Ferreira, pelos conhecimentos compartilhados e auxílio na condução das análises.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal (Agricultura), pelo suporte técnico durante a execução do experimento.

Ao Gustavo Ferreira da Silva, integrante do Laboratório de Fitometria, por toda a ajuda na condução da análise multivariada dos dados.

Ao Caio Nascimento Fernandes pela ajuda na instalação do sistema de irrigação.

À Melina Rodrigues Alves Carnietto por todo o companheirismo e amizade e por ter compartilhado comigo todos os momentos intensos da pós-graduação, tornando essa jornada mais leve.

E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desta pesquisa.

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

“O papel dos infinitamente pequenos na natureza é infinitamente grande”. Louis Pasteur.

DOBOS, R. Pasteur e a Ciência Moderna. São Paulo: Edart, 1967. p. 57.

“O Mestre na arte da vida faz pouca distinção entre o seu trabalho e o seu lazer, entre a sua mente e o seu corpo, entre a sua educação e a sua recreação, entre o seu amor e a sua religião. Ele dificilmente sabe distinguir um corpo do outro. Ele simplesmente persegue sua visão de excelência em tudo que faz, deixando para os outros a decisão de saber se está trabalhando ou se divertindo. Ele acha que está sempre fazendo as duas coisas simultaneamente”.

JACKS, L. P. Education Through Recreation. London: University of London Press, 1932. 148 p.

RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) possui destaque internacional devido à crescente demanda mundial por açúcar e etanol provenientes de fontes renováveis, sendo uma cultura bioenergética promissora para reduzir a dependência do petróleo bruto e mitigar as emissões de gases de efeito estufa. No entanto, a adubação é um dos fatores mais importantes para atingir altas produtividades, especialmente a fosfatada, visto que o fósforo (P) está envolvido em vários processos metabólicos das plantas e é um dos nutrientes que mais limita a produção e longevidade dos canaviais. Neste sentido, a inoculação de bactérias pode ser uma alternativa, uma vez que algumas cepas apresentam capacidade de hidrolisar compostos insolúveis de P orgânico e inorgânico para uma forma solúvel e assimilável pelas plantas, além de produzirem fitohormônios responsáveis pelo crescimento vegetal, fornecendo uma abordagem ecologicamente correta e economicamente viável para superar a fixação do P e sua subsequente absorção pelas plantas. Partindo-se do pressuposto que a bactéria pode permitir a redução das doses de P, sem prejudicar a eficiência fotossintética e a produção da cana-de-açúcar, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de analisar as respostas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e nutricionais da cana-de-açúcar, bem como avaliar as respostas químicas e microbiológicas do solo, à inoculação de *Bacillus velezensis* UFV 3918 e diferentes doses de fosfato monoamônico (MAP). O experimento foi conduzido em ambiente protegido, em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos [Testemunha absoluta (TA) – sem MAP; Testemunha comercial (TC) – dose recomendada de MAP (3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP)] e quatro repetições. No capítulo 1 foram avaliadas variáveis de brotação, biometria, densidade estomática, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, bem como teores de proteínas, açúcares e aminoácidos e atividade da fosfatase ácida foliar e rendimento e partição de biomassa. E no capítulo 2 foram avaliadas variáveis radiculares, teores de macro e micronutrientes no solo e nos tecidos vegetais, eficiência do uso de nutrientes, eficiência de adaptação a disponibilidade de P, acúmulo de nutrientes, absorção de nutrientes por comprimento radicular e indicadores microbiológicos. A associação de *B. velezensis* e doses reduzidas de P (Bv e Bv+1/3 MAP) promoveu incremento no crescimento, evidenciado pela altura da planta, área foliar e biomassa da parte aérea, equivalendo-se às plantas

conduzidas com 100% da dose recomendada de MAP, além de proporcionar aumento da eficiência instantânea de carboxilação e das variáveis bioquímicas foliares. Além disso, Bv e Bv+1/3 MAP incrementaram o volume de raízes, o acúmulo de P na parte aérea e a absorção de macro e micronutrientes, bem como aumentaram a respiração basal do solo e as atividades da diacetato de fluoresceína, urease e fosfatase ácida, em relação à TC. O uso de *B. velezensis* UFV 3918 e doses reduzidas de fosfato melhorou a eficiência fotossintética e a produção de biomassa da cana-de-açúcar, além de beneficiar a atividade microbiana e enzimática do solo, o que refletiu na absorção de nutrientes, evidenciando que esta é uma estratégia para a adubação da cana-de-açúcar com impacto econômico e ambiental reduzido.

Palavras-Chave: *Saccharum* spp.; bactérias solubilizadoras de fosfato; eficiência fotossintética; nutrição; indicadores microbiológicos do solo; produção.

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum* spp.) has international prominence due to the growing worldwide demand for sugar and ethanol from renewable sources; being a promising bioenergy crop to reduce dependence on crude oil and mitigate greenhouse gas emissions. However, fertilization is one of the most critical factors to achieving high yields, especially phosphate fertilization, since phosphorus (P) is involved in several metabolic processes in plants and is one of the nutrients that most limit the yield and longevity of sugarcane fields. In this sense, inoculation of bacteria can be an alternative since some strains can hydrolyze insoluble compounds of organic and inorganic P to a soluble form that can be assimilated by plants, besides producing phytohormones responsible for plant growth, providing an ecologically correct and economically viable approach to overcome the fixation of P and its subsequent uptake by plants. Based on the assumption that the bacteria can allow the reduction of P doses, without harming the photosynthetic efficiency and production of sugarcane, the present research was conducted to analyze the morphological, physiological, biochemical, and nutritional responses of sugarcane, as well as evaluate the chemical and microbiological responses of the soil, to the inoculation of *Bacillus velezensis* UFV 3918 and different doses of mono ammonium phosphate (MAP). The experiment was conducted in a protected environment, in an entirely randomized design with six treatments [absolute control (AC); commercial control (CC) (recommended dose of MAP - 3/3 MAP); *B. velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP and Bv+3/3 MAP] and four replicates. In chapter 1, sprouting variables, biometrics, stomatal density, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments, as well as protein, sugar, and amino acid contents and leaf acid phosphatase activity and biomass yield and partitioning were evaluated. And in chapter 2, root variables, soil and plant tissue macro and micronutrient content, nutrient use efficiency, P availability adaptation efficiency, nutrient accumulation, nutrient uptake by root length, and microbiological indicators were evaluated. The association of *B. velezensis* and reduced doses of P (Bv and Bv+1/3 MAP) promoted growth increment, evidenced by plant height, leaf area, and shoot biomass, equivalent to plants grown with 100% of the recommended dose of MAP, besides providing an increase in instantaneous carboxylation efficiency and leaf biochemical parameters. In addition, Bv and Bv+1/3 MAP increased root volume, shoot P accumulation, and macro- and micronutrient uptake by roots, as well

as increased soil basal respiration, and fluorescein diacetate, urease, and acid phosphatase activities compared to the CC. Using *B. velezensis* UFV 3918 and reduced doses of phosphate improved the photosynthetic efficiency and biomass production of sugarcane, besides benefiting soil microbial and enzymatic activity, which reflected in nutrient uptake, evidencing that this is a strategy for sugarcane fertilization with reduced economic and environmental impact.

Keywords: *Saccharum* spp.; phosphate solubilizing bacteria; photosynthetic efficiency; nutrition; soil microbiological indicators; yield.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 ASSOCIADO À DOSE REDUZIDA DE FOSFATO AUMENTA A EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E A BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR

- Figura 1 – Temperatura média, máxima e mínima do ar e umidade relativa média no interior do ambiente protegido durante o período experimental46
- Figura 2 – %Brotação (A), velocidade de brotação (VB) (B) e índice de velocidade de brotação (IVB) (C) de gemas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)47
- Figura 3 – Curvas de regressão ao longo das épocas de avaliação (30, 60, 90, 120, 150 e 180 DAP) para altura do colmo (A), diâmetro do colmo (B), número de perfilhos (C) e área foliar (D) da cana-de-açúcar sob a associação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)48
- Figura 4 – Densidade estomática da face adaxial (DEAD) (A) e densidade estomática da face abaxial (DEAB) (B) de folhas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP50
- Figura 5 – Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (A), rendimento quântico potencial do FSII (F_v'/F_m') (B), extinção fotoquímica (qP) (C), extinção não fotoquímica (NQP) (D), rendimento quântico máximo variável do FSII (F_v/F_m) (E) e respiração noturna (R_d) (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP51
- Figura 6 – Assimilação instantânea de CO₂ (A) (A), condutância estomática (g_s) (B), taxa transpiratória (E) (C), concentração interna de carbono (C_i) (D), eficiência instantânea do uso da água (EUA) (E) e eficiência instantânea de carboxilação (EC) (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.....53
- Figura 7 – Teores de clorofila *a* (Chl_a) (A), clorofila *b* (Chl_b) (B) e clorofila total (Chl total) (C), razão Chl_a/Chl_b (D), índice SPAD (E) e teor de carotenoides (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.....55
- Figura 8 – Teor de proteína (A), açúcares solúveis totais (B), aminoácidos totais (C) e atividade da fosfatase ácida (D) em folhas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)57

Figura 9 – Aspecto visual da parte aérea do colmo principal (folhas, bainhas e colmos) e sistema radicular de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	58
Figura 10 – Biomassa foliar (BF), biomassa de bainhas (BB), biomassa de colmos (BC) e biomassa radicular (BR) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	59
Figura 11 – Biomassa da parte aérea (BPA), biomassa total (BT) e relação biomassa de parte aérea e biomassa radicular (BPA/BR) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	61
Figura 12 – Partição da biomassa da parte aérea (A) e da biomassa total (B) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	62
Figura 13 – Cargas de variáveis das componentes de morfologia (A), fisiologia aos 60 DAP (B), 118 DAP (C), e 180 DAP (D), bioquímica (E) e biomassa (F)	64
Figura 14 – Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de morfologia (A), fisiologia aos 60 DAP (B), 118 DAP (C) e 180 DAP (D), bioquímica (E) e biomassa (F)	65
Figura 15 – Correlação de Pearson entre as primeiras componentes principais de cada grupo de variáveis	66

Capítulo 2 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 MELHORA A ABSORÇÃO E ACÚMULO DE FÓSFORO E OUTROS NUTRIENTES NA CANA-DE-AÇÚCAR E BENEFICIA A SAÚDE DO SOLO

Figura 1 – Teores de matéria orgânica (MO) (A), potássio (K) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I) e cobre (Cu) (J) no solo após 180 dias de cultivo com cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	110
Figura 2 – Teores de potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F) nas folhas, bainhas, raízes e colmos da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	112

- Figura 3 – Teores de ferro (Fe) (A), zinco (Zn) (B), manganês (Mn) (C), boro (B) (D) e cobre (Cu) (E) nas folhas, bainhas, raízes e colmos da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)114
- Figura 4 – Eficiência do uso do potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I), boro (B) (J) e cobre (Cu) (K) da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)116
- Figura 5 – Eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo (EADP) da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)117
- Figura 6 – Acúmulo de potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I), boro (B) (J) e cobre (Cu) (K) na parte aérea da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)118
- Figura 7 – Respiração basal do solo (RBS) acumulada em 21 dias (A), RBS por dia (B), carbono (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) (C–D), hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) (E) e atividade da desidrogenase (DHA) em solo cultivado com de cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio122
- Figura 8 – Atividade das enzimas urease (A), arilsulfatase (B), B-glicosidase (C) e fosfatase ácida (D) em solo cultivado com de cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio124
- Figura 9 – Cargas de variáveis das componentes de química do solo PC1 (A), química do solo PC2 (B), teores de nutrientes nas folhas (C), bainhas (D), raízes (E) e colmos (F)126
- Figura 10 – Cargas de variáveis das componentes de variáveis radiculares (A), eficiência do uso de nutrientes (B), acúmulo de nutrientes (C), absorção de nutrientes por comprimento radicular (D) e indicadores microbiológicos (E).....127
- Figura 11 – Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de química do solo PC1 (A), química do solo PC2 (B), teores de nutrientes nas folhas (C), bainhas (D), raízes (E) e colmos (F).....129
- Figura 12 – Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de variáveis radiculares (A), eficiência do uso de nutrientes (B), acúmulo de nutrientes (C), absorção de nutrientes por comprimento radicular (D) e indicadores microbiológicos (E).....130

Figura 13 – Correlação de Pearson entre os primeiros componentes principais de cada grupo de variáveis.....	131
---	-----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 ASSOCIADO À DOSE REDUZIDA DE FOSFATO AUMENTA A EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E A BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Tabela 1 – Análise química inicial do solo e doses dos fertilizantes adicionados no plantio	39
Tabela 2 – Porcentagem de explicação da primeira componente dos grupos de variáveis morfologia, fisiologia 60 DAP, fisiologia 118 DAP, fisiologia 180 DAP, bioquímica e biomassa	62
Tabela S1 – Equações de regressão da altura do colmo, diâmetro do colmo, número de perfilhos e área foliar da cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP) ao longo das épocas de avaliação (30, 60, 90, 120, 150 e 180 DAP)	170

Capítulo 2 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 MELHORA A ABSORÇÃO E ACÚMULO DE FÓSFORO E OUTROS NUTRIENTES NA CANA-DE-AÇÚCAR E BENEFICIA A SAÚDE DO SOLO

Tabela 1 – Análise química inicial do solo e doses dos fertilizantes adicionados no plantio	102
Tabela 2 – Comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), diâmetro médio de raízes (DR) e biomassa radicular (BR) da cana-de-açúcar 180 dias após o plantio, sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)	109
Tabela 3 – Absorção de nutrientes por comprimento radicular da cana-de-açúcar cultivada sob tratamentos com e sem inoculação de <i>B. velezensis</i> UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio	120
Tabela 4 – Porcentagem de explicação das componentes do grupo de variáveis radiculares, química do solo, teor de nutrientes nas folhas, bainhas, raízes e colmos, eficiência do uso de nutrientes, acúmulo de nutrientes, absorção	

de nutrientes por comprimento radicular e indicadores
microbiológicos.....125

Tabela S1 – Equações de regressão para os teores de ferro (Fe), zinco (Zn),
manganês (Mn), boro (B) e cobre (Cu) nas folhas, bainhas, raízes e colmos
da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem
inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato
monoamônico (MAP)171

Tabela S2 – Equações de regressão para a absorção de macro e micronutrientes por
comprimento radicular da cana-de-açúcar cultivada sob tratamentos com e
sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato
monoamônico (MAP), aos 180 dias após o plantio172

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Assimilação líquida de CO ₂
AC	Altura do colmo
AcNu	Acúmulo de nutrientes (“Nu” substitui cada nutriente)
AF	Área foliar
ANuCR	Absorção de nutrientes por comprimento radicular (“Nu” substitui cada nutriente)
Ba(OH) ₂	Hidróxido de bário
BB	Biomassa de bainhas
BC	Biomassa de colmos
BF	Biomassa foliar
BPA	Biomassa da parte aérea
BR	Biomassa radicular
BSA	Albumina sérica bovina (BSA)
BSP	Bactéria solubilizadora de fosfato
BT	Biomassa total
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
CBM	Carbono da biomassa microbiana
Chl _a	Clorofila <i>a</i>
Chl _{a+b}	Clorofila total
Chl _b	Clorofila <i>b</i>
C _i	Concentração interna de carbono
CO ₂	Dióxido de carbono
CR	Comprimento radicular
CTC	Capacidade de troca catiônica
CuSO ₄	Sulfato de cobre II
DC	Diâmetro do colmo
DEAB	Densidade estomática da face abaxial
DEAD	Densidade estomática da face adaxial
DHA	Desidrogenase
DMF	Dimetilformamida
DR	Diâmetro médio das raízes
DTPA	Dietilenotriaminopentacético

E	Taxa transpiratória
EAA	Espectrofotometria de absorção atômica
EADP	Eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo
EC	Eficiência instantânea de carboxilação
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ETR	Taxa relativa de transporte de elétrons
EUA	Eficiência instantânea do uso da água
EUNu	Eficiência do uso de nutrientes (“Nu” substitui cada nutriente)
F_0	Fluorescência mínima
FDA	Diacetato de fluoresceína
F_m	Fluorescência máxima
F_m'	Fluorescência máxima em amostra adaptada à luz
FSII	Fotossistema II
F_v/F_m	Rendimento quântico máximo variável do FSII
F_v'/F_m'	Rendimento quântico potencial do FSII
g_s	Condutância estomática
HCl	Ácido clorídrico
INT	2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil- 5-feniltetrazólio
INTF	Iodo-nitrofenilformazan
IRGA	Analizador de gases a infravermelho
IVB	Índice de velocidade de brotação
$K_2Cr_2O_7$	Dicromato de potássio
K_2SO_4	Sulfato de potássio
KCl	Cloreto de potássio
MAP	Fosfato monoamônico
MF	Matéria fresca
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
Na_2CO_3	Carbonato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NBM	Nitrogênio da biomassa microbiana
NP	Número de perfilhos
NQP	Extinção não fotoquímica
P	Fósforo

PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonil
PNF	<i>p</i> -nitrofenil
PNFG	<i>p</i> -nitrofenil- β -D-glucopiranósido
pNPP	<i>p</i> -nitrofenil fosfato dissódico
PVPP	Polivinilpirrolidona
qP	Extinção fotoquímica
RBS	Respiração basal do solo
R_d	Respiração na ausência de luz
SB	Soma de bases
SR	Sistema radicular
TEA	Trietanolamina
TUM	Tampão universal modificado
UFC	Unidades formadoras de colônia
V%	Saturação por bases
VB	Velocidade de brotação
VR	Volume radicular

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	27
CAPÍTULO 1 – Bacillus velezensis UFV 3918 ASSOCIADO À DOSE REDUZIDA DE FOSFATO AUMENTA A EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E A BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	33
1.1 INTRODUÇÃO.....	35
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
1.2.1 Condições de cultivo e material vegetal.....	37
1.2.2 Descrição, obtenção e procedência do produto.....	38
1.2.3 Tratamentos e delineamento experimental.....	38
1.2.4 Avaliações morfológicas.....	40
1.2.5 Avaliações fisiológicas.....	41
1.2.6 Avaliações bioquímicas.....	42
1.2.7 Rendimento e partição de biomassa.....	44
1.2.8 Análise estatística.....	44
1.3 RESULTADOS.....	45
1.3.1 Condições ambientais durante o experimento.....	45
1.3.2 Avaliações morfológicas.....	47
1.3.3 Avaliações fisiológicas.....	49
1.3.4 Avaliações bioquímicas.....	54
1.3.5 Rendimento e partição de biomassa.....	58
1.3.6 Análise das componentes principais.....	62
1.4 DISCUSSÃO.....	67
1.5 CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS.....	77
CAPÍTULO 2 – Bacillus velezensis UFV 3918 MELHORA A ABSORÇÃO E ACÚMULO DE FÓSFORO E OUTROS NUTRIENTES NA CANA-DE-AÇÚCAR E BENEFICIA A SAÚDE DO SOLO.....	95
2.1 INTRODUÇÃO.....	97
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	99
2.2.1 Condições de cultivo e material vegetal.....	99

2.2.2	Descrição, obtenção e procedência do produto.....	100
2.2.3	Tratamentos e delineamento experimental.....	100
2.2.4	Variáveis radiculares.....	101
2.2.5	Amostragem e análise química do solo.....	101
2.2.6	Amostragem, análise química e variáveis nutricionais do tecido vegetal.....	103
2.2.7	Indicadores microbiológicos do solo.....	104
2.2.8	Análise estatística.....	107
2.3	RESULTADOS.....	108
2.3.1	Variáveis radiculares.....	108
2.3.2	Química do solo.....	108
2.3.3	Variáveis nutricionais do tecido vegetal.....	111
2.3.4	Indicadores microbiológicos do solo.....	121
2.3.5	Análise das componentes principais.....	125
2.4	DISCUSSÃO.....	132
2.5	CONCLUSÕES.....	142
	REFERÊNCIAS.....	143
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	163
	REFERÊNCIAS.....	165
	APÊNDICE A – Material suplementar do capítulo 1.....	170
	APÊNDICE B – Materiais suplementares do capítulo 2.....	171

INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar é uma planta perene pertencente ao gênero *Saccharum* L., tribo Andropogoneae e família Poaceae (LUCCHESI, 2001; MOORE et al., 2014). Essa cultura é utilizada para produzir uma variedade de produtos alimentícios, incluindo açúcar, melaço e xaropes. Além disso, a cana-de-açúcar é uma das culturas bioenergéticas mais promissoras para reduzir a dependência do petróleo bruto e mitigar as emissões de gases de efeito estufa (JAISWAL et al., 2017), devido ao seu rápido crescimento, alto rendimento e excelente balanço energético (MUÑOZ et al., 2014).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e possui destaque internacional na exportação dessa *commodity*, principalmente devido às grandes áreas agricultáveis e condições edafoclimáticas favoráveis ao seu cultivo, tornando-o um país essencial para suprir o aumento da demanda mundial por açúcar e etanol proveniente de fontes renováveis (CONAB, 2019).

A estimativa brasileira de produção de cana-de-açúcar na safra 2022/2023 é de 572,9 milhões de toneladas, tendo como principal região produtora a Sudeste, que poderá atingir 355,5 milhões de toneladas colhidas, com destaque para os estados de São Paulo e Minas Gerais (CONAB, 2022).

No entanto, a adubação é um dos fatores mais importantes para atingir altas produtividades, o que torna essencial o estudo do manejo da fertilização, principalmente com o fósforo (P), que é um nutriente que limita a produção e longevidade dos canaviais, sobretudo em regiões tropicais, devido ao alto grau de interação com o solo, e pelo fato de ser um insumo mineral finito e insubstituível (MALAVOLTA, 2006; RAIJ, 2011; SOLTANGHEISI et al., 2019).

O P é indispensável para o crescimento e reprodução das plantas, as quais não atingem o máximo potencial produtivo sem um fornecimento nutricional adequado (MARSCHNER, 2012). Este nutriente é constituinte de compostos das células vegetais, tais como ácidos nucleicos, fosfolipídios das membranas celulares, ATP (adenosina trifosfato) e ADP (adenosina difosfato), assim como de muitas coenzimas e fosfoproteínas, além disso, interfere nos processos de divisão celular, fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia (GRANT, 2001; MALAVOLTA, 2006; TAIZ et al., 2017).

Na cana-de-açúcar, apesar de ser absorvido em menores quantidades, quando comparado ao nitrogênio (N) e ao potássio (K), a importância do P consiste no fato deste nutriente participar, direta e indiretamente, de muitos processos metabólicos, sendo essencial para que haja boa formação inicial e desenvolvimento do sistema radicular, brotação e perfilhamento adequado, o que reflete tanto na produtividade de colmos, como na qualidade tecnológica e longevidade do canavial (BASTOS et al., 2008; ROSSETTO et al., 2010; KINGSTON, 2014; SILVA et al., 2019).

Entretanto, o P tem sido o nutriente mais crítico nas adubações nos últimos anos no Brasil, devido à sua alta interação com o solo e à alta taxa de retenção de seus íons (CAIONE et al., 2015; BORGES et al., 2019). A parcela inorgânica de P no solo é dividida em fase líquida e fase sólida. Como consequência das reações de equilíbrio nos solos ácidos, o P encontra-se na solução do solo, predominantemente, como íons ortofosfato, enquanto na fase sólida do solo, este encontra-se combinado, principalmente, com metais, como o ferro (Fe) e o alumínio (Al), e com o cálcio e a matéria orgânica (RAIJ, 2001; MATOS et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2018), o que reduz a sua disponibilidade, especialmente em solos intemperizados (WITHERS et al., 2018; ASOMANING, 2020; HANYABUI et al., 2020), limitando o crescimento da cana-de-açúcar.

A fração sólida mais disponível para as plantas é considerada lábil, ao passo que a fração fortemente adsorvida ou precipitada em compostos insolúveis é considerada não lábil (SÁ, 2004). Os solos brasileiros são ricos em óxidos de Fe e Al que, junto com a caulinita, correspondem à maior porção da composição mineralógica da fração de argila do solo, isto é, a porção mais ativa, em que ocorrem as reações do P com estes compostos (RAIJ, 2004; CAIONE et al., 2015).

A maior parte dos fertilizantes fosfatados solúveis que são aplicados ao solo dissolve-se, move-se para a solução do solo, mas, como consequência da baixa solubilidade dos compostos formados e da forte possibilidade de adsorção, permanece retida na fase sólida como P lábil, migrando gradualmente a P não lábil (NOVAIS et al., 2007; RAIJ, 2011). Isto demonstra que, em nossos solos, prevalecem as formas orgânicas com estabilidade química e física e as formas inorgânicas ligadas à fração mineral com alta energia (RHEINHEIMER et al., 2008).

Além da problemática que envolve os solos brasileiros, mais de 70% dos fertilizantes minerais fosfatados utilizados na agricultura brasileira são importados e há uma preocupação global com os custos e a energia envolvidos na mineração do

fosfato e seu transporte das fábricas às lavouras, visto que trata-se de um recurso finito e de uma atividade que não é economicamente viável nem ecologicamente correta, apresentando como restrições a emissão de flúor como gás fluoreto de hidrogênio, o descarte de gesso e a acumulação de cádmio e outros metais pesados no solo e, possivelmente, nas colheitas, resultante do uso repetitivo de fertilizantes fosfatados (SHARMA et al., 2013; MENG et al., 2019).

Atualmente, o grande desafio da produção agrícola é tornar a agricultura mais sustentável, maximizando os benefícios líquidos que a sociedade recebe de sua produção, incluindo alimentos, fibras e energia, e reduzindo a degradação ambiental. Um solo saudável atua como um sistema vivo e dinâmico que beneficia o ecossistema através da manutenção da qualidade da água e da produtividade das culturas e do controle da ciclagem de nutrientes do solo (TAHAT et al., 2020).

A saúde do solo está intimamente associada à agricultura sustentável, porque a diversidade e a atividade dos microrganismos do solo são os principais componentes da saúde do solo (TAHAT et al., 2020). Nesse sentido, para atender a demanda de P durante o desenvolvimento da planta, visando à redução de perdas do nutriente, estudos têm demonstrado que alguns microrganismos podem melhorar a eficiência do uso do P no sistema solo-planta (MEENA et al., 2015; KUMAR et al., 2017; BILLAH et al., 2019; ESTRADA-BONILLA et al., 2021; AFZAL et al., 2022).

Os microrganismos solubilizadores de fosfato têm sido vistos como os melhores meios ecológicos na nutrição de P para as culturas (SHARMA et al., 2013; BILLAH et al., 2019; ESTRADA-BONILLA et al., 2021; AFZAL et al., 2022), pois através de diversos mecanismos de solubilização e mineralização, como a liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular e atividade enzimática (DASH et al., 2017; ZHU et al., 2018), são capazes de converter P orgânico e inorgânico do solo em uma forma disponível, possibilitando a absorção pelas raízes das plantas e reduzindo a dependência de fertilizantes fosfatados químicos (KHAN et al., 2009; SPOLAOR et al., 2016; SHEN et al., 2016). Dentre esses microrganismos, as bactérias do gênero *Bacillus* estão entre as mais abundantes na rizosfera e são consideradas bactérias solubilizadoras de fósforo (BSF) promissoras (SAEID et al., 2018).

Além disso, as comunidades microbianas do solo realizam processos essenciais durante a decomposição da matéria orgânica e solubilização de nutrientes, influenciando a produtividade das culturas (BALD et al., 2021; SANTOS et al., 2022). A atividade dessas comunidades no solo pode ser avaliada para entender os

mecanismos de ação das bactérias na solubilização do P. Essas avaliações podem ser realizadas por meio de indicadores microbiológicos, atividade de enzimas ligadas a ciclos biogeoquímicos de nutrientes e atividade de enzimas do metabolismo intracelular das bactérias (SOBUCKI et al., 2021).

Estudos já evidenciaram aumentos na produção de milho (KAUR; REDDY, 2014), arroz (COSTA et al., 2015), feijão mungu (HASSAN et al., 2017), soja (ZOHAIB et al., 2019), batata (UYSAL; KANTAR, 2020) e cana-de-açúcar (ROSA et al., 2020; PINJAI e AYE, 2021; ROSA et al., 2022) com o uso de diferentes BSP como biofertilizante. Além disso, Chungopast et al. (2021) verificaram aumentos na disponibilidade de P para a cana-de-açúcar por meio das BSP, mas a sua capacidade de substituir, mesmo que em parte, os insumos de fertilizantes fosfatados ainda precisa ser estudada.

Com base no contexto apresentado, percebe-se que a eficiência da fertilização fosfatada e, conseqüentemente, a brotação e o desenvolvimento da cana-de-açúcar, são altamente dependentes das características químicas e microbiológicas do solo. Para que haja aumento da disponibilidade de fósforo pode ser viável utilizar BSP. Conhecer o potencial da bactéria no aumento da disponibilidade de fósforo, bem como seu efeito nos processos metabólicos da planta através de análises morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, nutricionais e microbiológicas, pode auxiliar na correta recomendação de produtos biológicos e ainda, auxiliar pesquisas futuras que visem reduzir a utilização de fertilizantes fosfatados.

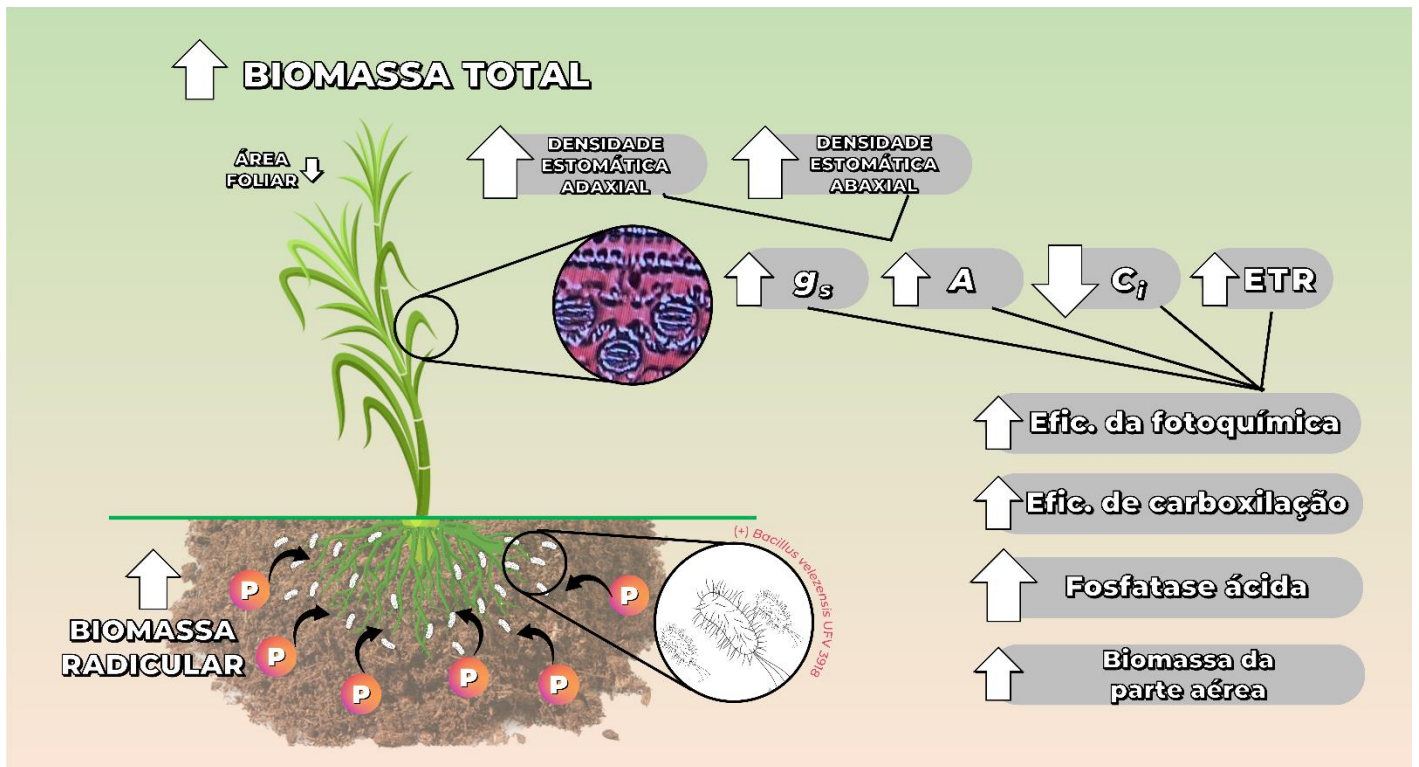
Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial de *Bacillus velezensis* cepa UFV 3918 no aumento da disponibilidade de fósforo no solo, seu efeito sobre as respostas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, nutricionais e de produção da cana-de-açúcar e sobre os indicadores microbiológicos de saúde do solo, bem como obter a dose adequada de fosfato monoamônico (MAP) para a cana-de-açúcar.

Hipotetizou-se que ocorreria aumento do teor de fósforo na parte aérea e do fósforo disponível no solo e que as variáveis influenciadas por este nutriente seriam favorecidas com a inoculação de *Bacillus velezensis* UFV 3918, em comparação aos tratamentos sem BSP, e que este microrganismo seria eficiente em reduzir a diferença normalmente observada entre as doses crescentes de fertilizante fosfatado.

Para testar esta hipótese, a pesquisa foi dividida em dois capítulos, sendo o capítulo 1 destinado a avaliar o desempenho da cultura da cana-de-açúcar durante o desenvolvimento vegetativo inicial, após a inoculação com *B. velezensis* e adubação

fosfatada, por meio de análises morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e de produção. Já o capítulo 2 foi designado a avaliar o efeito de *B. velezensis* e da adubação fosfatada na nutrição e variáveis radiculares da cana-de-açúcar e na química e microbiologia do solo.

GRAPHICAL ABSTRACT – CAPÍTULO 1



CAPÍTULO 1

***Bacillus velezensis* UFV 3918 ASSOCIADO À DOSE REDUZIDA DE FOSFATO AUMENTA A EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA E A BIOMASSA DA CANA-DE-AÇÚCAR ¹**

Hariane Luiz Santos^a, Melina Rodrigues Alves Carnietto^a, Gustavo Ferreira da Silva^{a1}, Gustavo Ferreira da Silva^{a2}, Caio Nascimento Fernandes^b e Marcelo de Almeida Silva^{a*}

^aLaboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura, Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

^bDepartamento de Engenharia Rural e Socioeconomia, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

(hariane.luiz@unesp.br, melina.carnietto@unesp.br, gustavo.ferreira@unesp.br, ferreirasilvagustavo@unesp.br, cn.fernandes@unesp.br, marcelo.a.silva@unesp.br)
(0000-0003-3322-111X, 0000-0002-0453-0071, 0000-0001-5788-8635, 0000-0002-0809-2814, 0000-0002-7142-5845, 0000-0002-9104-5583)

*Autor correspondente: Marcelo de Almeida Silva (marcelo.a.silva@unesp.br)

RESUMO

O fósforo (P) é o nutriente que mais limita a produção e longevidade dos canaviais, pois além de participar de muitos processos metabólicos, apresenta baixa eficiência de uso em termos de produção agrícola, entretanto, algumas cepas bacterianas já demonstraram potencial para melhorar a eficiência da adubação fosfatada e produção das culturas. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de *Bacillus velezensis* UFV 3918 combinado ou não com doses de fosfato monoamônico (MAP) nas respostas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e de produção da cana-de-açúcar. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos [Testemunha absoluta (TA) – sem MAP; Testemunha comercial (TC) – dose recomendada de MAP (3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP]] e quatro repetições. Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram incrementos médios máximos na área foliar (5,7%), assimilação de CO₂ (49,0%), eficiência de carboxilação (72,9%), taxa de transporte de elétrons

¹Capítulo elaborado de acordo com as normas do periódico “**Plant Physiology and Biochemistry**” (<https://www.sciencedirect.com/journal/plant-physiology-and-biochemistry>).

(28,5%), extinção fotoquímica (16,9%), teores de clorofila total (11,4%) e de aminoácidos (12,1%) e atividade da fosfatase ácida foliar (13,8%) em relação à TC, o que contribuiu para a maior biomassa da parte aérea. As principais variáveis que influenciaram a produção de biomassa da parte aérea foram área foliar, concentração interna de carbono, taxa de transporte de elétrons, atividade da fosfatase ácida e biomassa de colmos, com Bv+1/3 MAP sendo o tratamento mais promissor. Houve correlação negativa entre a componente morfologia, e positiva entre as componentes fisiologia, bioquímica e biomassa, e a produção de biomassa da parte aérea. Os resultados evidenciaram que o uso de *B. velezensis* UFV 3918 e doses reduzidas de fosfato melhorou a eficiência fotossintética e a produção de biomassa, sendo uma estratégia para a adubação da cana-de-açúcar com impacto econômico e ambiental reduzido.

Palavras-Chave: Bactérias promotoras do crescimento vegetal, Fertilizante fosfatado, Fosfatase ácida, Produção, Trocas gasosas, *Saccharum* spp.

CHAPTER 1 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 ASSOCIATED TO REDUCED DOSE OF PHOSPHATE INCREASES PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY AND BIOMASS IN SUGARCANE

ABSTRACT

Phosphorus (P) is the nutrient that most limits the yield and longevity of sugarcane fields because, besides participating in many metabolic processes, it presents low use efficiency in agricultural production. However, some bacterial strains have already shown potential to improve the efficiency of phosphate fertilization and crop production. Thus, this research aimed to evaluate the effect of *Bacillus velezensis* UFV 3918 combined or not with doses of mono ammonium phosphate (MAP) on morphological, physiological, biochemical, and biomass assessments. The experiment was carried out in a completely randomized design with six treatments [absolute control (AC); commercial control (CC) (recommended dose of MAP – 3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP] and four replicates. Bv and Bv+1/3 MAP provided maximum average increments in leaf area (5.7%), net CO₂ assimilation (49.0%), carboxylation efficiency (72.9%), electron transport rate (28.5%), photochemical quenching (16.9%), total chlorophyll content (11.4%), amino acid content (12.1%), and leaf acid phosphatase activity (13.8%) compared to the CC,

which implied greater shoot biomass. The main variables influencing shoot biomass production were leaf area, internal carbon concentration, electron transport rate, acid phosphatase activity, and stalk biomass, with Bv+1/3 MAP being the most promising treatment. There was negative correlation between the morphology component, and positive correlation between the physiology, biochemistry and biomass components, and the shoot biomass production. The results showed that using *B. velezensis* UFV 3918 and reduced phosphate doses improved photosynthetic efficiency and biomass production, being a strategy for sugarcane fertilization with reduced economic and environmental impact.

Keywords: Plant growth-promoting bacteria, Biomass, Phosphate fertilizer, Acid phosphatase, Gas exchange, *Saccharum* spp.

1.1 Introdução

A cana-de-açúcar é uma cultura importante em diversos países, pois serve como matéria-prima para a produção de açúcar e etanol (Bordonal et al., 2018). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e na safra de 2021/2022 produziu 585,2 milhões de toneladas em 8,31 milhões de hectares de terras cultivadas (Conab, 2022).

A adubação é um dos fatores mais críticos para atingir altas produtividades. Deste modo, é fundamental estudar o manejo da adubação, principalmente com fósforo (P), que é um dos nutrientes mais limitantes nos sistemas de cultivos agrícolas (Guignard et al., 2017). O P é indispensável para o crescimento e reprodução da planta, que não atinge seu máximo potencial produtivo sem um suprimento nutricional adequado (Marschner, 2012).

A importância do P consiste no fato deste nutriente participar, direta e indiretamente, de processos como divisão celular, fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, o que o torna essencial à boa formação inicial e desenvolvimento do sistema radicular, e à brotação e perfilhamento adequados, assim, a baixa disponibilidade de P afeta negativamente a atividade fotossintética, a formação da sacarose, a produtividade de colmos, a qualidade tecnológica e a longevidade do canavial (Teixeira et al., 2014; Albuquerque et al., 2016; Taiz et al., 2017; Silva et al., 2019; Preston et al., 2019).

Entretanto, apesar da concentração de fósforo (P) em uma ampla gama de solos ser alta (100–3000 mg P kg⁻¹ solo), a fração total de P biodisponível é baixa e varia de 0,1–10 µM (White e Brown, 2010; White e Hammond, 2008). Apenas cerca de 4% do P total no solo está disponível para as plantas na forma de ortofosfato (Alori et al., 2017), sendo que as formas inorgânicas de P representam cerca de 35–70% do P total no solo (Guignard et al., 2017).

Assim, dentre todos os macronutrientes, o P é o que apresenta a menor eficiência de uso em termos de produção agrícola, devido à sua alta interação com o solo e à alta taxa de retenção de seus íons (Chien et al., 2009; Caione et al., 2015; Borges et al., 2018), especialmente em regiões tropicais, em que a maioria dos fertilizantes fosfatados solúveis aplicados ao solo se dissolvem e permanecem retidos na fase sólida, em função da adsorção de P pelos minerais de Fe e Al, reduzindo a disponibilidade de P para o crescimento das plantas (Novais et al., 2007; Asomaning, 2020; Hanyabui et al., 2020).

Normalmente, os solos utilizados para o cultivo de cana-de-açúcar têm alta capacidade de fixação de P e, portanto, a aplicação de grandes quantidades de fertilizantes fosfatados solúveis é necessária para auxiliar no fornecimento dos níveis adequados de P que permitem um rendimento adequado da cultura (Roy et al., 2016).

Nesse sentido, como a demanda global por açúcar processado e bioetanol continua aumentando e, conseqüentemente, há aumento da demanda por fertilizantes fosfatados, melhorar a eficiência da fertilização fosfatada é importante para produzir cana-de-açúcar de forma mais econômica e sustentável.

Uma estratégia sustentável para o aumento da disponibilidade de P (Alori et al., 2017; Billah et al., 2019; Shukla, 2019; Rosa et al., 2020, 2022) e melhoria da eficiência do uso do P no sistema solo-planta (Meena et al., 2015; Kumar et al., 2017) é o uso de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP). BSP são microrganismos capazes de solubilizar e mineralizar fontes inorgânicas e orgânicas de P (Shen et al., 2016). Bactérias do gênero *Bacillus* são exemplos de microrganismos abundantes na rizosfera e promissores como solubilizadores de fosfato (Saeid et al., 2018).

Além de melhorar o suprimento de P, espécies de *Bacillus* podem favorecer a capacidade fotossintética das plantas por influenciar a condutância estomática e a tolerância celular à desidratação (Zhang et al., 2008; Li et al., 2016; Majid et al., 2020), promovendo maior eficiência do uso da água (Li et al., 2016; Fonseca et al., 2022) e maior eficiência de carboxilação (Fonseca et al., 2022). Deste modo, a inoculação com

bactérias pode favorecer o crescimento e a produtividade da cana-de-açúcar (Rampazzo et al., 2018; Rosa et al., 2020, Aye et al., 2021).

Nesse sentido, a seguinte hipótese foi formulada: a inoculação de *Bacillus velezensis* UFV 3918 nos minitoletes permite reduzir as doses de MAP e favorece o crescimento e a eficiência fotossintética da cana-de-açúcar, sem prejudicar a produção de biomassa.

Diante do contexto apresentado, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e de produção da cana-de-açúcar até 180 dias após o plantio sob o uso de *Bacillus velezensis* UFV 3918 combinado ou não com doses de fosfato monoamônico (MAP).

1.2 Material e métodos

1.2.1 Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi conduzido entre novembro de 2021 e maio de 2022 em uma instalação denominada ambiente protegido, localizada no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP, em Botucatu, SP, Brasil (22°51'01"S, 48°25'55"O e 786 m acima do nível do mar).

O ambiente protegido é constituído por uma estrutura de aço galvanizado e teto contendo arcos também em aço galvanizado, com pé direito de 3,6 m nas laterais e 4,8 m ao centro, perfazendo uma área total de 48 m². As laterais são fechadas com tela de polietileno anti-afídeos de 2 mm de diâmetro e 14% de nível de sombra e a cobertura é composta por plástico transparente de 150 µm.

A solarização foi utilizada como método de desinfestação do solo para o controle de patógenos (Patrício et al., 2005), com o objetivo de evitar efeitos de outros microrganismos sobre a brotação e crescimento das plantas e na solubilização do fosfato que não fossem oriundos da ação da cepa utilizada. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico (Santos et al., 2018a) e a análise granulométrica mostrou 68,2% de areia, 25,7% de argila e 6,1% de silte, caracterizando um solo de textura média.

A variedade RB966928 foi utilizada por ser a mais cultivada na região canavieira do Brasil, correspondendo a 17,7% da área cultivada em São Paulo (Braga Junior et al., 2021). Além disso, esta é uma planta que apresenta elevada velocidade de desenvolvimento, boa brotação em cana-planta, densidade do colmo média, alto índice de perfilhamento, altas produtividades e elevada sanidade vegetal.

Os dados climáticos de temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental foram coletados através de um data logger (Instrutherm, HT-500, São Paulo, SP, Brasil). As plantas foram cultivadas sob irrigação total (100% da capacidade do vaso), através de irrigação com gotejadores (Netafim, PCJ-CNL 4 L/h, Ribeirão Preto, SP, Brasil), controlando-se a vazão com registros.

1.2.2 Descrição, obtenção e procedência do produto

O produto comercial utilizado contém 7 g L⁻¹ do ingrediente ativo *Bacillus velezensis* UFV 3918, com um mínimo de $1,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹, com dosagem recomendada de 2 L ha⁻¹ para a cana-de-açúcar. O produto à base da cepa UFV 3918 foi obtido da Vittia, com sede em São Joaquim da Barra, SP, Brasil.

1.2.3 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos [Testemunha absoluta (TA) – sem MAP; Testemunha comercial (TC) – dose recomendada de MAP (3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP] e quatro repetições.

Para minimizar o efeito varietal na brotação, o plantio foi realizado com minitoletes com comprimento médio de 5 cm e diâmetro médio de 2 cm, de mesma idade e bom aspecto sanitário. Cinco minitoletes foram plantados por vaso e, após a estabilização da brotação, o desbaste foi realizado, mantendo-se apenas uma planta por vaso.

Cada parcela foi composta por vasos de 50 L contendo 45 dm³ de solo, corrigidos com base na análise química de acordo com Vitti et al. (2015) e seguindo as doses de adubação fosfatada com MAP (60% de P solúvel em citrato neutro de amônio e 12% de N) exigidas pelos tratamentos (Tabela 1). Para a cana-de-açúcar, é recomendado utilizar 30 a 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura antes da formação dos colmos, com doses maiores em solos mais argilosos (Santos et al., 2018a). Assim, a adubação de cobertura com ureia foi realizada na quantidade de 1,5 g vaso⁻¹ (30 kg N ha⁻¹).

Tabela 1 Análise química inicial do solo e doses dos fertilizantes adicionados no plantio.

pH	MO	Al ³⁺	H + Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	P _{resina}	S	Cu	Fe	Mn	Zn	B
CaCl ₂	g dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³							mg dm ⁻³							
6,0	40,1	0,7	20,8	0,6	75,2	26,4	102,2	123,0	83,0	61,8	34,1	0,3	22,7	0,7	1,2	0,2
Adubação de plantio																
Dose				N				P				K				
Dose recomendada de MAP				36,12 kg ureia ha ⁻¹ (0,813 g ureia vaso ⁻¹)				125 kg MAP ha ⁻¹ (2,8 g MAP vaso ⁻¹)				250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)				
2/3 da dose recomendada de MAP				46,3 kg ureia ha ⁻¹ (1,04 g ureia vaso ⁻¹)				83,33 kg MAP ha ⁻¹ (1,878 g MAP vaso ⁻¹)				250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)				
1/3 da dose recomendada de MAP				56,47 kg ureia ha ⁻¹ (1,272 g ureia vaso ⁻¹)				41,7 kg MAP ha ⁻¹ (0,939 g MAP vaso ⁻¹)				250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)				
Sem MAP				66,6 kg ureia ha ⁻¹ (1,5 g ureia vaso ⁻¹)				–				250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)				

MO (matéria orgânica); SB (soma de bases); V% (saturação por bases); CTC (capacidade de troca catiônica).

O plantio foi realizado no dia 12 de novembro de 2021. Os fertilizantes foram adicionados ao solo no momento do plantio. Para a inoculação da bactéria, uma solução composta por 75 mL de água em pH 7,0 e 2 mL do produto comercial contendo um isolado de *B. velezensis* UFV 3918 (10^8 UFC mL⁻¹) foi aplicada por vaso. As gemas foram posicionadas a 2 cm de profundidade, sendo que cada gema dos tratamentos contendo bactérias recebeu 15,4 mL dessa solução, enquanto as gemas dos demais tratamentos receberam 15,4 mL de água.

1.2.4 Avaliações morfológicas

As avaliações de brotação foram realizadas diariamente desde a primeira gema até a estabilização da brotação. O número final de brotações por vaso foi transformado em porcentagem.

Adicionalmente, a velocidade de brotação (VB) e o índice de velocidade de brotação (IVB) foram calculados de acordo com as equações (1) e (2), respectivamente, propostas por Maguire (1962).

Para a VB utilizou-se a seguinte equação:

$$VB = \frac{[(N1 B1)+(N2 B2)+\dots+(Nn Bn)]}{(B1+B2+\dots+Bn)} \quad (1)$$

onde VB é a velocidade de brotação (dias), Bn é o número de brotações observadas nas “n” contagens e Nn é o número de dias do plantio as “n” contagens.

E para o IVB utilizou-se a seguinte equação:

$$IVB = \frac{B1}{N1} + \frac{B2}{N2} + \frac{B3}{N3} + \dots + \frac{Bn}{Nn} \quad (2)$$

onde IVB é o índice de velocidade de brotação, Bn é o número de brotações observadas nas “n” contagens e Nn é o número de dias do plantio as “n” contagens.

As avaliações de altura do colmo (AC), diâmetro do colmo (DC), número de perfilhos (NP) e área foliar (AF) foram realizadas aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o plantio (DAP). A AC foi determinada com fita métrica, sendo a medida realizada do solo até a inserção da folha +1, que é caracterizada como a primeira folha com a lígula totalmente aberta, também conhecida como folha TVD (*top visible dewlap*) (Raij et al., 1997). O DC foi determinado com um paquímetro digital (MeterMall, leitura de 150 mm e 0,1 mm, Marysville, OH, EUA) e as medidas foram realizadas no terço médio da planta. O NP foi determinado pela contagem dos perfilhos presentes na área útil de cada vaso. E a AF foi calculada de acordo com a metodologia de Hermann e Câmara (1999), utilizando medidas da largura e comprimento da folha +3.

Para o cálculo da AF utilizou-se a seguinte equação:

$$AF = C \times L \times 0.75 \times (N + 2) \quad (3)$$

onde, C é o comprimento da folha +3, que é caracterizada como a terceira folha com a lígula totalmente aberta, L é a sua largura, 0,75 é o fator de correção da cultura e N o número de folhas abertas com pelo menos 20% de área verde.

1.2.5 Avaliações fisiológicas

As variáveis fisiológicas relacionadas à densidade estomática, às trocas gasosas e à fluorescência da clorofila a foram obtidas aos 60, 118 e 180 DAP, utilizando a folha +1, que é considerada a mais ativa fotossinteticamente.

Para a contagem de estômatos foi utilizada a metodologia descrita por Mazumdar et al. (1969). Foi aplicada uma fina camada de esmalte incolor e fita adesiva transparente para coletar duas amostras de impressão de estômatos, paralelas a nervura central das folhas +1, nas faces abaxial e adaxial. Em seguida, a fita adesiva com a impressão dos estômatos foi colocada em uma lâmina e a contagem foi realizada em uma área de 0,0744 mm² no microscópio óptico (Biovídeo, BEL Photonics, Monza, Itália), utilizando a objetiva de 40x de aumento.

Da avaliação das trocas gasosas foram obtidas a taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e concentração interna de carbono (C_i). As medidas foram obtidas na região central da folha +1 com um analisador de gás a infravermelho (IRGA) (LI-COR Biosciences Inc., LI-6400XT, Lincoln, Nebraska, EUA). As medições foram realizadas entre 09:00 e 11:30 h da manhã, utilizando densidade de fluxo de fótons fotossintéticos constante de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na câmara foliar, concentração atmosférica de CO₂, temperatura e umidade ambiente. A eficiência instantânea do uso da água (EUA) foi calculada pela razão A/E e a eficiência instantânea de carboxilação (EC) pela razão A/ C_i .

As análises de fluorescência da clorofila a e respiração (R_d) foram realizadas no período noturno, entre 19:30 e 23:00 h. A R_d foi determinada sob irradiância suficientemente baixa ($<1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração atmosférica de CO₂, temperatura e umidade ambiente. As variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila a foram obtidas através de um fluorômetro de câmara foliar 6400-40 acoplado ao IRGA. Nas folhas adaptadas à luz, a radiação dos pulsos de saturação para determinar a fluorescência máxima (F_m') foi de 7.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8 s, enquanto a luz actínica foi de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A fluorescência mínima (F_0) foi determinada sob

irradiância suficientemente baixa ($<1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A fluorescência máxima (F_m) foi determinada após um pulso de saturação de $4.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8 s nas folhas no escuro. E medições do rendimento quântico da fotoquímica do fotossistema II (FSII) foram obtidas pela aplicação de um pulso de saturação de luz ($7.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por 0,8 s) sob irradiância ambiente. As variáveis rendimento quântico potencial do FSII (F_v/F_m), rendimento quântico máximo variável do FSII (F_v/F_m), extinção fotoquímica (qP), extinção não fotoquímica (NQP) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) foram calculados de acordo com Schreiber et al. (1998).

1.2.6 Avaliações bioquímicas

Os teores de pigmentos fotossintéticos e índice SPAD foram determinados aos 60, 118 e 180 DAP.

Os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b*, total e carotenoides) foram determinados em dois discos foliares de $0,28 \text{ cm}^2$, amostrados com o auxílio de um furador entre a borda e a nervura central da folha +1. Os discos foram imersos por 48 h em solução de dimetilformamida (DMF), sob proteção da luz. Em seguida, foi feita a diluição de 1 mL do extrato em 1 mL de água deionizada e a absorbância das amostras foi determinada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) nos comprimentos de onda de 480, 647 e 664 nm. O cálculo das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenoides foi baseado na metodologia descrita por Wellburn (1994) e os resultados foram expressos em $\mu\text{g cm}^{-2}$.

A estimativa do conteúdo de clorofila via unidade SPAD foi obtida utilizando um clorofilômetro portátil (SPAD-502, Minolta Corporation, Ramsey, NJ, EUA). Este índice foi obtido pela média de três leituras por planta, realizadas na base, no meio e na ponta da folha +1.

Para as análises dos teores de proteínas, açúcares solúveis, aminoácidos e atividade da fosfatase ácida, uma semana antes da colheita, folhas +1 foram coletadas e acondicionadas em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenadas em ultrafreezer a -80°C (NUAIRE Inc., NU-9668GC, Plymouth, MN, EUA).

O teor de proteína solúvel foi determinado em amostras de 100 mg de tecido foliar, maceradas em nitrogênio líquido e adicionadas a um meio de homogeneização contendo tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM e 200 mg de polivinilpirrolidona (PVPP) para extração. Os homogeneizados foram centrifugados a

5000×g a 4°C por 10 min e, em seguida, os sobrenadantes foram usados como extratos brutos. Uma alíquota de 20 µL do extrato bruto foi adicionada a 5 mL da solução de Coomassie Brilliant Blue G-250. Após 15 min, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) a 595 nm. As concentrações de proteína solúvel foram calculadas com base na curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) a 1 mg mL⁻¹ e os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de matéria fresca (MF) (Bradford, 1976).

Os açúcares solúveis foram determinados através de 20 mg de amostras de tecido foliar liofilizado, utilizando 4 mL de água deionizada para a extração. A mistura foi agitada por 1 h e as amostras foram centrifugadas a 3000×g por 15 min, logo após o sobrenadante foi coletado. O sobrenadante foi centrifugado a 6000×g por 10 min e este extrato foi utilizado para determinar os açúcares solúveis através da metodologia de Dubois et al. (1956). Foram adicionados em tubos de ensaio 0,5 mL do extrato, 0,5 mL de fenol 5% (v/v) e 2,5 mL de ácido sulfúrico, seguido de agitação, resfriamento e fixação da cor em bandejas com gelo. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) a 490 nm. Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ MF⁻¹.

A determinação dos aminoácidos totais foi realizada a partir de 20 mg de amostras de tecido foliar liofilizado, homogeneizadas com 2 mL de tampão Na-K-fosfato 0,01 M contendo NaCl 0,1 M (pH 7,6) em banho de gelo e agitadas durante 1 h. A mistura foi centrifugada a 3000×g a 4°C por 5 min. Em seguida, adicionou-se 1 mL de ácido tricloroacético 10% (m/v) a 1 mL do sobrenadante e, após 1 h de repouso, as amostras foram centrifugadas a 12.000×g a 4°C por 5 min e o sobrenadante foi utilizado como extrato bruto. Foram adicionados em tubos de ensaio 0,5 mL do extrato bruto, 0,25 mL de tampão citrato de sódio 0,2 M (pH 5,0), 0,1 mL de ninhidrina 5% em metilcelosolve 100% (v/v) e 0,5 mL de cianeto de potássio 0,0002 M em metilcelosolve 100% (v/v). Em seguida, os tubos foram mantidos em banho-maria a 100°C por 20 min e, após o resfriamento em banho de gelo, adicionou-se aos tubos 3,65 mL de etanol 60% (v/v) para a fixação da cor violeta. A absorbância foi analisada em um espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) a 570 nm e os resultados foram comparados com a curva padrão de glicina (0,1–1,0 µmol mL⁻¹) (Yemm e Cocking, 1955). Os resultados foram expressos em µmol g⁻¹ MF⁻¹.

A atividade da fosfatase ácida foi determinada em 500 mg de amostras de tecido foliar, maceradas em nitrogênio líquido e adicionadas a um meio de

homogeneização contendo tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) para extração. Os homogeneizados foram centrifugados a 15.000×g a 4 °C por 20 min e, em seguida, os sobrenadantes foram usados como extratos brutos. A reação foi iniciada pela incubação de 500 µL de extrato com 200 µL de substrato [2 mmol L⁻¹ de *p*-nitrofenil fosfato dissódico (pNFF) e 150 mmol L⁻¹ de tampão acetato de sódio (pH 5,6)] a 37 °C por 10 min e interrompida pela adição de 300 µL de solução saturada de Na₂CO₃. Após mistura por agitação, a absorbância foi determinada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão) a 400 nm (Ozawa et al., 1995). A atividade enzimática foi expressa em nmol pNFF min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

1.2.7 Rendimento e partição de biomassa

Aos 180 DAP, as plantas foram colhidas e separadas em folhas, bainhas, colmos e raízes. Para obter a produção de biomassa, as plantas foram particionadas em biomassa foliar (BF), biomassa de bainhas (BB), biomassa de colmos (BC) e biomassa radicular (BR), assim, obteve-se a biomassa da parte aérea (folhas + bainhas + colmos) (BPA) e total (parte aérea + raiz) (BT). As partes das plantas foram mantidas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingirem massa constante e, em seguida, pesadas em balança de precisão de 0,01 g (Balmak, ELC-6/15/30, Santa Bárbara d'Oeste, SP, Brasil).

Na biomassa de folhas foram consideradas todas as folhas produzidas pela planta (folhas secas e folhas verdes); na biomassa de bainhas foram consideradas todas as bainhas produzidas pela planta (bainhas secas e verdes); na biomassa de colmos foram considerados todos os perfilhos do vaso (desde a base do solo até o meristema apical) e na biomassa radicular foi considerado o sistema radicular da touceira.

1.2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Levene) e, após atenderem os pressupostos, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com o teste F, com posterior comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) por meio do software estatístico AgroEstat (AgroEstat, versão 2015, Jaboticabal, SP, Brasil). Os dados biométricos foram submetidos a ajuste de regressão ao longo dos períodos de avaliação para analisar o

comportamento dos tratamentos, utilizando o software Minitab (Minitab®, versão 19, State College, PA, EUA).

Adicionalmente, as variáveis de brotação, bioquímicas e de produção foram submetidas a ajuste de regressão considerando as doses de MAP associadas a *B. velezensis* (Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP), através do software Minitab (Minitab®, versão 19, State College, PA, EUA).

Em seguida, as variáveis foram divididas em quatro grupos, sendo que o grupo fisiologia foi subdividido em três períodos avaliativos (60, 118 e 180 DAP). O grupo denominado “morfologia” foi composto por %brotação, VB, IVB, AC, DC, NP e AF; o grupo “fisiologia” foi composto pelas variáveis DEAD, DEAB, A, g_s , C_i , E, EC, EUA, ETR, F_v'/F_m' , qP, NQP, F_v/F_m e R_d ; o grupo “bioquímica” foi composto pelas variáveis Chl_a, Chl_b, Chl total, Chl_a/Chl_b, carotenoides e SPAD, aos 60, 118 e 180 DAP, e proteína, açúcares totais, aminoácidos totais e fosfatase ácida foliar; e o grupo “biomassa” pelas variáveis BF, BB, BC e BR.

Em cada grupo de variáveis, foi aplicada a análise de componentes principais (PCA) (Hair et al., 2009) por meio do algoritmo de mínimos quadrados parciais iterativos não lineares (NIPALS). E para cada conjunto de variáveis buscou-se o menor número possível de componentes que explicassem pelo menos 70% da variabilidade total.

Os escores dos quatro grupos de variáveis foram então comparados com os escores de biomassa da parte aérea e plotados em gráficos de dispersão, considerando a média de cada tratamento. A partir dos escores das componentes principais selecionadas de cada grupo de variáveis, foi avaliada a associação de cada componente na biomassa da parte aérea das plantas de cana-de-açúcar por meio do coeficiente de correlação linear de Pearson ($p<0,01$).

1.3 Resultados

1.3.1. Condições ambientais durante o experimento

Durante o experimento, a temperatura do ar dentro do ambiente protegido variou de 12,5 a 32,0 °C, com média de 21,2 °C, 22,4 °C, 23,4 °C, 21,9 °C, 21,6 °C, 21,7 °C, 19,2 °C e 18,0 °C no plantio, 1ª avaliação biométrica (AB), 2ª AB, 3ª AB, 4ª AB, 5ª AB, 6ª AB e colheita, respectivamente (Fig. 1).

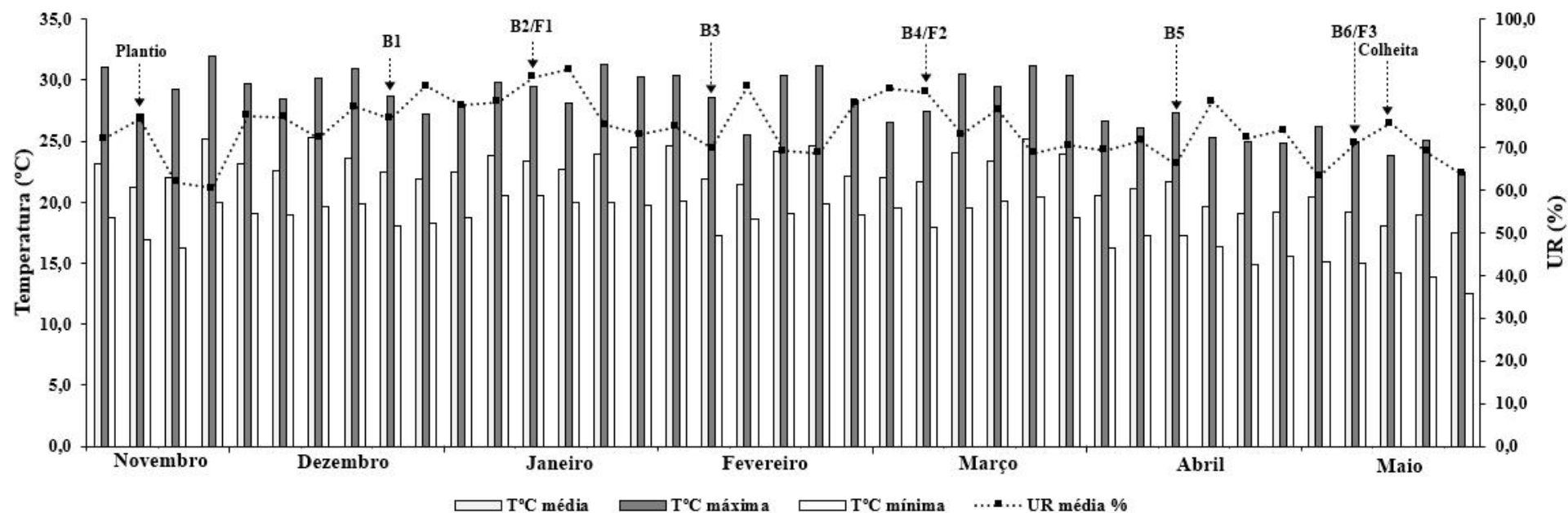


Fig. 1. Temperatura média, máxima e mínima do ar e umidade relativa média no interior do ambiente protegido durante o período experimental.

B1: 1ª avaliação biométrica (AB); B2: 2ª AB; B3: 3ª AB; B4: 4ª AB; B5: 5ª AB e B6: 6ª AB. F1: 1ª avaliação fisiológica (AF); F2: 2ª AF; F3: 3ª AF.

A umidade relativa durante o ciclo de cultivo variou de 60,4 a 88,1%, com média de 76,5%, 76,7%, 86,4%, 69,7%, 82,9%, 66,0%, 70,9% e 75,6% no plantio, 1ª AB, 2ª AB, 3ª AB, 4ª AB, 5ª AB, 6ª AB e colheita, respectivamente (Fig. 1).

1.3.2. Avaliações morfológicas

Em geral, a %brotação não foi uniforme, com TC e Bv+1/3 MAP proporcionando os maiores valores (Fig. 2A). A brotação foi reduzida com o aumento das doses de MAP associadas à *B. velezensis*, sendo que Bv+1/3 MAP apresentou %brotação 28,6% superior à Bv+3/3 MAP, sugerindo que a bactéria foi mais eficiente sob doses menores de MAP, o que pode ser resultado do potencial de solubilização de P, uma vez que o solo possuía alto teor deste macronutriente (Tabela 1).

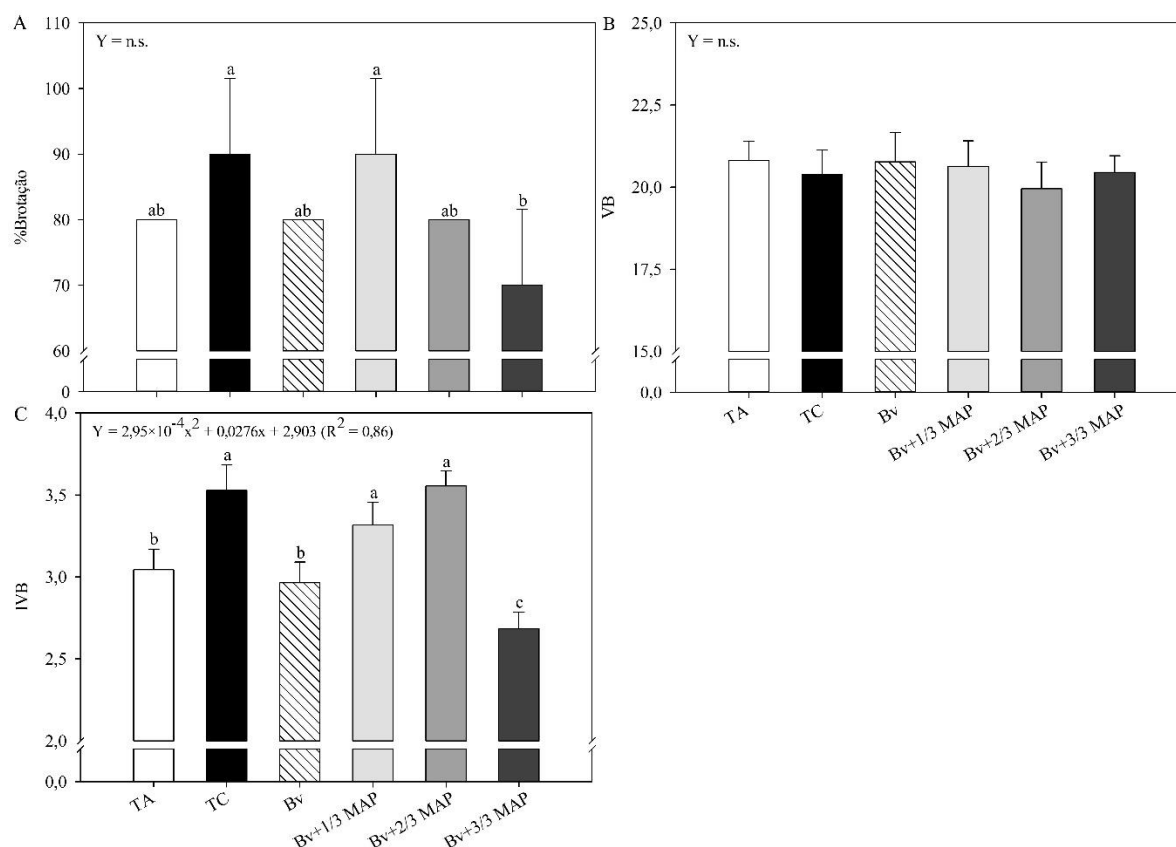


Fig. 2. %Brotação (A), velocidade de brotação (VB) (B) e índice de velocidade de brotação (IVB) (C) de gemas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônio (MAP). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Não houve diferença entre os tratamentos para VB, o que evidencia que o uso de *B. velezensis* não afetou a média de dias necessários para a brotação (Fig. 2B). E os maiores valores para IVB foram verificados em TC, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP, evidenciando maior número médio de gemas brotadas por dia (Fig. 2C). Houve tendência de aumento do IVB com a inoculação de *B. velezensis* e aumento da quantidade de MAP até 2/3 da dose recomendada, seguido de redução desta variável quando a maior dose foi utilizada (0,86*).

TA apresentou a menor AC durante todo o período de avaliação, enquanto as plantas conduzidas com maiores doses de P (TC e Bv+3/3 MAP) apresentaram as maiores AC durante todo o período de avaliação (Fig. 3A). Os tratamentos com *B. velezensis* e doses reduzidas de P apresentaram menor AC inicial, mas a partir de 120 DAP as curvas se aproximaram de TC e Bv+3/3 MAP, com destaque para B que entre 150 e 180 DAP superou a TC, evidenciando o potencial de promoção do crescimento da cepa UFV 3918.

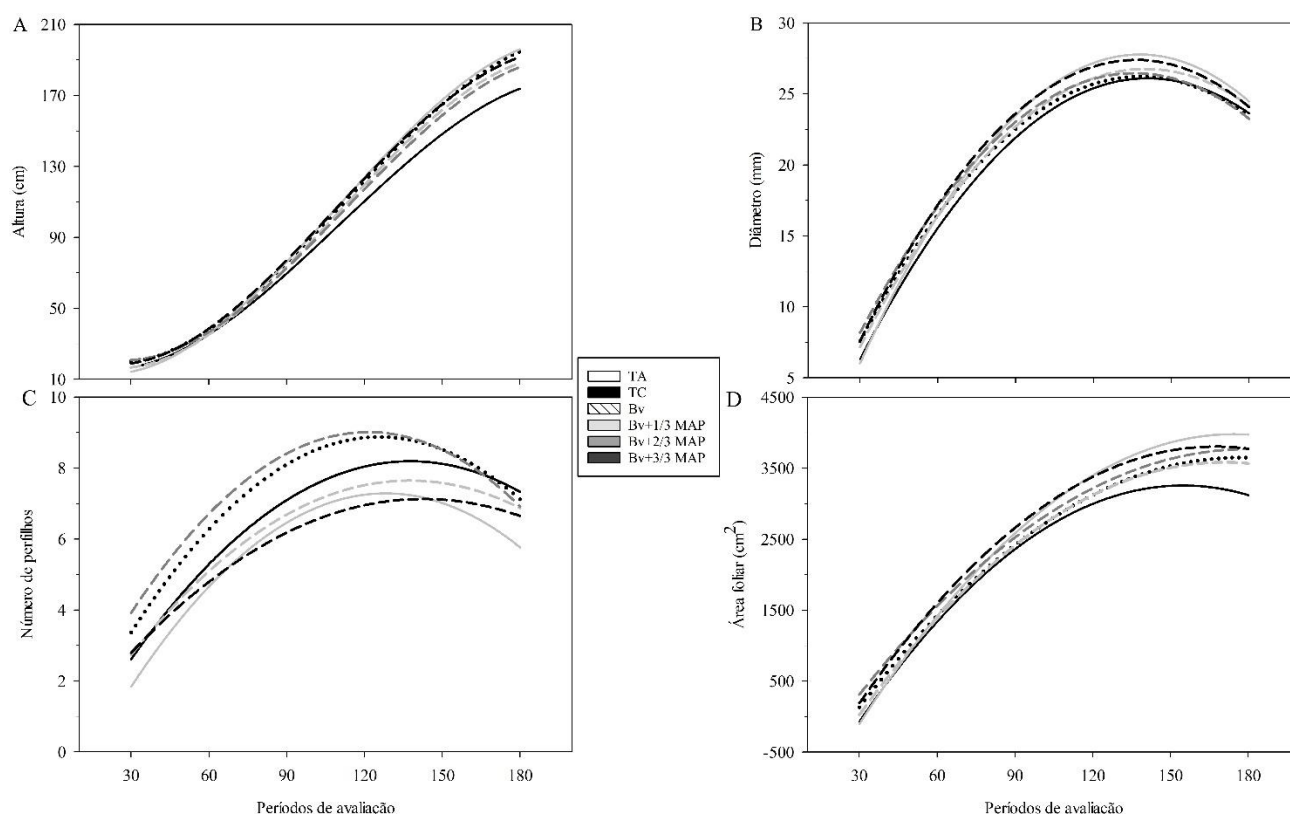


Fig. 3. Curvas de regressão ao longo das épocas de avaliação (30, 60, 90, 120, 150 e 180 DAP) para altura do colmo (A), diâmetro do colmo (B), número de perfilhos (C) e área foliar (D) da cana-de-açúcar sob a associação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônio (MAP).

O comportamento das curvas de DC foi semelhante entre os tratamentos (Fig. 3B). Houve aumento do DC até 150 DAP, seguido de redução desta variável, ocasionada pelo final da fase de perfilhamento e início da fase de grande crescimento da cultura, conhecida pelo alongamento dos colmos e espaços entrenós e possível redução no diâmetro. Em geral, a inoculação de *B. velezensis* proporcionou aumento do DC, com destaque para Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+3/3 MAP, enquanto TA e TC apresentaram os menores DC (Fig. 3B).

Em geral, houve aumento do NP entre 30 DAP e 120 DAP, seguido de queda acentuada nos valores na maioria dos tratamentos (Fig. 3C). Isso pode ter ocorrido devido à redução da temperatura média a partir do final de março (Fig. 1), que afeta negativamente o perfilhamento, bem como pela competição e restrição espacial, causada pelo alongamento dos colmos e aumento de seus diâmetros. TC e Bv+2/3 MAP apresentaram os maiores NP durante todo o período de avaliação.

Houve tendência de aumento da AF até 180 DAP, sem estabilização, na maioria dos tratamentos (Fig. 3D). A fase de grande crescimento da cana-de-açúcar é marcada pelo rápido aumento do desenvolvimento foliar do 6º ao 7º mês (Jaiphong et al., 2016; Rodrigues et al., 2018), favorecendo a alta produção de fotoassimilados e o início do acúmulo de sacarose, o que explica a maior AF verificada aos 180 DAP (Fig. 3D). A associação de Bv + doses de MAP proporcionou as maiores AF, com destaque para Bv que superou todos os tratamentos, enquanto TA apresentou a menor AF ao longo de todo o ciclo.

As equações referentes a AC, DC, NP e AF para cada tratamento estão descritas Tabela S1.

1.3.3. Avaliações fisiológicas

Considerando a densidade estomática da face adaxial (DEAD), aos 60 DAP, o maior valor foi verificado em Bv+3/3 MAP, sendo 18,4% superior à verificada na TC (Fig. 4A). Aos 118 DAP, TC, Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+3/3 MAP resultaram DEAD semelhantes e, aos 180 DAP, a maior DEAD foi observada em Bv, representando aumento de 34,3% em relação à TC (Fig. 4A). Desempenho semelhante foi observado na densidade estomática da face abaxial (DEAB) aos 60 DAP, em que Bv+3/3 MAP proporcionou aumento de 20,9% em relação à TC (Fig. 4B), e aos 118 e 180 DAP, todos os tratamentos com *B. velezensis* resultaram DEAB igual ou superior à TC. Bv

e Bv+2/3 MAP proporcionaram incrementos médios de 10,0% e 11,2% na DEAB em relação à TC, aos 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 4B).

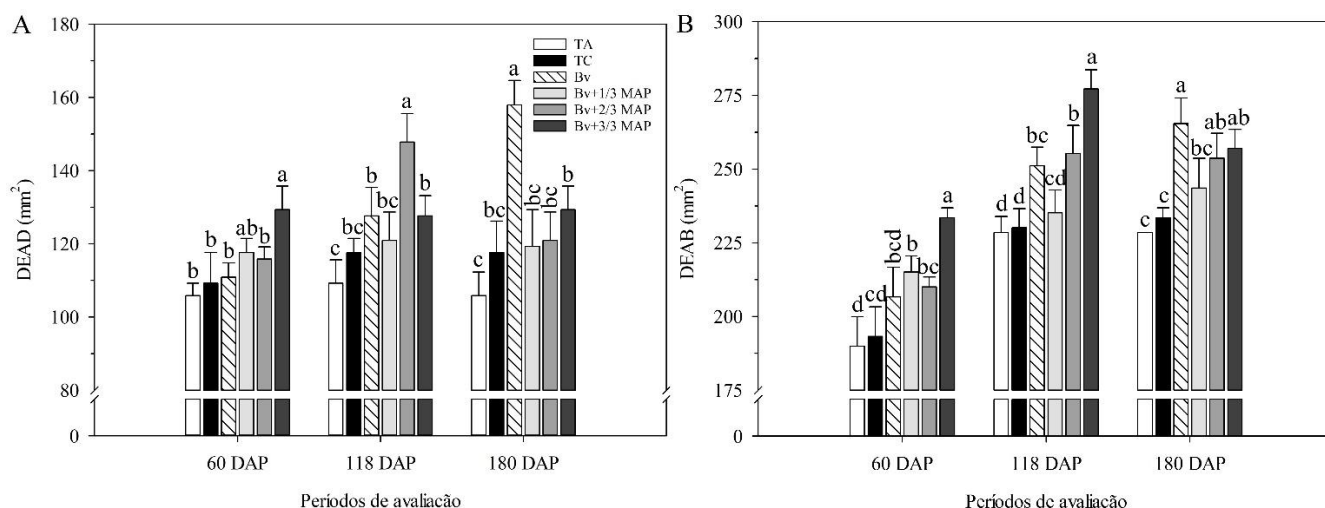


Fig. 4. Densidade estomática da face adaxial (DEAD) (A) e densidade estomática da face abaxial (DEAB) (B) de folhas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

O menor desempenho referente às variáveis relacionadas à fluorescência da clorofila *a* foi verificado em TA (Fig. 5). Em geral, houve tendência de redução de ETR, F_v'/F_m' , qP e NPQ entre 60 e 180 DAP (Fig. 5 A–D). Além disso, aos 118 DAP, não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC para ETR, F_v'/F_m' , qP e NPQ (Fig. 5 A–D).

Aos 60 DAP, as maiores ETR foram observados em Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, que proporcionaram aumento médio de 15% em relação à TC (Fig. 5A). Aos 180 DAP, Bv e Bv+1/3 MAP causaram aumento médio de 28,5% na ETR em relação à TC (Fig. 5A).

Com relação ao F_v'/F_m' , aos 60 DAP, os maiores valores foram observados em Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, que proporcionaram incremento médio de 8,2% em relação à TC (Fig. 5B). E aos 180 DAP, foi verificado aumento de 33,1% no F_v'/F_m' de Bv, quando comparado à TC.

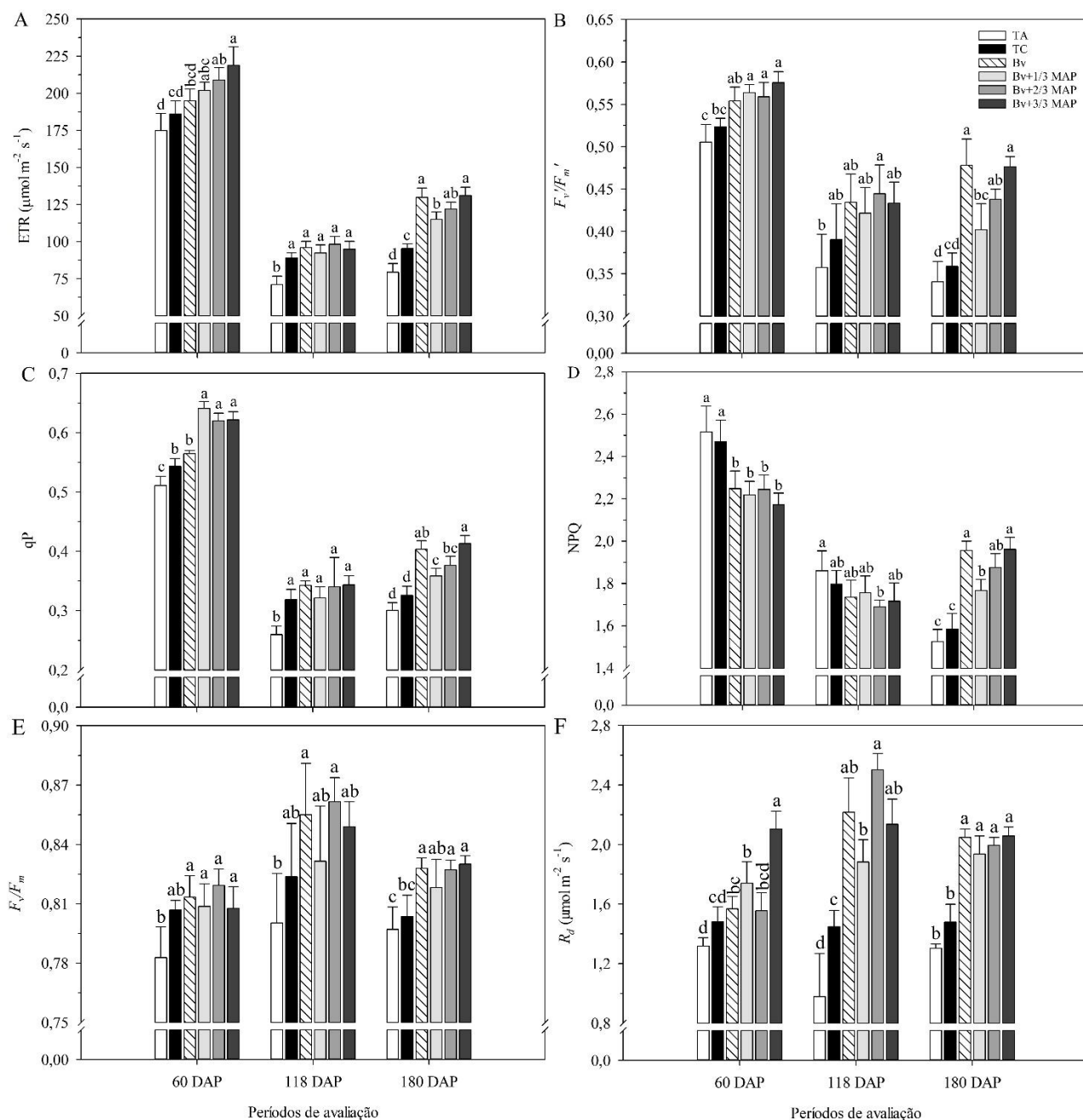


Fig. 5. Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (A), rendimento quântico potencial do FSII (F_v'/F_m') (B), extinção fotoquímica (qP) (C), extinção não fotoquímica (NPQ) (D), rendimento quântico máximo variável do FSII (F_v/F_m) (E) e respiração noturna (R_d) (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Aos 60 DAP, os maiores qP foram verificados em Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, que proporcionaram incremento médio de 15,6% em relação à TC (Fig. 5C). E aos 180 DAP, foi verificado aumento de 23,9% no qP de Bv, quando comparado à TC e, de modo geral, no mesmo período, os tratamentos inoculados com *B. velezensis* proporcionaram aumento médio de 19,0% no qP em relação à TC.

Quanto ao NPQ, TA e TC proporcionaram NPQ, em média, 12,2% superior aos verificados nos tratamentos inoculados com *B. velezensis* aos 60 DAP, enquanto, aos 180 DAP, as plantas inoculadas proporcionaram aumento médio de 21,6% no NPQ em relação às plantas não inoculadas (Fig. 5D).

Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* e a TC para o F_v/F_m aos 60 DAP. Aos 118 DAP, Bv e Bv+2/3 MAP proporcionaram aumento médio de 4,8% no F_v/F_m em relação à TC e, aos 180 DAP, Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram aumento médio de 3,0% nesta variável em relação à TC (Fig. 5E).

E aos 60 DAP, Bv+3/3 MAP proporcionou a maior R_d , representando aumentos de 42,1% e 29,8% em relação à TC e aos demais tratamentos inoculados com *B. velezensis*, respectivamente (Fig. 5F). E as plantas inoculadas com a cepa UFV 3918 apresentaram aumentos médios de 50,8% e 35,8% na R_d em relação à TC, aos 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 5F).

Assim como observado para as variáveis de fluorescência da clorofila *a*, houve redução de A , g_s e E , e aumento de C_i , entre 60 e 180 DAP, o que contribuiu para a redução da EUA e da EC ao longo deste período (Fig. 6). Isto pode ser resultado do envelhecimento da planta e da redução da temperatura média verificada ao longo das avaliações (Fig. 1).

Aos 60 DAP, o melhor desempenho com relação às trocas gasosas foi verificado em Bv+3/3 MAP, entretanto, ao longo das avaliações, os tratamentos com *B. velezensis* e doses reduzidas de fosfato melhoraram o desempenho fotossintético, em alguns momentos até se equiparando a Bv+3/3 MAP, com destaque para Bv. Ainda, a TA também teve o menor desempenho fisiológico com relação às trocas gasosas ao longo de todo o ciclo (Fig. 6).

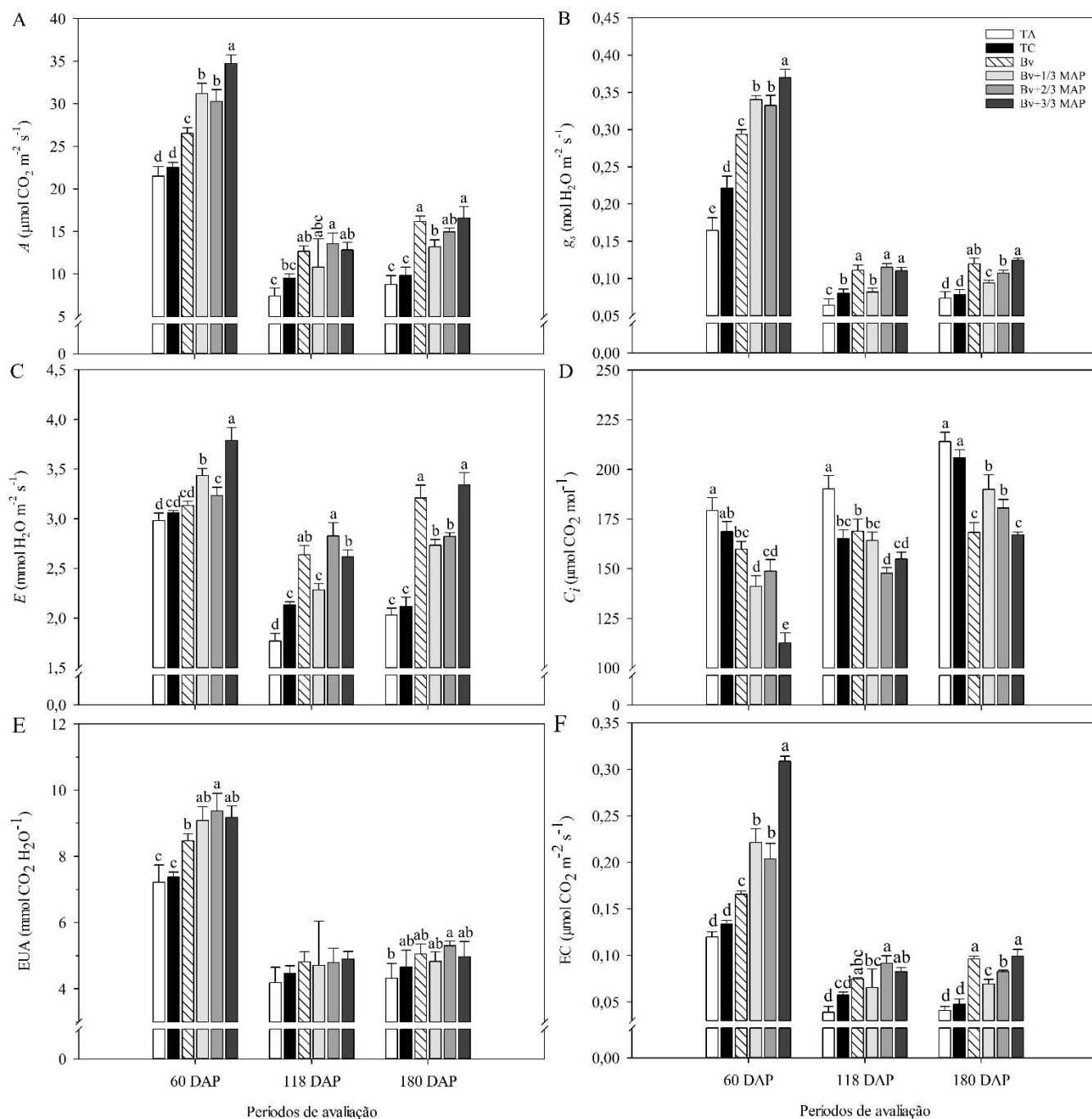


Fig. 6. Assimilação instantânea de CO₂ (A) (A), condutância estomática (g_s) (B), taxa transpiratória (E) (C), concentração interna de carbono (C_i) (D), eficiência instantânea do uso da água (EUA) (E) e eficiência instantânea de carboxilação (EC) (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Aos 60 DAP, Bv+1/3 MAP incrementou a A em 38,4% em relação à TC, enquanto Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram incrementos médios de 23,3% e 49,0% na A em relação à TC, aos 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 6A). Com relação à g_s , Bv e Bv+1/3 MAP promoveram incrementos médios de 42,8% e 35,4% em relação à TC, aos 60 e 180 DAP, respectivamente. Não houve diferença entre Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP para g_s aos 118 DAP, mas estes aumentaram a g_s , em média, em 40% quando comparados à TC (Fig. 6B).

Em Bv foi verificada E semelhante à TC aos 60 DAP, mas proporcionou aumentos de 23,6% e 51,6% nesta variável aos 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 6C), devido à maior g_s e A verificadas neste período. Quanto ao C_i , não houve diferença entre Bv e TC aos 60 e 118 DAP, entretanto, aos 180 DAP, Bv resultou C_i 18,3% inferior ao verificado na TC (Fig. 6D). Bv+1/3 MAP promoveu C_i semelhante à TC aos 118 DAP, mas, aos 60 e 180 DAP, foram verificadas reduções de 16,3% e 7,8%, respectivamente, no C_i de Bv+1/3 MAP em relação à TC (Fig. 6D).

Aos 60 DAP, Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram EUA, em média, 14,8% superior à verificada na TC, entretanto, não houve diferença entre os tratamentos para a EUA aos 118 DAP, bem como não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC aos 180 DAP (Fig. 6E). No que se refere à EC, aos 60 DAP, Bv e Bv+1/3 MAP incrementaram a EC em 23,9% e 64,9%, respectivamente, em relação à TC; bem como, aos 180 DAP, proporcionaram aumentos de 100% e 43,8% na EC, respectivamente, em relação à TC (Fig. 6F).

1.3.4. Avaliações bioquímicas

Houve redução dos teores de clorofila a (Chl $_a$), clorofila b (Chl $_b$), clorofila total (Chl total) e carotenoides e do índice SPAD entre 60 DAP e 180 DAP, como resultado do envelhecimento da planta, sendo que os menores valores para as variáveis de pigmentos fotossintéticos ao longo de todo o período foram verificados na TA (Fig. 7). Aos 60 DAP, Bv+3/3 MAP teve o melhor desempenho com relação aos pigmentos fotossintéticos, mas, ao longo das avaliações, a associação de Bv + doses reduzidas de MAP permitiu a equiparação a Bv+3/3 MAP, com destaque para Bv e Bv+1/3 MAP, que promoveram desempenhos semelhantes entre si.

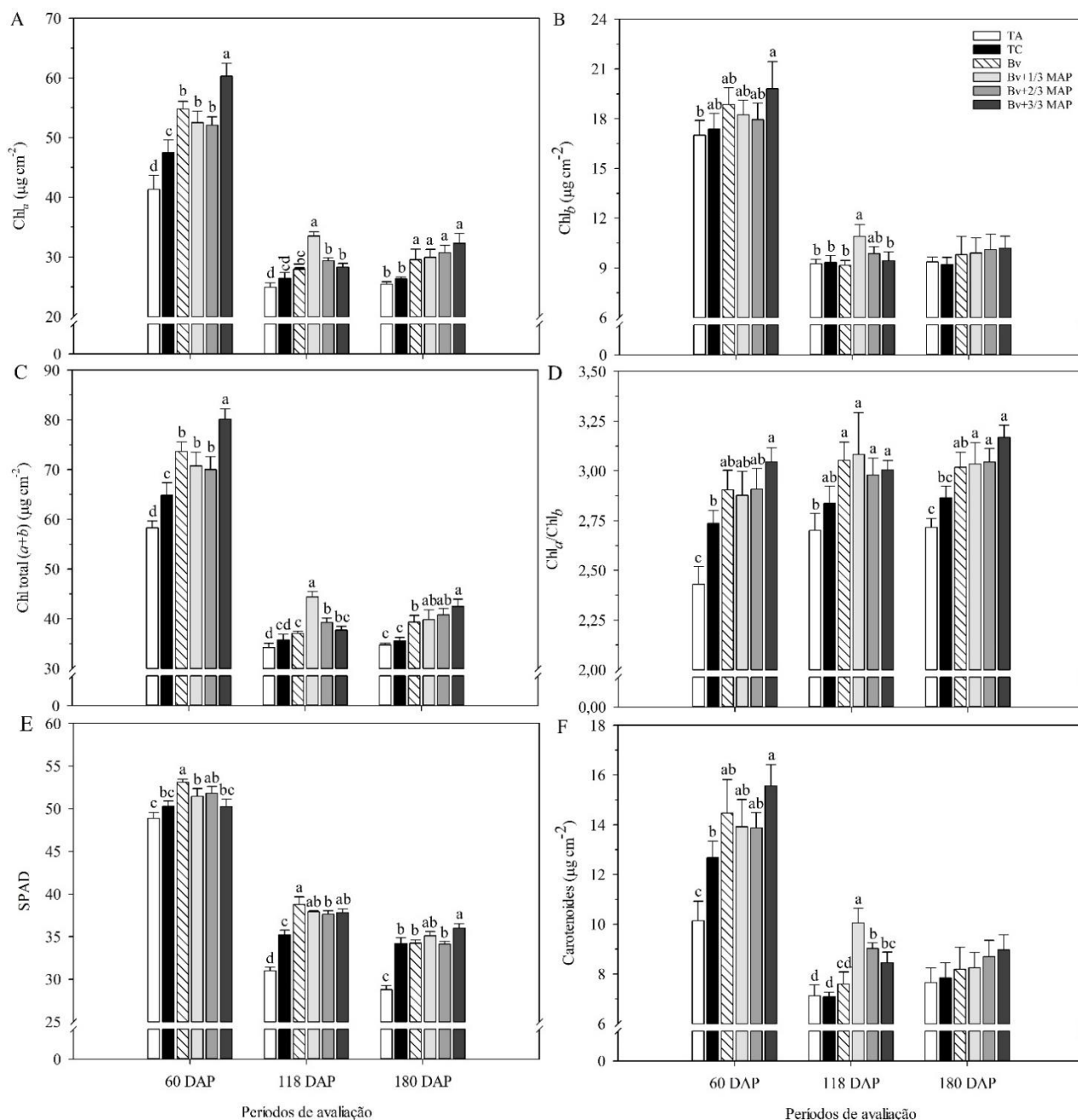


Fig. 7. Teores de clorofila a (Chl_a) (A), clorofila b (Chl_b) (B) e clorofila total (Chl_{total}) (C), razão Chl_a/Chl_b (D), índice SPAD (E) e teor de carotenoides (F) de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 60, 118 e 180 DAP.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Bv+1/3 MAP proporcionou aumentos de 10,5%, 26,7% e 13,6% no teor de Chl_a em relação à TC, aos 60, 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 7A). Com relação ao

teor de Chl_b , não houve diferença entre TC e Bv + doses de MAP aos 60 DAP, assim como não houve diferença entre os tratamentos aos 180 DAP, entretanto, aos 118 DAP, Bv+1/3 MAP incrementou o teor de Chl_b em 16,8% em relação à TC (Fig. 7B).

A inoculação de *B. velezensis* proporcionou aumentos no teor de Chl total nos três períodos de avaliação (Fig. 7C). Bv+1/3 MAP resultou em aumentos de 9,01%, 24,2% e 12,1% no teor de Chl total em relação à TC, aos 60, 118 e 180 DAP, respectivamente (Fig. 7C). Não houve diferença na razão $\text{Chl}_a/\text{Chl}_b$ entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis*, independente da dose de MAP utilizada (Fig. 7D). Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP revelaram $\text{Chl}_a/\text{Chl}_b$ semelhante à TC aos 60 e 118 DAP, enquanto Bv+1/3 MAP incrementou esta variável em 5,6% quando comparado à TC aos 180 DAP.

Bv apresentou índice SPAD 5,6% e 10,3% superior ao verificado na TC aos 60 e 118 DAP, respectivamente (Fig. 7E), mas não diferiu da TC aos 180 DAP. Considerando o teor de carotenoides, não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* aos 60 DAP, mas Bv+3/3 MAP proporcionou aumento de 22,9% nesta variável quando comparado à TC (Fig. 7F). Aos 118 DAP, Bv+1/3 MAP incrementou o teor de carotenoides em 41,7% em relação à TC, ao passo que não houve diferença entre os tratamentos para esta variável aos 180 DAP.

Não houve diferença entre a TC e Bv + doses de MAP para o teor de proteína (Fig. 8A) e não houve ajuste de regressão. Os maiores teores de açúcares totais (ACT) foram observados em Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP, que proporcionaram aumentos médios de 9,3% e 11,5% nesta variável em comparação à TC e à TA, respectivamente (Fig. 8B), mas não houve ajuste de regressão de Bv + doses de MAP para o teor de ACT.

Os maiores teores de aminoácidos totais (AMT) foram observados nos tratamentos com Bv + doses de MAP. Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram aumentos de 9,8%, 14,5%, 16,4% e 10,3% no teor de AMT, respectivamente, em relação à TC (Fig. 8C). Bv + doses de MAP promoveu aumentos no teor de AMT com até 66% da dose de MAP, seguido de redução desta variável com 100% de MAP (0,70*).

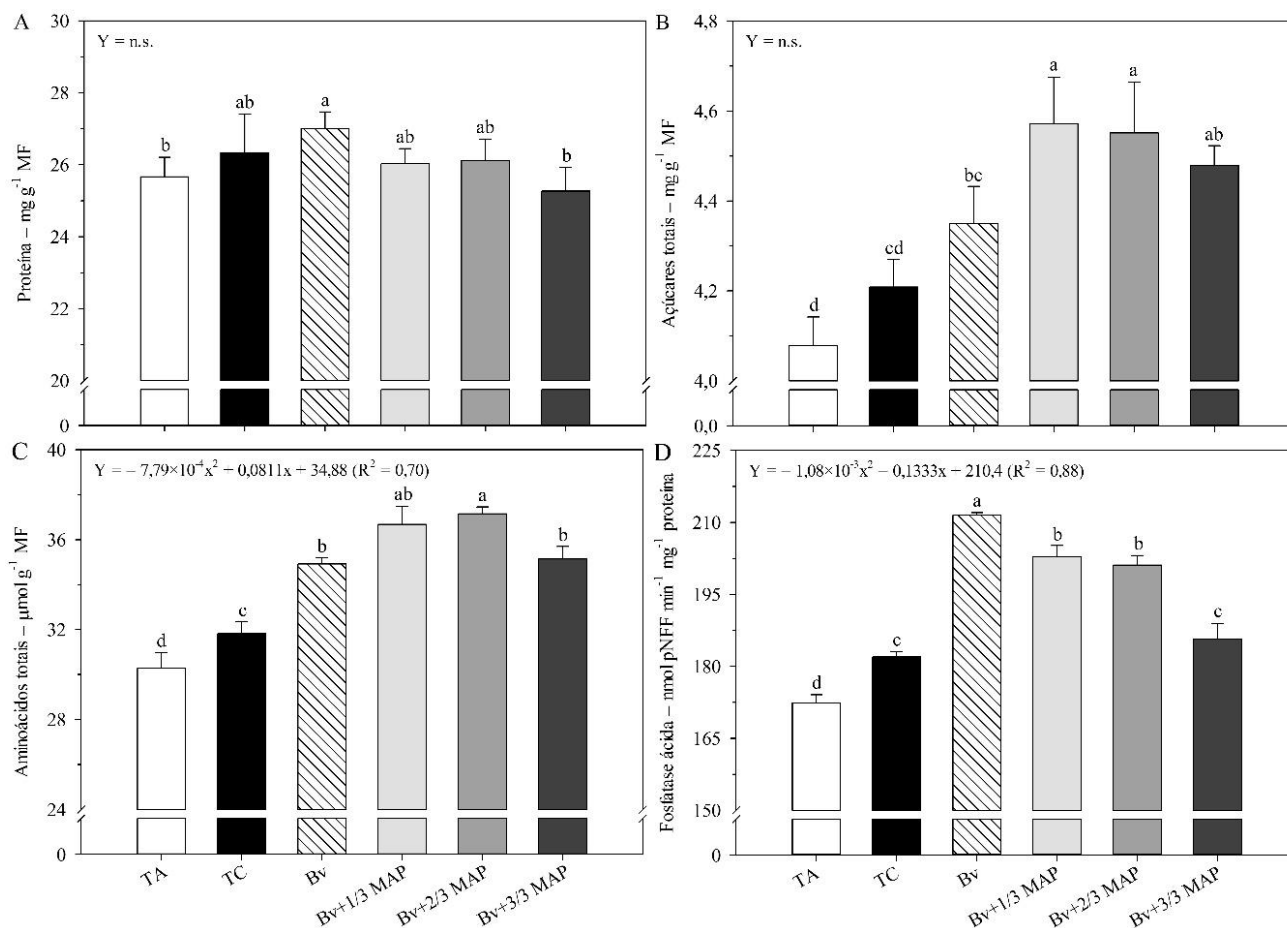


Fig. 8. Teor de proteína (A), açúcares solúveis totais (B), aminoácidos totais (C) e atividade da fosfatase ácida (D) em folhas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). As equações de regressão e o R² referem-se à associação entre *B. velezensis* e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Em relação à atividade da fosfatase ácida foliar (FAF), Bv e Bv + doses reduzidas de MAP (Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP) proporcionaram as maiores atividades enzimáticas, com aumentos médios de 16,4% e 10,6% em relação à TC (Fig. 8D). À medida que houve associação de Bv e doses crescentes de MAP, houve redução na atividade da FAF (0,88*).

1.3.5. Rendimento e partição de biomassa

As plantas de cana-de-açúcar apresentaram respostas diferentes para a produção de biomassa entre os tratamentos inoculados e não inoculados com *B. velezensis* e diferentes doses de MAP (Fig. 9).



Fig. 9. Aspecto visual da parte aérea do colmo principal (folhas, bainhas e colmos) e sistema radicular de plantas de cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

A maior BF foi verificada em Bv+3/3 MAP, representando aumento de 4,7% em relação à TC, entretanto, Bv+3/3 MAP conferiu BF similar a Bv+1/3 MAP (Fig. 10A). Bv + doses de MAP incrementou a BF até 100% da dose de MAP (0,73*), mas a não aplicação de MAP proporcionou o melhor resultado, visto que foi semelhante ao resultado obtido com 100% de MAP.

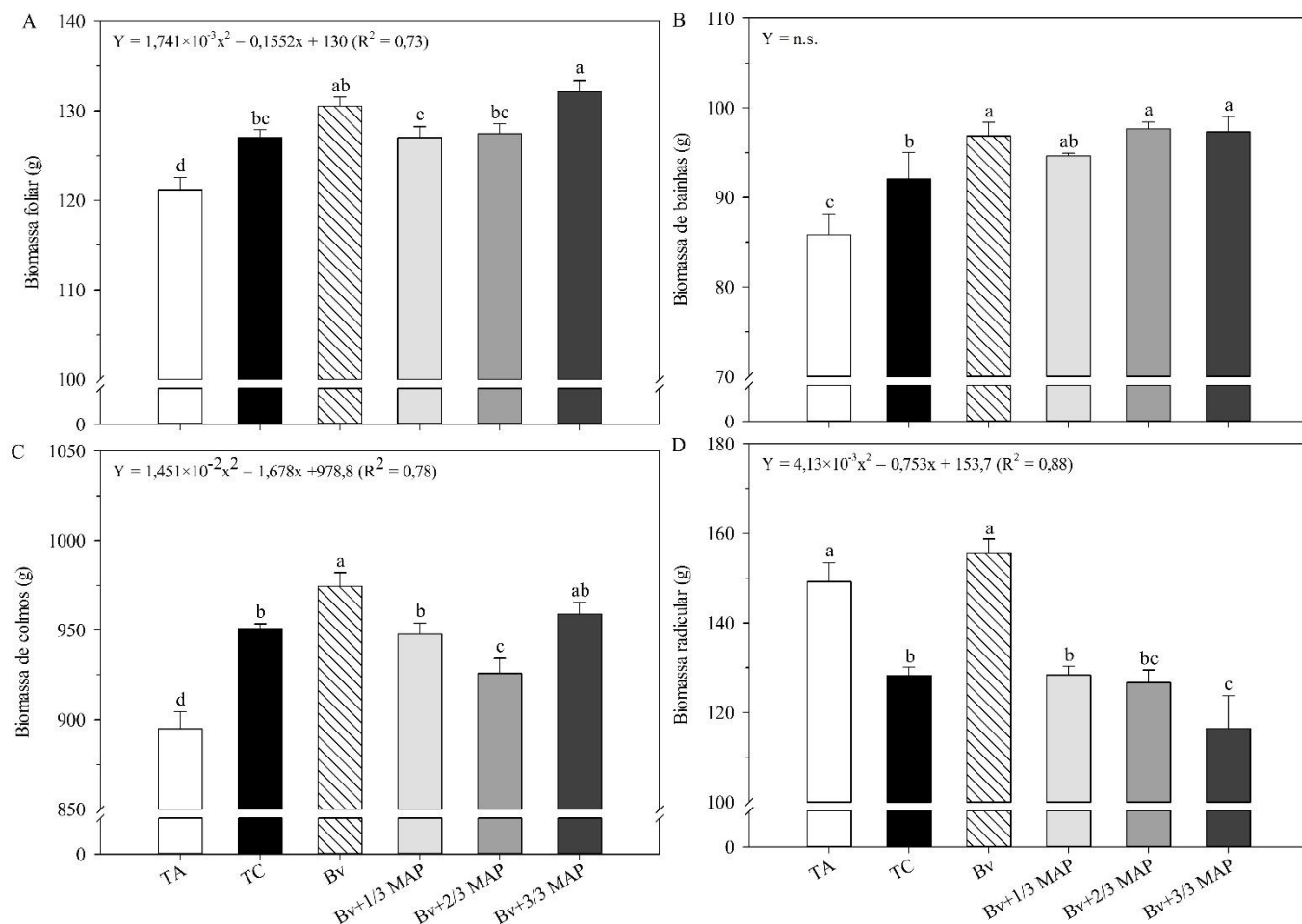


Fig. 10. Biomassa foliar (BF), biomassa de bainhas (BB), biomassa de colmos (BC) e biomassa radicular (BR) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Não houve diferença na produção de BB entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis*. As maiores BB foram observadas com Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, que proporcionaram incremento médio de 5,5% em relação à TC (Fig. 10B). Não houve ajuste de Bv + doses de MAP para a BB.

As maiores BC foram observadas em Bv e Bv+3/3 MAP, entretanto, Bv+1/3 MAP foi equivalente à TC, evidenciando que a inoculação com a cepa UFV 3918 propiciou a redução da dose de P (Fig. 10C). Bv proporcionou BC 3,8% superior à verificada na TC. Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento

da dose de P, houve redução da BC até 66% da dose recomendada de MAP, seguido de aumento tênue com 100% da dose de MAP (0,78*).

Com relação à BR, os tratamentos sem adubação fosfatada (TA e Bv) apresentaram os maiores valores, o que representa incremento médio de 19,3% em relação à TC (Fig. 10D). Considerando Bv + doses de MAP (0,88*), à medida que houve aumento da dose de MAP, ocorreram reduções na BR, evidenciando que o melhor desenvolvimento do sistema radicular foi verificado sem adubação fosfatada.

De modo semelhante à BC, as maiores BPA foram observadas em Bv e Bv+3/3 MAP, entretanto, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3MAP foram equivalentes à TC, evidenciando que a inoculação com a cepa UFV 3918 permitiu a redução da dose de P, sem prejudicar a produção de biomassa (Fig. 11A). Bv proporcionou BPA 3,2% superior à verificada na TC. Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento da dose de P, houve redução sutil da BPA até 66% da dose recomendada de MAP, seguido de aumento tênue com 100% da dose de MAP (0,71*).

A maior BT foi verificada em Bv, devido à elevada produção de parte aérea e raízes, representando um aumento de 6,5% em relação à TC (Fig. 11B). O comportamento da associação de *B. velezensis* e doses de MAP foi similar ao verificado na produção de BPA, à medida que houve aumento da dose de P, houve redução da BT até 66% da dose recomendada de MAP, seguido de aumento tênue com 100% da dose de MAP (0,74*).

E no que se refere à relação BPA/BR, o maior valor foi verificado em Bv+3/3 MAP, com incrementos de 35,2% e 11,4% em relação aos tratamentos sem adubação fosfatada (TA e Bv) e aos demais tratamentos (TC, Bv+1/3MAP e Bv+2/3MAP), respectivamente, o que evidencia que Bv+3/3 MAP investiu mais energia na produção de BPA em relação aos outros tratamentos. Por outro lado, TA e Bv investiram mais energia na produção de raízes, quando comparados aos demais tratamentos (Fig. 11C). Com relação a Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento da dose de P, houve incremento da relação BPA/BR (0,82*), evidenciando que o aumento das doses de MAP causou redução da produção de raízes em detrimento da parte aérea.

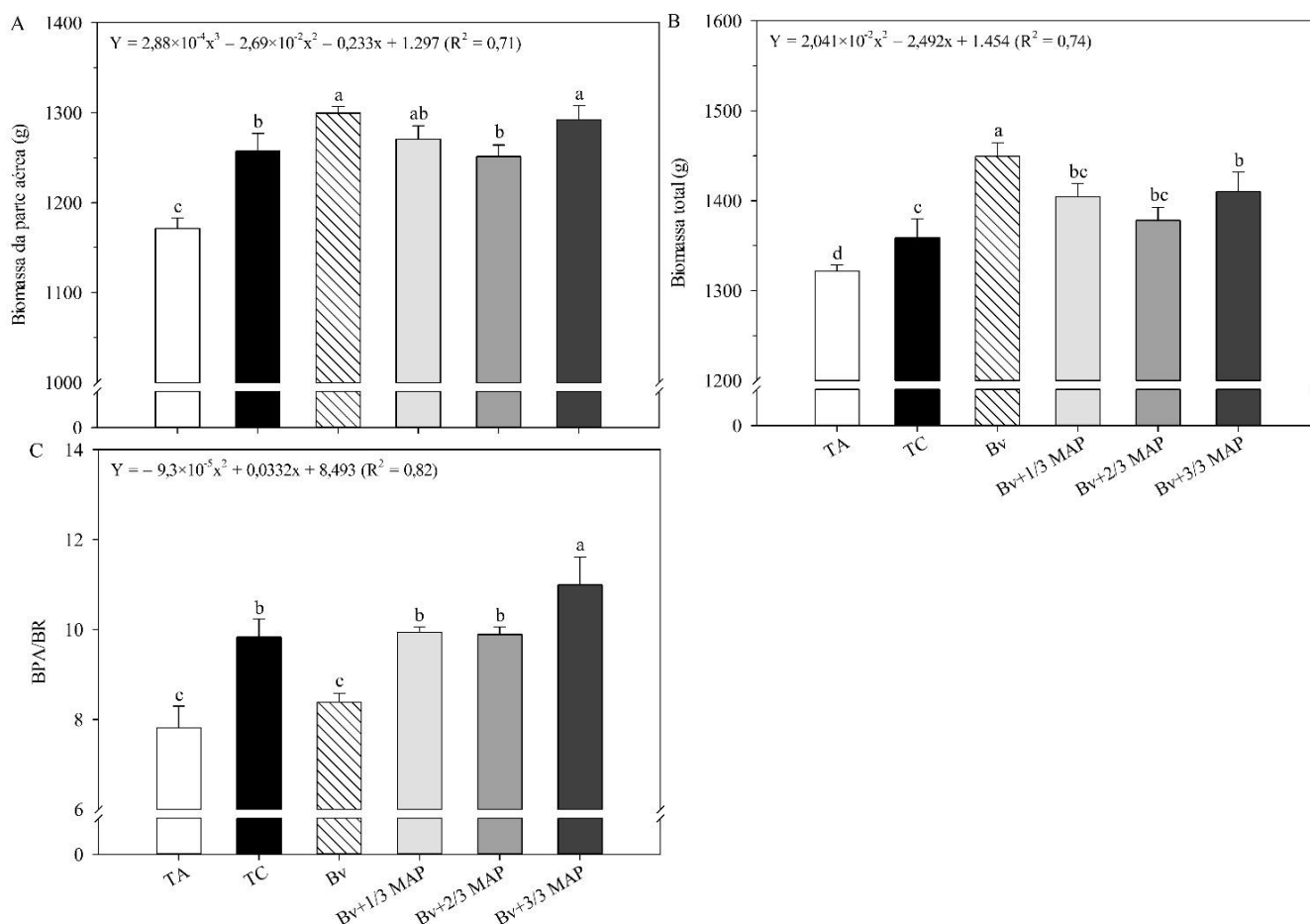


Fig. 11. Biomassa da parte aérea (BPA), biomassa total (BT) e relação biomassa de parte aérea e biomassa radicular (BPA/BR) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Em relação à partição da biomassa da cana-de-açúcar nos seis meses de cultivo, houve equilíbrio na partição de BB, BF e BC entre os tratamentos, com pequenas diferenças (Fig. 12A). No que se refere à partição da BT, TC apresentou a maior partição de BPA, seguido por Bv+3/3 MAP e Bv+1/3 MAP, resultando em 92,15%, 91,67% e 90,83%, respectivamente. Dentre os tratamentos inoculados, Bv apresentou a menor partição de BPA, mas propiciou maior investimento na produção de raízes (Fig. 12B), confirmando o que foi observado na relação BPA/BR (Fig. 11C).

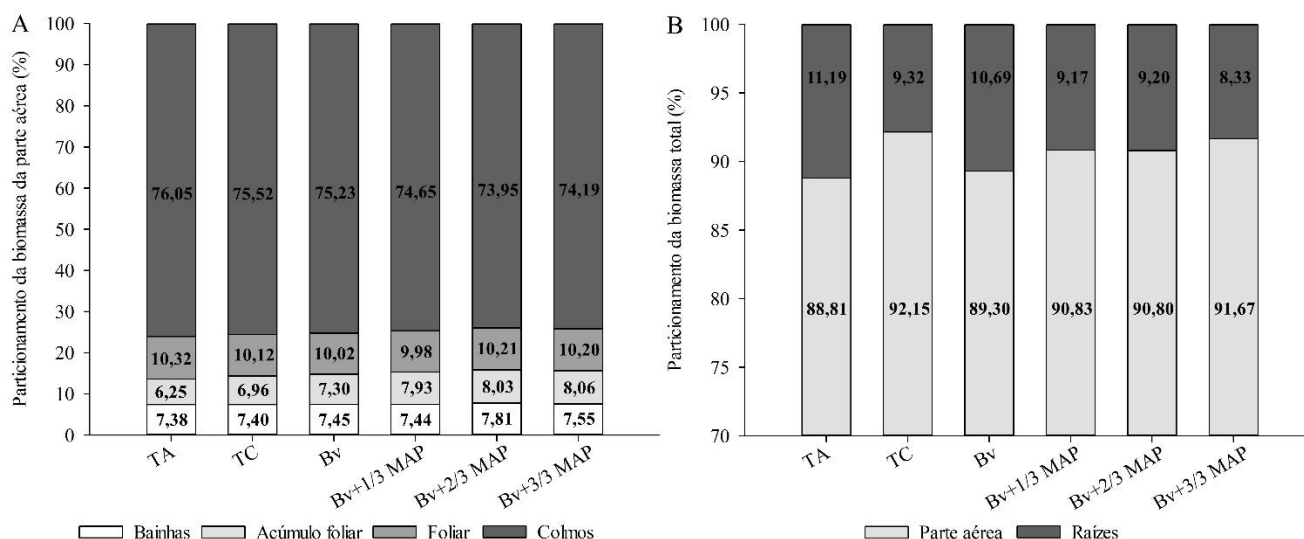


Fig. 12. Partição da biomassa da parte aérea (A) e da biomassa total (Bv) de plantas de cana-de-açúcar aos 180 DAP, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

1.3.6. Análise das componentes principais

A partir da matriz de correlação entre os pares de cada grupo de variáveis (morfologia, fisiologia aos 60 DAP, 118 DAP e 180 DAP, bioquímica e biomassa), foram obtidos os autovalores e seus respectivos autovetores para a análise das componentes principais.

A primeira componente principal já explicou mais de 70% da variância para todos os grupos de variáveis (Tabela 2), portanto apenas ela foi considerada para explicar os resultados.

Tabela 2 Porcentagem de explicação da primeira componente dos grupos de variáveis morfologia, fisiologia 60 DAP, fisiologia 118 DAP, fisiologia 180 DAP, bioquímica e biomassa.

Grupos de variáveis	Porcentagem de explicação (%)
Morfologia	99,84
Fisiologia 60 DAP	86,57
Fisiologia 118 DAP	71,55
Fisiologia 180 DAP	85,94
Bioquímica	74,13
Biomassa	79,85

Dentre todas as variáveis analisadas, área foliar (AF), concentração interna de carbono (C_i) aos 60 DAP, densidade estomática da face abaxial (DEAB) aos 118 DAP, C_i aos 180 DAP, atividade da fosfatase ácida foliar e biomassa de colmos (BC) são as características que mais explicam as respectivas componentes (Fig. 13), com cargas de $-0,99$, $-0,69$, $0,65$, $-0,54$, $0,81$ e $0,99$, respectivamente.

Através da dispersão bidimensional dos tratamentos, houve diferença entre os tratamentos inoculados (Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP) e não inoculados (TA e TC) para todos os grupos de variáveis. Plantas inoculadas com *B. velezensis* em associação com 1/3 da dose recomendada de MAP apresentaram potencial de produção de biomassa da parte aérea superior àquelas sem inoculação e àquelas inoculadas em associação com doses mais elevadas de MAP (Fig. 14).

A produção de biomassa da parte aérea em Bv+1/3 MAP ($1.270,40 \text{ g planta}^{-1}$) foi associada com menor AF (Fig. 13A), menor C_i e maiores DEAD e DEAB, maior ETR e maior A aos 60, 118 e 180 DAP (Fig. 13 B–D), maior atividade da fosfatase ácida foliar (Fig. 13E) e maior biomassa dos colmos (Fig. 13F).

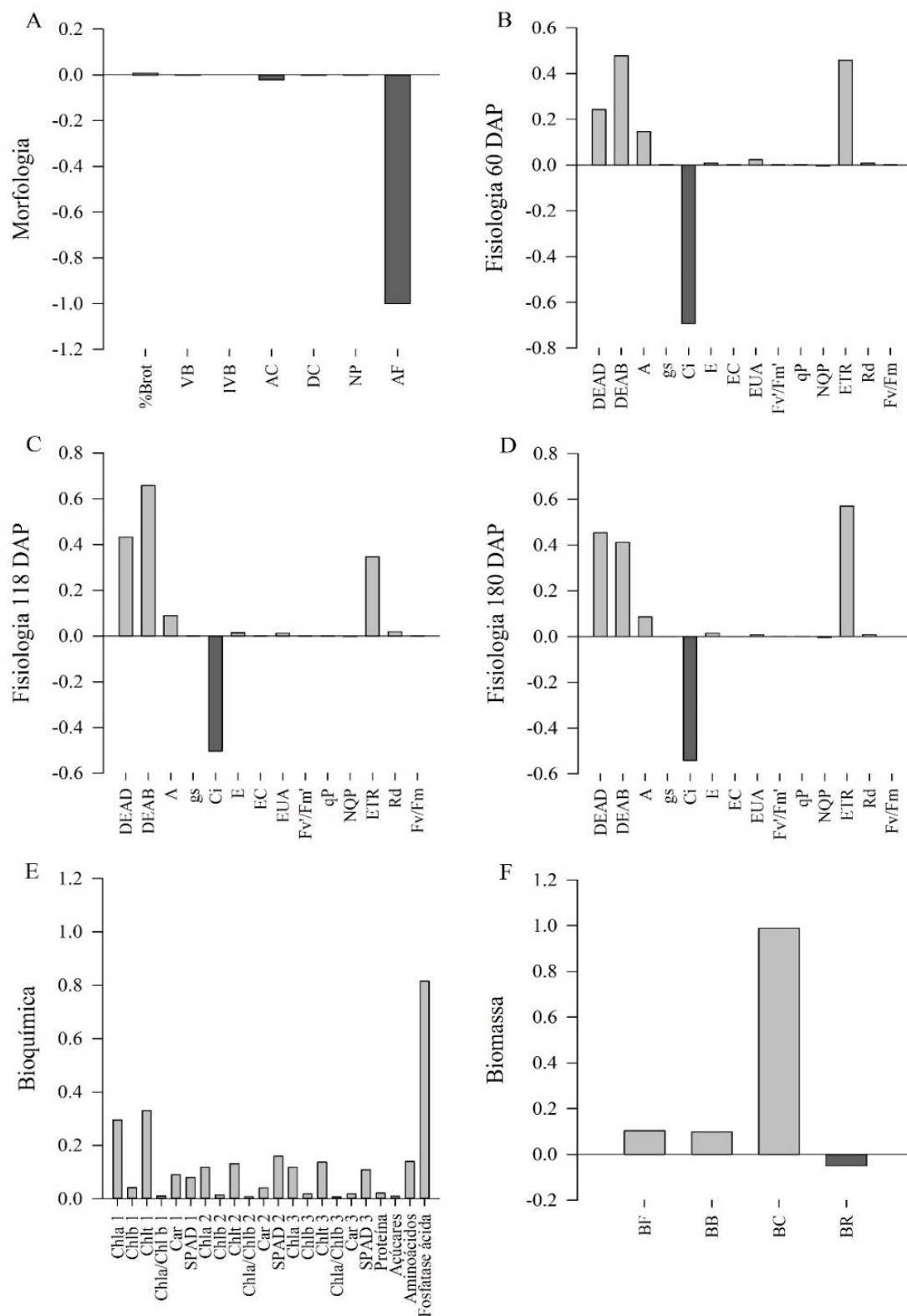


Fig. 13. Cargas de variáveis das componentes de morfologia (A), fisiologia aos 60 DAP (B), 118 DAP (C), e 180 DAP (D), bioquímica (E) e biomassa (F)

%Brot: %brotação; Car: carotenoides. 1, 2 e 3 na figura E representam 60, 118 e 180 DAP, respectivamente. A cor cinza claro indica variável de carga positiva; e a cor cinza escuro indica variável de carga negativa.

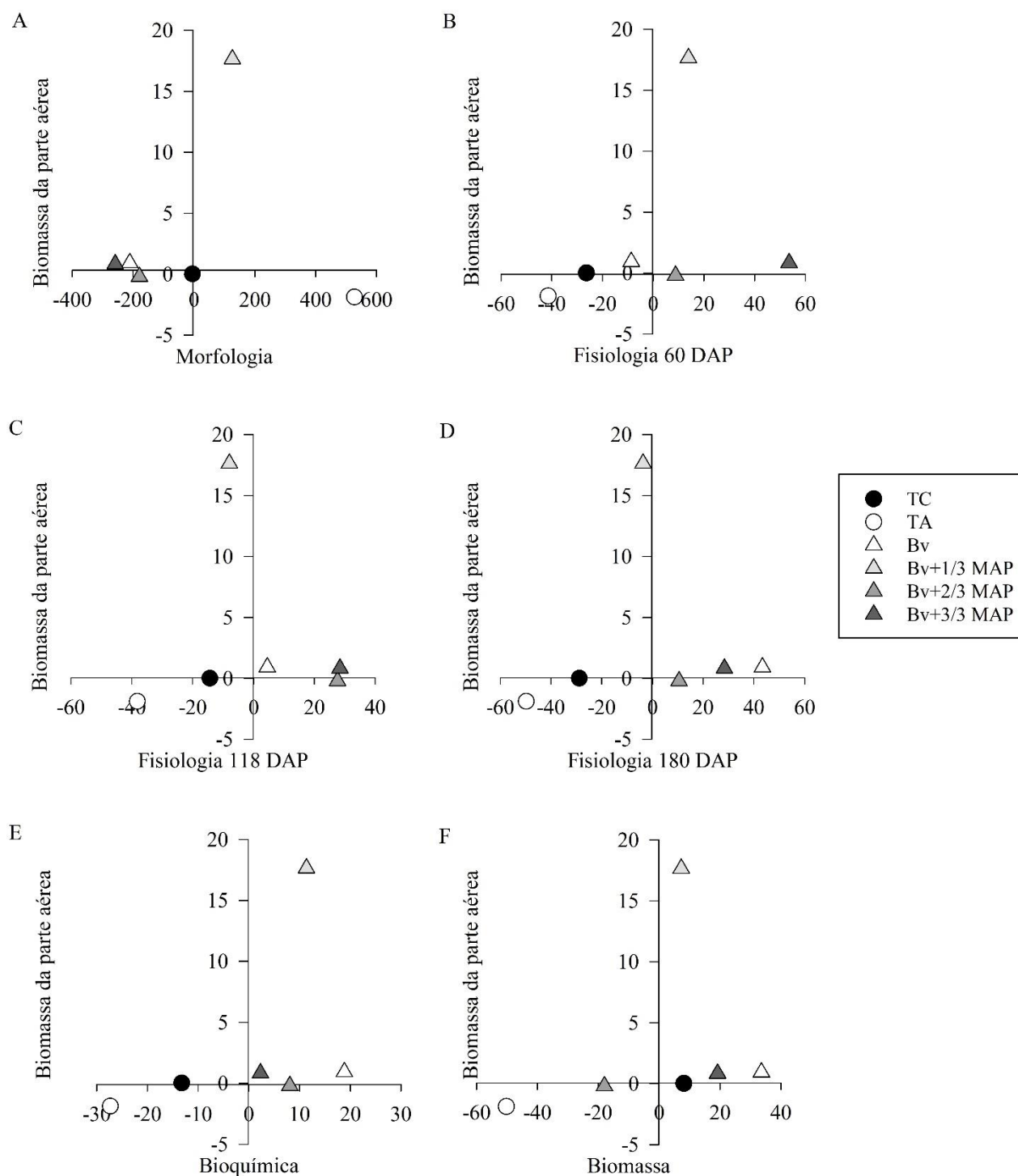


Fig. 14. Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de morfologia (A), fisiologia aos 60 DAP (B), 118 DAP (C) e 180 DAP (D), bioquímica (E) e biomassa (F).

TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial; Bv: *B. velezensis* UFV 3918; MAP: fosfato monoamônico; Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP.

Com base na análise de correlação de Pearson (Fig. 15), observou-se que as variáveis morfologia (-0,83), fisiologia aos 60 DAP (0,66), 118 DAP (0,64) e 180 DAP (0,79), bioquímica (0,79) e biomassa (0,93) apresentaram correlação significativa ($p \leq 0,01$) com a produção de biomassa da parte aérea.

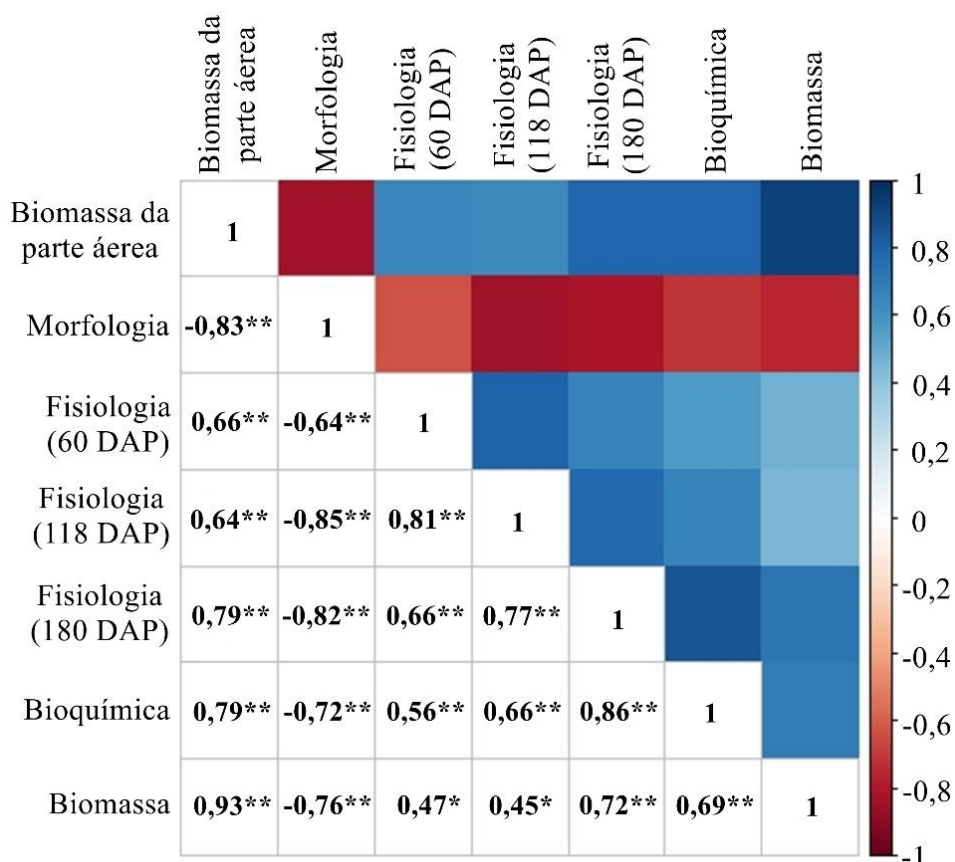


Fig. 15. Correlação de Pearson entre as primeiras componentes principais de cada grupo de variáveis. ** e * indicam correlação significativa em $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$, respectivamente.

Independente do tratamento, a biomassa da parte aérea apresentou correlação significativa com todos os conjuntos de variáveis (morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e produção de biomassa) (Fig. 15). De modo geral, quanto maior a biomassa de colmos, melhor a resposta da cana à produção de biomassa da parte aérea (Figs. 13 e 15). A maior área foliar está associada a maiores taxas de assimilação de CO_2 e de transporte de elétrons, maior densidade estomática nas faces adaxial e abaxial, menor concentração interna de carbono e maior teor de pigmentos fotossintéticos e atividade da fosfatase ácida foliar, o que contribui para a maior produção de biomassa (Figs. 13 e 15).

Houve correlação significativa entre as variáveis fisiológicas e bioquímicas. E as variáveis fisiológicas e bioquímicas foram correlacionadas com a produção de biomassa (Fig. 15).

1.4 Discussão

As cepas de *Bacillus* spp. são conhecidas como uma das mais importantes entre as BSP (Behera et al., 2014; Abdallah et al., 2018), pois além de serem promissoras como biofertilizantes no crescimento e rendimento das plantas e na fertilidade do solo (Suleman et al., 2018; Emami et al., 2020), apresentam vantagens devido à sua estabilidade inerente, capacidade de resistir a condições ambientais adversas e vida útil prolongada (Setlow, 1994; Nicholson et al., 2000; Leser et al., 2008), tornando-as ideais para serem usadas em ambientes agrícolas.

Alguns estudos mostraram que a aplicação combinada de BSP e fertilizantes fosfatados pode reduzir ainda mais a adsorção de P no solo e aumentar a sua disponibilidade (Kalidas-Singh e Thakuria, 2018; Ahmad et al., 2017; Suleman et al., 2018; Iqbal et al., 2019; Adnan et al., 2020), entretanto, entender a dinâmica entre BSP e doses reduzidas de P ainda é uma área de pesquisa que precisa ser explorada.

Nossos resultados fornecem informações sobre o desenvolvimento da cana-de-açúcar nos primeiros seis meses de crescimento, em que *B. velezensis* UFV 3918 isolado ou associado a doses reduzidas de MAP melhorou as propriedades fisiológicas, bioquímicas e de produção da planta.

O status de P do solo altera o metabolismo da planta, a exsudação da raiz e o carbono do solo disponível para os microrganismos (Singh e Pandey, 2003; Beauregard et al., 2010). Deste modo, a fertilização com P pode alterar substancialmente a eficiência da renovação deste nutriente (Grafe et al., 2018), além de regular as comunidades microbianas e os genes bacterianos que codificam as enzimas envolvidas no ciclo de renovação do P (Wang et al., 2019). O uso de BSP em solos não fertilizados aumenta a frequência da atividade de solubilização de P, em função da restrição de P inorgânico (Widdig et al., 2019; Dai et al., 2020), entretanto podem ocorrer mudanças na abundância de algumas famílias de bactérias como resposta à fertilização com P (Mander et al., 2012), havendo relatos de redução na atividade de *Bacillus* com o aumento do suprimento do P (Long et al., 2018).

Este *feedback* negativo entre altas doses de P e a atividade de *Bacillus* pode explicar a maior %brotação e maior IVB verificados quando *B. velezensis* foi associado

a doses reduzidas de MAP, em relação à sua associação com 3/3 MAP, comportamento que também foi observado para altura do colmo e área foliar.

Algumas cepas de *Bacillus* são conhecidas por atuarem como promotoras do crescimento de plantas, seja pela solubilização de nutrientes ou pela produção de metabólitos, como sideróforos e fitohormônios (Miljaković et al., 2020). Em associação com as raízes, os microrganismos da rizosfera são capazes de modular o sistema radicular da planta por meio de diferentes mecanismos, a fim de estimular a capacidade de absorção da raiz, o que facilita a absorção de nutrientes em condições limitantes (Hussain et al., 2019; Emami et al., 2019).

A inoculação de BSP em plantas e/ou solo rizosférico pode estimular a produção de enzimas hidrolisantes de P e dos fitohormônios que medeiam a expressão de características das raízes para a aquisição de P (Batoool e Iqbal, 2019; Suleman et al., 2018). Estudos já demonstraram que o ácido indol-3-acético produzido por bactérias pode alterar a arquitetura da raiz, favorecendo a aquisição de P pelas raízes em milho e trigo (Li et al., 2017; Suleman et al., 2018; Emami et al., 2019). Isto explica a biomassa radicular superior em Bv e Bv+1/3 MAP.

O estímulo para maior aquisição de P e outros nutrientes incrementou a altura de colmos em Bv e Bv+1/3 MAP, que resultaram em desempenho superior e semelhante à TC, respectivamente. Embora Bv e Bv+1/3 MAP tenham apresentado menor número de perfilhos em relação à TC, a inoculação de *B. velezensis* aumentou o diâmetro dos colmos, o que refletiu em maior biomassa da parte aérea nos tratamentos inoculados. Chungoplast et al. (2020) e Santos et al. (2022) também verificaram incremento na altura e diâmetro dos colmos da cana-de-açúcar com a inoculação de *Bacillus* como BSP.

A inoculação com BSP promove o aumento da área foliar (Zhao et al., 2014; Santos et al., 2020), que facilita a interceptação da luz solar, favorecendo a atividade fotossintética, mas, embora tenha sido a variável morfológica mais importante para a produção de biomassa da parte aérea (Fig. 13A), sua correlação foi negativa (Fig. 15). Entretanto, apesar de Bv+1/3 MAP ter apresentado área foliar inferior à observada nos demais tratamentos inoculados, esta foi semelhante à verificada na TC e esta variável não foi responsável por reduzir a produção de biomassa, porque Bv+1/3 MAP resultou DEAD, DEAB, variáveis de trocas gasosas e eficiência fotoquímica maiores em relação aos tratamentos não inoculados.

TA apresentou os menores valores de ETR e F_v/F_m , indicando maior suscetibilidade a danos foto-oxidativos e menor eficiência fotoquímica das plantas (Pinto et al., 2010), o que mostra que a ausência da adubação fosfatada reduziu a eficiência fotossintética. Já as plantas inoculadas mantiveram valores de ETR superiores aos das plantas não inoculadas aos 60 e 180 DAP, o que denota bom funcionamento dos aceptores de elétrons na fase bioquímica da fotossíntese, visto que o aumento na ETR sugere que o aceptor da quinona A (QA) é altamente oxidado e que sua energia de excitação é utilizada no transporte de elétrons, contribuindo para a menor geração de espécies reativas de oxigênio e evitando foto-oxidação (Melis, 1999; Dias et al., 2018; Stirbet et al., 2018).

Isso explica o motivo da ETR ter sido uma das variáveis mais importantes para a produção de biomassa da parte aérea. Aumentos da ETR em plantas inoculadas com bactérias, incluindo *Bacillus* spp., também foram verificados em pimenta (Samaniego-Gómez et al., 2016; 2021), beterraba sacarina (Shi et al., 2010) e cana-de-açúcar (Marcos et al., 2016).

TA também reduziu F_v'/F_m' e qP, o que sugere acúmulo de QA reduzida no centro de reação do FSII, diminuição da eficiência fotoquímica em folhas com menores teores de P (Singh e Reddy, 2015) e, conseqüentemente, redução da assimilação de CO₂ e comprometimento dos fotossistemas, corroborando com estudos anteriores (Singh et al., 2013, Singh e Reddy, 2014, Singh e Reddy, 2015). Por outro lado, os altos valores de F_v'/F_m' e qP nas plantas inoculadas indicam maior direcionamento da energia luminosa para a fotoquímica, promovendo a ETR para a fixação de carbono, o que permitiu alocar a maior parte do poder redutor no processo de assimilação do carbono, potencializando o acúmulo de biomassa (Maxwell e Johnson, 2000).

As plantas não inoculadas apresentaram NPQ superior ao das plantas inoculadas aos 60 DAP, período marcado por maiores temperaturas médias no interior do ambiente protegido (Fig. 1), evidenciando a ativação do mecanismo de dissipação de energia na forma de calor, protegendo a planta contra a foto-oxidação (Tatagiba, 2013). Entretanto, aos 180 DAP, as plantas sob ação de *B. velezensis* apresentaram NPQ, em média, 21,5% superior em relação às plantas não inoculadas. Valores mais altos desta variável indicam manutenção da integridade fotoquímica e capacidade fotossintética em ambientes adversos (Müller et al., 2001; Klughammer e Schreiber, 2008). Tanto qP como NPQ ajudam a minimizar a produção de O₂ nas antenas do FSII (Müller et al., 2001), evidenciando a vantagem das plantas inoculadas em relação

às não inoculadas. Li et al. (2016) também verificaram aumento de NPQ em plantas de fava (*Vicia faba*) sob inoculação de *B. subtilis*.

O F_v/F_m é um indicador sensível do desempenho fotossintético da planta, pois reflete a máxima eficiência na qual a luz absorvida pelo FSII é utilizada para reduzir a QA (Baker, 2008). As plantas inoculadas com *B. velezensis* aumentaram o F_v/F_m em relação às não inoculadas, com valores variando de 0,80 a 0,86, o que está de acordo com os valores descritos na literatura para plantas saudáveis e não estressadas (Maxwell e Johnson, 2000), mostrando que não houve efeito negativo da cepa UFV 3918 sobre o desempenho fotossintético. Outros autores também verificaram aumentos do F_v/F_m ao utilizarem bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) em outras culturas (Yobo et al., 2011; Gururani et al., 2013; Samagienio-Gómez et al., 2016; Costa-Santos et al., 2021).

Os estômatos exercem a função de manter o equilíbrio entre a absorção de CO₂ para a fotossíntese e a perda de água para a transpiração (McAdam e Brodribb, 2012). A g_s pode ser um dos principais determinantes de A (Wong et al., 1979) e o potencial da g_s é determinado principalmente pelo tamanho, profundidade e abertura dos estômatos e sua densidade (Franks e Beerling, 2009). Em estudos com *Arabidopsis*, Tanaka et al. (2013) relataram que o aumento da densidade estomática (DE) promoveu aumento da g_s e A sob condições de luz constante e saturada, enquanto Sadoka et al. (2020) verificaram que maior DE resultou em indução mais rápida da A à luz flutuante, devido ao maior valor inicial da g_s e indução mais rápida da g_s na fase inicial da indução fotossintética.

A inoculação de *B. velezensis* promoveu incrementos na DE, especialmente da DEAB, o que permitiu o aumento da g_s e, conseqüentemente, maior A . Nossos resultados corroboram com Cappellari et al. (2015), que verificaram aumento da DE em plantas de hortelã-pimenta inoculadas com *B. subtilis* GB03, e com Silva et al. (2020), que relataram que o aumento da DEAB incrementou a A em algumas variedades de cana-de-açúcar, tanto em condições hidratadas como sob déficit hídrico.

A C_i é essencial para maximizar a fotossíntese, mas depende da espécie de cultivo e das condições ambientais (Ku et al., 1977). A C_i foi a variável fisiológica mais importante para a produção de biomassa da parte aérea, com comportamento inversamente proporcional à A e à EC, com os menores valores verificados nas plantas sob ação de *B. velezensis*, evidenciando que uma quantidade maior de CO₂

estava sendo assimilada. Wang et al. (2018a), estudando as respostas de crescimento de cultivares de algodoeiro a diferentes doses de P, também relataram aumento da C_i sob menores doses de P, bem como aumento de A e redução da C_i sob maior disponibilidade de P.

Geralmente, valores de gs mais altos resultam em menor EUA, o que pode diminuir o benefício de maior desempenho fotossintético para a produção de biomassa (Tanaka et al., 2013; Kimura et al., 2020), entretanto, embora a inoculação de *B. velezensis* tenha aumentado a gs , houve um equilíbrio entre A e E, assim, verificou-se aumento da EUA aos 60 DAP nas plantas inoculadas, enquanto esta variável não foi afetada pela cepa UFV 3918 aos 118 e 180 DAP, evidenciando o benefício da inoculação para o aparato fotossintético da planta.

Algumas cepas de *Bacillus* secretam exopolissacarídeos (EPS), que além de formarem um biofilme ao redor da superfície radicular, o que possibilita o aumento da retenção de água no solo e a diminuição da evaporação da água do solo, também envolvem as partículas do solo, promovendo maior estruturação (Naseem e Bano, 2014; Nadeem et al., 2017; Niu et al., 2018; Zheng et al., 2018). Essa também pode ser uma explicação para a maior EUA nas plantas sob ação de *B. velezensis* aos 60 DAP, período marcado por maiores temperaturas médias no interior do ambiente protegido em relação às demais datas de avaliação (Fig. 1).

Aumentos na EUA já foram relatados em plantas de milho sob inoculação de *B. licheniformis* FMCH001, estando esta variável diretamente relacionada à maior massa de matéria seca de raiz das plantas inoculadas (Akhtar et al., 2020).

A maior EC verificada nas plantas de cana-de-açúcar inoculadas com *Bacillus* spp. é resultado do aumento da A e do uso do CO₂ subestomático (Fonseca et al., 2022). O teor de pigmentos fotossintéticos nas folhas também é usado como índice para mostrar a capacidade fotossintética e o status fisiológico da planta (Steele et al., 2008; Houborg et al., 2015) e já foi relatado que *B. subtilis* pode aumentar a assimilação de CO₂ através do aumento do conteúdo de clorofila (Li et al., 2016).

As clorofilas são o principal complexo captador de luz que participa do mecanismo de transporte de elétrons, sendo vitais na absorção, concentração e armazenamento da energia luminosa, bem como na transformação da energia luminosa em energia química (Gitelson et al., 2003; Urbonaviciute et al., 2006), enquanto os carotenoides podem atuar como pigmentos receptores de luz para garantir a continuação do processo fotossintético e desempenhar um papel importante

no aumento da superfície de absorção da energia luminosa, além de prevenirem a foto-oxidação (Siefermann e Yamamoto, 1975; Urbonaviciute et al., 2006).

Deste modo, a EC também depende do teor de pigmentos fotossintéticos. Em geral, as plantas inoculadas com *B. velezensis* apresentaram maiores teores de Chl_a e Chl total, maior relação Chl_a/Chl_b e maior índice SPAD, o que demonstra alta biossíntese de clorofila nestas plantas. Além disso, os níveis mais elevados de Chl_a, pigmento responsável pela transformação da energia luminosa em energia química, em relação à Chl_b, que apenas absorve, concentra e armazena a energia luminosa, sugere o melhor aproveitamento da energia luminosa em plantas sob ação de *B. velezensis*. Aumentos nos teores de pigmentos fotossintéticos em plantas inoculadas com cepas de *Bacillus* já foram relatados em diversas culturas como cana-de-açúcar (Chandra et al., 2018; Fonseca et al., 2022), milho (Dixit et al., 2020; Chaudhary et al., 2021 a, b), trigo (Tahir et al., 2018) e soja (Khan et al., 2020).

A redução observada nos pigmentos fotossintéticos em plantas não inoculadas e sem adubação fosfatada (TA) é consistente com outros estudos (Crafts-Brandner, 1992; Singh et al., 2013). Singh e Reddy (2015) sugeriram que a diminuição no teor de clorofila é um mecanismo para evitar o excesso de absorção de luz, o que protege o FSII da foto-oxidação em condições de deficiência de P.

Embora o teor de carotenoides tenha sido reduzido na TA aos 60 DAP, não houve diferença entre TA e TC aos 118 DAP, assim como não houve diferença entre os tratamentos para o teor de carotenoides aos 180 DAP, o que demonstra a importância desses pigmentos na fotoproteção do FSII em plantas que não receberam adubação fosfatada (Pascal et al., 2005). E os teores de carotenoides mais elevados aos 60 e 118 DAP sugerem maior capacidade das plantas inoculadas com *B. velezensis* de protegerem o aparato fotossintético da planta contra danos foto-oxidativos (Hong-Hai et al., 2016; Wang et al., 2018b).

Vale ressaltar que, grande parte das BSP são encontradas na rizosfera das plantas e essa localização reflete o fato de que as raízes das plantas exsudam uma fração significativa do carbono que é fixado através do processo fotossintético, fornecendo esse carbono fixado aos microrganismos do solo, que o utilizam como alimento (Glick, 2020). Assim, a maior assimilação de CO₂ verificada nas plantas inoculadas com *B. velezensis* também pode ter favorecido a manutenção de microrganismos benéficos no solo, melhorando a saúde do solo.

A R_d é responsável pela catálise de compostos orgânicos reduzidos através da fotossíntese e disponibilização de energia necessária (ATP) para a manutenção e síntese de biomassa. De modo geral, as plantas inoculadas apresentaram maior R_d , que pode ser resultado da eficiência da solubilização de P, uma vez que este nutriente é essencial na respiração e fotossíntese (Anand et al., 2016; Taiz et al., 2017). Portanto, a maior R_d , juntamente com os outros fatores, pode ter contribuído para a maior produção de biomassa das plantas sob ação de *B. velezensis*, visto que o crescimento está relacionado a uma série de processos integrados em todos os órgãos da planta, o que torna o acúmulo de biomassa um processo complexo, controlado por uma série de fatores que podem afetar o balanço de carbono na planta (Smith, 2004; Murchie et al., 2009; Reynolds et al., 2009; Chytky et al., 2011).

Embora o P esteja envolvido na produção de proteínas (Taiz et al., 2017), a inoculação de *B. velezensis* não promoveu aumentos nesta variável, e sua associação a doses elevadas de P reduziu o teor de proteínas. Esse nutriente também está envolvido no metabolismo de açúcares e a associação de *B. velezensis* com doses reduzidas de MAP aumentou os teores de açúcares totais em relação à TC. A BSP em questão permitiu que a redução do fertilizante fosfatado não afetasse esta variável, assim, a transformação de açúcares pode ocorrer normalmente porque, sob a concentração adequada de fosfato citosólico (Pi), a triose fosfato do cloroplasto é exportada para o citosol por meio de um transportador de Pi e a sacarose é sintetizada; o que não acontece quando a concentração de Pi é baixa, pois a triose fosfato é retida no cloroplasto e o amido é sintetizado (Rodrigues et al., 2018).

A inoculação com *B. velezensis* aumentou significativamente os teores de aminoácidos totais. Osmólitos, como açúcares e aminoácidos, ajudam a manter o nível de água e regulam o metabolismo e a funcionalidade celular (Hossain et al., 2015). Os aumentos indicam que, além de promover o crescimento, a cepa UFV 3918 desempenha um papel na defesa da planta contra estresses ambientais (Less e Galili, 2008; Chiappero et al., 2019).

Houve aumento do teor de açúcares e aminoácidos totais até um ponto ótimo (Bv+2/3 MAP) e, em seguida, redução nestas variáveis com 3/3 MAP, evidenciando o *feedback* negativo entre altas doses de P e a atividade de *Bacillus*.

Baixos níveis de P disponível influenciam a atividade enzimática da planta. As gramíneas respondem à deficiência de P com uso menos eficiente do P e maior atividade da fosfatase ácida nas folhas, caules e raízes (Nunes et al., 2008). O

aumento de 16,4% na atividade da fosfatase ácida foliar verificado com o uso isolado de *B. velezensis*, em relação à TC, evidencia o potencial de solubilização de fosfato da cepa UFV 3918 e explica por que esta foi a variável bioquímica mais importante para a produção de biomassa da parte aérea.

As fosfatases estão associadas à remobilização de P nas plantas, portanto, o aumento da atividade dessas enzimas tem sido associado a baixos níveis celulares de P inorgânico (Bozzo et al., 2006; Nunes et al., 2008). Isto explica a redução da fosfatase foliar à medida que *B. velezensis* foi associado com doses mais elevadas de MAP, pois, evidentemente, o nível celular de P inorgânico já era suficientemente alto, em função do alto teor de P inicial no solo associado à fertilização fosfatada empregada.

Alguns trabalhos já relataram que BPCV, dentre elas algumas BSP, promoveram o crescimento e aumentaram a produtividade da cana-de-açúcar (Ahmad et al., 2016; Chandra et al., 2018; Safirzadeh et al., 2019; Rosa et al., 2020; Aye et al., 2021; Santos et al., 2022; Rosa et al., 2022). Nossos resultados demonstraram que *Bacillus velezensis* isolado (Bv) proporcionou a maior biomassa de colmos, seguido de Bv+1/3 MAP, corroborando com Chungopast et al. (2021) e Fonseca et al. (2022) que também verificaram aumentos no peso do colmo de cana-de-açúcar sob inoculação com *Bacillus*.

A biomassa dos colmos foi o que mais influenciou a biomassa da parte aérea. A maior biomassa de raízes verificada em Bv contribuiu para o sucesso na produção de biomassa de colmos, pois os microrganismos são capazes de estimular a capacidade de absorção das raízes das plantas, o que facilita a absorção de P e outros nutrientes (Moutia et al., 2010; Santos et al., 2018b; Emami et al., 2019; Isaac e Borden, 2019).

Além disso, BSP são relatadas por liberarem diferentes tipos de ácidos orgânicos que são responsáveis pela transformação de formas insolúveis de P em solúveis. Esses compostos quelam cátions (Al, Fe e Ca) ligados ao P através de seus grupos hidroxila e carboxila, fornecendo uma forma de P facilmente assimilável pelas plantas (Xu Cheng et al., 2019; Nacoon et al., 2020; Rfaki et al., 2020). BSP também medeiam a mineralização de P orgânico através da produção de enzimas que hidrolisam o P, principalmente fosfatases que catalisam a hidrólise de ligações fosfoéster ou fosfoanidro (Bargaz et al., 2021).

A maior disponibilidade de P proporcionada pela inoculação com *B. velezensis* pode ser verificada pela maior eficiência de carboxilação observada nas plantas inoculadas, uma vez que a assimilação de CO₂ depende fortemente da aquisição adequada de P (Taiz et al., 2017; Malhotra et al., 2018), fator que favoreceu o incremento na biomassa da parte aérea. Além disso, BSP podem promover o crescimento através de outros mecanismos, como biossíntese de fitohormônios e metabólitos secundários (Duca et al., 2014; Tahir et al., 2017) e já foi relatada a produção de auxinas, giberelinas e expansinas por *Bacillus* spp. (Zubair et al., 2019), fatores que favorecem o crescimento e desenvolvimento das plantas e podem ter contribuído para o incremento da biomassa da parte aérea em Bv e Bv+1/3 MAP.

Embora Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+3/3 MAP tenham apresentado biomassas da parte aérea semelhantes entre si, Bv apresentou maior biomassa total. Isso ocorreu devido ao *feedback* positivo entre menor disponibilidade de P e a atividade de *Bacillus*, uma vez que BSP são competidores fracos em solos com altos teores de P e N e podem apresentar melhor desempenho em solos pobres em nutrientes, onde o uso dessas bactérias reflete a necessidade de maior eficiência de solubilização de P (Widdig et al., 2019; Dai et al., 2020), levando ao maior investimento em produção de raízes e refletindo em maior biomassa total.

Nesse sentido, à medida que houve aumento das doses de P, houve aumento da relação BPA/BR, aumentando particionamento da biomassa da parte aérea em relação à biomassa de raízes, pois quanto maior a disponibilidade de P (Bv+3/3 MAP), menor a necessidade de investimento em produção de raízes para otimizar a absorção de P, e o inverso é verdadeiro.

Assim, a inoculação com *B. velezensis* UFV 3918, associada ou não a doses reduzidas de MAP, aumentou a eficiência de solubilização de fosfato, incrementando a eficiência fotossintética das plantas e favorecendo a regulação do metabolismo celular, o que refletiu em maior biomassa das plantas de cana-de-açúcar.

1.5 Conclusões

O estudo relatou como *Bacillus velezensis* UFV 3918 melhorou o desempenho fisiológico e bioquímico e a produção de biomassa da cana-de-açúcar. A inoculação desta cepa nas gemas de cana-de-açúcar, associada ou não a doses reduzidas de fosfato monoamônico (MAP) (Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP), proporcionou aumento da área foliar, facilitando a interceptação da radiação solar, e incrementou a densidade

estomática, a taxa relativa de transporte de elétrons e os teores de pigmentos fotossintéticos, fatores que melhoraram a assimilação de CO₂ e a eficiência de carboxilação das plantas, contribuindo para o sucesso da produção de biomassa da parte aérea. Houve aumento nos teores de açúcares e aminoácidos totais e na atividade da fosfatase ácida foliar, refletindo a regulação do metabolismo celular e o potencial de solubilização de fósforo (P). Neste estudo, o alto teor de P inicial no solo possibilitou que a inoculação com *B. velezensis* dispensasse a adubação fosfatada, sem prejudicar o desempenho fotossintético e produtivo da cultura, além disso, houve tendência de declínio na produção quando a bactéria foi associada a doses mais elevadas de MAP, deste modo Bv+1/3 MAP é a combinação mais indicada. O estudo demonstra que a inoculação com *B. velezensis* UFV 3918 é uma estratégia viável para otimizar o uso do P na cultura da cana-de-açúcar, e fornece apoio a pesquisas futuras que visem reduzir a utilização de fertilizantes fosfatados.

Declaração de contribuições dos autores

Hariane Luiz Santos: conceitualização, metodologia, investigação, curadoria dos dados, escrita – rascunho original, redação – revisão e edição; Melina Rodrigues Alves Carnietto: investigação; Gustavo Ferreira da Silva¹: investigação; Gustavo Ferreira da Silva²: análises estatísticas; Caio Nascimento Fernandes: investigação; Marcelo de Almeida Silva: conceitualização, aquisição de recursos e financiamento, administração do projeto, redação – revisão e edição.

Financiamento

Esta pesquisa foi financiada pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) através da bolsa de mestrado de Hariane Luiz Santos (Proc. 2021/02991-0) e pela Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (Proc. FEPAF 1226).

Conflito de interesses

Os autores declaram que a pesquisa foi realizada em colaboração com a Vittia (São Joaquim da Barra, SP, Brasil), que forneceu o produto e suporte técnico, e tem interesse no desempenho do produto em nível biológico.

Agradecimentos

Marcelo de Almeida Silva, Gustavo Ferreira da Silva¹ e Caio Nascimento Fernandes agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelas bolsas de “Produtividade em Pesquisa” (Proc. 305952/2018-8), “Iniciação Científica” (Proc. 121804/2021-6) e “Mestrado” (Proc. 131325/2020-5), respectivamente. Além disso, gostaríamos de agradecer à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de doutorado para Gustavo Ferreira da Silva² (código de financiamento 001).

Referências

- Abdallah, D.B., Frikha-Gargouri, O., Tounsi, S., 2018. Rhizospheric competence, plant growth promotion and biocontrol efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain 32a. *Biol. Control.* 124, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.01.013>.
- Adnan, M., Fahad, S., Zamin, M., Shah, S., Mian, I.A., Danish, S., Zafar-ul-Hye, M., Battaglia, M.L., Naz, R.M.M., Saeed, B., Saud, S., Ahmad, I., Yue, Z., Brtnicky, M., Holatko, J., Datta, R., 2020. Coupling phosphate-solubilizing bacteria with phosphorus supplements improve maize phosphorus acquisition and growth under lime induced salinity stress. *Plants.* 9, 900. <https://doi.org/10.3390/plants9070900>.
- Ahmad, F., Ahmad, I., Aqil, F., Wani, A.A., Sousche, Y. S., 2016. Plant growth promoting potential of free-living diazotrophs and other rhizobacteria isolated from Northern Indian soil. *Biotechnol. J.* 1, 1112–1123. <https://doi.org/10.1002/biot.200600132>.
- Ahmad, S., Imran, M., Hussain, S., Mahmood, S., Hussain, A., Hasnain, M., 2017. Bacterial impregnation of mineral fertilizers improves yield and nutrient use efficiency of wheat. *J. Sci. Food Agric.* 97, 3685–3690. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8228>.
- Akhtar, S.S., Amby, D.B., Hegelund, J.N., Fimognari, L., Großinsky, D.K., Westergaard, J.C., Müller, R., Moelbak, L., Liu, F., Roitsch, T., 2020. *Bacillus licheniformis* FMCH001 increases water use efficiency via growth stimulation in both normal and drought conditions. *Front. Plant Sci.* 11, 297. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00297>.
- Albuquerque, A.W., Sá, L.A., Rodrigues, W.A.R., Moura, A.B., Oliveira Filho, M.S., 2016. Growth and yield of sugarcane as a function of phosphorus doses and

- forms of application. *Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.* 20, 29–35.
<https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n1p29-35>.
- Alori, E.T., Glick, B.R., Babalola, O.O., 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* 8, 971.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>.
- Anand, K., Kumari, B., Mallick, M.A., 2016. Phosphate solubilizing microbes: an effective and alternative approach as biofertilizers. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 8, 37–40.
- Asomaning, S.K., 2020. Processes and factors affecting phosphorus sorption in soils. In: Kyzas, G., Lazaridis, N. (Eds.), *Sorption in 2020s*. IntechOpen, London, UK, pp. 1–15.
- Aye, P.P., Pinjai, P., Tawornpruek, S., 2021. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on soil available phosphorus and growth and yield of sugarcane. *Walailak J. Sci. Technol. (WJST)*. 18, 10754. <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.10754>.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 89–113.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>.
- Bargaz, A., Elhaisoufi, W., Khourchi, S., Benmrid, B., Borden, K.A., Rchiad, Z., 2021. Benefits of phosphate solubilizing bacteria on belowground crop performance for improved crop acquisition of phosphorus. *Microbiol. Res.* 252, 126842.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126842>.
- Batool, S., Iqbal, A., 2019. Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>.
- Beauregard, M.S., Hamel, C., Atul-Nayyar, St-Arnaud, M., 2010. Long-term phosphorus fertilization impacts soil fungal and bacterial diversity but not AM fungal community in alfalfa. *Microb. Ecol.* 59, 379–389.
<https://doi.org/10.1007/s00248-009-9583-z>.
- Behera, B.C., Singdevsachan, S.K., Mishra, R.R., Dutta, S.K., Thatoi, H.N., 2014. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilizing microorganism in mangrove-a review. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 3, 97–110.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>.
- Billah, M., Matiullah, K., Bano, A., Hassan, T.U., Munir, A., Gurmani, A.R., 2019. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable

- agriculture. Geomicrobiol. J. 36, 904–916. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>.
- Bordonal, R.O., Carvalho, J.L.N., Lal, R., Figueiredo, E.B., Oliveira, B.G., La Scala, N., 2018. Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. Agron. Sustain. Dev. 38, 13. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>.
- Borges, B.M.M.N., Abdala, D.B., Souza, M.F., Viglio, L.M., Coelho, M.J.A., Pavinato, P.S., Franco, H.C.J., 2019. Organomineral phosphate fertilizer from sugarcane byproduct and its effects on soil phosphorus availability and sugarcane yield. Geoderma. 339, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.036>.
- Bozzo, G.G., Dunn, E.L., Plaxton, W.C., 2006. Differential synthesis of phosphate-starvation inducible purple acid phosphatase isozymes in tomato (*Lycopersicon esculentum*) suspension cells and seedlings. Plant Cell Environ. 29, 303–313. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01422.x>.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- Braga Junior, R.L.C., Landel, M.G.A., Silva, D.N., Bidóia, M.A.P., Silva, T.N., Silva, V.H.P., Luz, A.M., Anjos, I.A., 2021. Censo varietal IAC: Região centro-sul – Safra 2019/20. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil. (Boletim Técnico, 225).
- Caione, G., Prado, R.M., Campos, C.N.S., Moda, L.R., Vasconcelos, R.L., Pizauro Júnior, J.M., 2015. Response of sugarcane in a red ultisol to phosphorus rates, phosphorus sources, and filter cake. Sci. World J. 2–3, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2015/405970>.
- Cappellari, L.R., Santoro, M.V., Reinoso, H., Travaglia, C., Giordano, W., Banchio, E., 2015. Anatomical, morphological, and phytochemical effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on peppermint (*Mentha piperita*). J. Chem. Ecol. 41, 149–158. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0549-y>.
- Chandra, P., Tripathi, P., Chandra, A., 2018. Isolation and molecular characterization of plant growth-promoting *Bacillus* spp. and their impact on sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrids) growth and tolerance towards drought stress. Acta Physiol. Plat. 40, 199. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2770-0>.
- Chaudhary, P., Khatri, P., Chaudhary, A., Gangola, S., Sharma, A., 2021a. Bioinoculation using indigenous *Bacillus* spp. improves growth and yield of Zea

- mays* under the influence of nanozeolite. 3 Biotech. 11, 11. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02561-2>.
- Chaudhary, P., Khati, P., Gangola, S., Kumar, A., Kumar, R., Sharma, A., 2021b. Impact of nanochitosan and *Bacillus* spp. on health, productivity and defence response in *Zea mays* under field condition. Biotech 3. 11, 237. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02790-z>.
- Chiappero, J., Cappellari, L.D.R., Alderete, L.G.S., Palermo, T.B., Banchio, E., 2019. Plant growth-promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. Ind. Crops Prod. 139, 111–553. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111553>.
- Chien, S.H., Prochnow, L.I., Cantarella, H., 2009. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. In: Sparks, D. (Ed.), Advances in Agronomy. Elsevier Inc., pp. 267–322. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(09\)01008-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(09)01008-6).
- Chungoplast, S., Thongjoo, C., Islam, A.K.M.M., Yeasmin, S., 2021. Efficiency of phosphate-solubilizing bacteria to address phosphorus fixation in Takhli soil series: a case of sugarcane cultivation, Thailand. Plant Soil. 460, 347–357. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04812-w>.
- Chytryk, C., Hucl, P., Gray, G., 2011. Leaf photosynthetic properties and biomass accumulation of selected western Canadian spring wheat cultivars. Can. J. Plant Sci. 91, 305–314. <https://doi.org/10.4141/CJPS09163>.
- Conab – Companhia Nacional de Abastecimento, 2022. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – 4º levantamento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Acesso em: 12/12/2022.
- Costa-Santos, M., Mariz-Ponte, N., Dias, M.C., Moura, L., Marques, G., Santos, C., 2021. Effect of *Bacillus* spp. and *Brevibacillus* sp. on the photosynthesis and redox status of *Solanum lycopersicum*. Horticulturae. 7, 24. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7020024>.
- Crafts-Brandner, S.J., 1992. Phosphorus nutrition influence on leaf senescence in soybean. Plant Physiol. 98, 1128–1132. <https://doi.org/10.1104/pp.98.3.1128>.
- Dai, Z., Liu, G., Chen, H., Chen, C., Wang, J., Ai, S., Wei, D., Li, D., Ma, B., Tang, C., Brookes, P.C., Xu, J., 2020. Long-term nutrient inputs shift soil microbial

- functional profiles of phosphorus cycling in diverse agroecosystems. *ISME J.* 14, 757–770. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0567-9>.
- Dias, A.N., Siqueira-Silva, A.I., Souza, J.P., Kuki, K.N., Pereira, E.G., 2018. Acclimation responses of macaw palm seedlings to contrasting light environments. *Sci. Rep.* 8, 15300. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33553-1>.
- Dixit, V.K., Misra, S., Mishra, S.K., Tewari, S.K., Joshi, N., Chauhan, P.S., 2020. Characterization of plant growth-promoting alkalotolerant *Alcaligenes* and *Bacillus* strains for mitigating the alkaline stress in *Zea mays*. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 113, 889–905. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01399-1>.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C.L., Rose, D., Glick, B.R., 2014. Microbial indole-3-acetic acid and plant growth. *J. Microbiol.* 106, 85–125. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y>.
- Emami, S., Alikhani, H.A., Pourbabaee, A.A., Etesami, H., Motasharezadeh, B., Sarmadian, F., 2020. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. *Rhizosphere.* 14, 100196. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100196>.
- Emami, S., Alikhani, H.A., Pourbabaei, A.A., Etesami, H., Sarmadian, F., Motessharezadeh, B., 2019. Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 19804–19813. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>.
- Fonseca, M.C., Bossolani, J.W., Oliveira, S.L., Moretti, L.G., Portugal, J.R., Scudeletti, D., Oliveira, E.F., Crusciol, C.A.C., 2022. *Bacillus subtilis* inoculation improves nutrient uptake and physiological activity in sugarcane under drought stress. *Microorganisms.* 10, 809. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040809>.
- Gitelson, A.A., Gritz, Y., Merzlyak, M.N., 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *J. Plant Physiol.* 160, 271–282. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00887>.

- Glick, B.R., 2020. Introduction to Plant Growth-Promoting Bacteria. In: Glick, B.R. (Ed.), *Beneficial Plant-Bacterial Interactions*, second ed. Springer, Cham, Switzerland, pp. 1–37. https://doi.org/10.1007/978-3-030-44368-9_1.
- Grafe, M., Goers, M., von Tucher, S., Baum, C., Zimmer, D., Leinweber, P., Vestergaard, G., Kublik, S., Schlöter, M., Schulz, S., 2018. Bacterial potentials for uptake, solubilization and mineralization of extracellular phosphorus in agricultural soils are highly stable under different fertilization regimes. *Environ. Microbiol. Rep.* 10, 320–327. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12651>.
- Guignard, M.S., Leitch, A.R., Acquisti, C., Eizaguirre, C., Elser, J.J., Hessen, D.O., Jeyasingh, P.D., Neiman, M., Richardson, A.E., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Stevens, C.J., Trimmer, M., Weider, L.J., Woodward, A., Leitch, I.J., 2017. Impacts of nitrogen and phosphorus: from genomes to natural ecosystems and agriculture. *Front. Ecol. Evol.* 5, 70. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00070>.
- Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A., Park, S.W., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *J. Plant Growth Regul.* 32, 245–258. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9292-6>.
- Hair, J.F., Black Jr., W.C., Babin, B.J., Anderson, R.E., Tatham, R.L., 2009. *Análise multivariada de dados*, sixth ed. Bookman, Porto Alegre, Brazil.
- Hanyabui, E., Apori, S.O., Frimpong, K.A., Atiah, K., Abindaw, T., Ali, M., Asiamah, J.Y., Byalebeka, J., 2020. Phosphorus sorption in tropical soils. *AIMS Agric. Food.* 5, 599–616. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.599>.
- Hermann, E.R., Câmara, G.M.S., 1999. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. *STAB Açúcar Álcool Subprodutos.* 17, 32–34.
- Hong-Hai, L., Merope, T.M., Ya-Li, Z., Wang-Feng, Z., 2016. Combining gas exchange and chlorophyll a fluorescence measurements to analyze the photosynthetic activity of drip-irrigated cotton under different soil water deficits. *J. Integr. Agric.* 15, 1256–1266. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61270-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61270-9).
- Hossain, M.A., Burritt, D.J., Fujita, M., 2015. Proline and glycine betaine modulate cadmium-induced oxidative stress tolerance in plants. In: Azooz, M.M., Ahmad, P. (Eds.), *Plant-Environmental interaction: Response and approaches to mitigate stress*. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA, pp. 97–123. <https://doi.org/10.1002/9781119081005.ch6>.

- Houborg, R., Fisher, J.B., Skidmore, A.K., 2015. Advances in remote sensing of vegetation function and traits. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf.* 43, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jag.2015.06.001>.
- Hussain, A., Adnan, M., Hajira, Iqbal, S., Fahad, S., Saeed, M., Mian, I.A., Muhammad, M.W., Romman, M., Perveez, R., Wahid, F., Subhan, F., Raza, M.A., Zamin, M., Ullah, F., Rehman Ur, K., Andaleeb, S., 2019. Combining phosphorus (P) with phosphate solubilizing bacteria (PSB) improved wheat yield and P uptake in alkaline soil. *Pure Appl. Biol.* 8, 1809–1817. <https://doi.org/10.19045/bspab.2019.80124>.
- Iqbal, A., Song, M., Shah, Z., Alamzeb, M., Iqbal, M., 2019. Integrated use of plant residues, phosphorus and beneficial microbes improve hybrid maize productivity in semiarid climates. *Acta Ecol. Sinica.* 39, 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.09.005>.
- Isaac, M.E., Borden, K.A., 2019. Nutrient acquisition strategies in agroforestry systems. *Plant Soil.* 444, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04232-5>.
- Jaiphong, T.K., Tominaga, J., Watanabe, K., Nakabaru, M., Takaragawa, H., Suwa, R., Ueno, M., Kawamitsu, Y., 2016. Effects of duration and combination of drought and flood conditions on leaf photosynthesis, growth and sugar content in sugarcane. *Plant Prod. Sci.* 19, 427–437. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2016.1159520>.
- Kalidas-Singh, S., Thakuria, D., 2018. Seedling root-dip in phosphorus and biofertilizer added soil slurry method of nutrient management for transplanted rice in acid soil. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 18, 921–938. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162018005002701>.
- Khan, M.A., Asaf, S., Khan, A.L., Jan, R., Kang, S.-M., Kim, K.-M., Lee, I.-J., 2020. Thermotolerance effect of plant growth-promoting *Bacillus cereus* SA1 on soybean during heat stress. *BMC Microbiol.* 20, 175. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01822-7>.
- Kimura, H., Hashimoto-Sugimoto, M., Iba, K., Terashima, I., Yamori, W., 2020. Improved stomatal opening enhances photosynthetic rate and biomass production in fluctuating light. *J. Exp. Bot.* 71, 2339–2350. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa090>.

- Klughammer, C., Schreiber, U., 2008. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. *Heinz Walz GmbH*. 1, 27–35.
- Ku, S., Edwards, G., 1977. Oxygen inhibition of photosynthesis: II. Kinetic characteristics as affected by temperature. *Plant Physiol.* 59, 991–999. <https://doi.org/10.1104/pp.59.5.991>.
- Kumar, A., Maurya, B.R., Raghuwanshi, R., Meena, V.S., Islam, M.T., 2017. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under Indo-Gangetic plain of India. *J. Plant Growth Reg.* 36, 608–617. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9663-5>.
- Leser, T.D., Knarreborg, A., Worm, J., 2008. Germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores in the gastrointestinal tract of pigs. *J. Appl. Microbiol.* 104, 1025–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03633.x>.
- Less, H., Galili, G., 2008. Principal transcriptional programs regulating plant amino acid metabolism in response to abiotic stresses. *Plant Physiol.* 147, 316–330. <https://doi.org/10.1104/pp.108.115733>.
- Li, Y., Liu, X., Hao, T., Chen, S., 2017. Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1253. <https://doi.org/10.3390/ijms18071253>.
- Li, Y., Xu, S., Gao, J., Pan, S., Wang, G., 2016. *Bacillus subtilis*-regulation of stomatal movement and instantaneous water use efficiency in *Vicia faba*. *Plant Growth Regul.* 78, 43–55. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0073-7>.
- Long, X.E., Yao, H., Huang, Y., Wei, W., Zhu, Y.G., 2018. Phosphate levels influence the utilisation of rice rhizodeposition carbon and the phosphate-solubilising microbial community in a paddy soil. *Soil Biol. Biochem.* 118, 103–114. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.014>.
- Maguire, J.D., 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2, 176–177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.
- Majid, M., Ali, M., Shahzad, K., Ahmad, F., Ikram, R.M., Ishtiaq, M., Alaraidh, I.A., Alhashimi, A., Ali, H.M., Zarei, T., Datta, R., Fahad, S., Sabagh, A.E., Hussain, G.S., Salem, M.Z.M., Habib-ur-Rahman, M., Danish, S., 2020. Mitigation of

- osmotic stress in cotton for the improvement in growth and yield through inoculation of rhizobacteria and phosphate solubilizing bacteria coated diammonium phosphate. *Sustainability*. 12, 10456. <https://doi.org/10.3390/su122410456>.
- Malhotra, H., Sharma, S., Pandey, R., 2018. Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. In: Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., Nahar, K., Hawrylak-Nowak, B. (Eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer, Singapore, pp. 171–190. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_7.
- Mander, C., Wakelin, S., Young, S., Condon, L., O'Callaghan, M., 2012. Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 44, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.009>.
- Marcos, F.C.C., Íorio, R.P.F., Silveira, A.P.D., Ribeiro, R.V., Machado, E.C., Lagôa, A.M.M.A., 2016. Endophytic bacteria affect sugarcane physiology without changing plant growth. *Bragantia*. 75, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.256>.
- Marschner, H., 2012. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, third ed. Elsevier, London, UK.
- Maxwell, K., Johnson, G. N., 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>.
- Mazumdar, R. K., Chakider, B. P., Mukherjee, S. K., 1969. Selection and classification of mango root stocks in the nursery stage. *Acta Hortic.* 24, 101–106. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1972.24.17>.
- Mcadam, S.A.M., Brodribb, T.J., 2012. Stomatal innovation and the rise of seed plants. *Ecol. Lett.* 15, 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01700.x>.
- Meena, R.S., Meena, V.S., Meena, S.K., Verma, J.P., 2015. The needs of healthy soils for a healthy world. *J. Clean. Prod.* 102, 560–561. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.045>.
- Melis, A. 1999. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends Plant Sci.* 4:1360-1385. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01387-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01387-4).
- Miljaković, D., Marinković, J., Balešević-Tubić, S., 2020. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. *Microorganisms*. 8, 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>.

- Moutia, J.F.Y., Saumtally, S., Spaepen, S., Vanderleyden, J., 2010. Plant growth promotion by *Azospirillum* sp. in sugarcane is influenced by genotype and drought stress. *Plant Soil*. 337, 233–242. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0519-7>.
- Müller, P., Li, X.-P., Niyogi, K.K., 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125, 1558–1566. <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558>.
- Murchie, E. H., Pinto, M., Horton, P., 2009. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. *New Phytol.* 181, 532–552. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02705.x>.
- Nacoon, S., Jogloy, S., Riddech, N., Mongkolthanaruk, W., Kuyper, T.W., Boonlue, S., 2020. Interaction between phosphate solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth promotion and tuber inulin content of *Helianthus tuberosus* L. *Sci. Rep.* 10, 4916. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61846-x>.
- Nadeem, S.M., Imran, M., Naveed, M., Khan, M.Y., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Crowley, D.E., 2017. Synergistic use of biochar, compost and plant growth-promoting rhizobacteria for enhancing cucumber growth under water deficit conditions. *J. Sci. Food Agric.* 97, 5139–5145. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8393>.
- Naseem, H., Bano, A., 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *J. Plant Interact.* 4, 689–701. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.902125>.
- Nicholson, W.L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H.J., Setlow, P., 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 548–572. <https://doi.org/10.1128/mmb.64.3.548-572.2000>.
- Niu, X., Song, L., Xiao, Y., Ge, W., 2018. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. *Front. Microbiol.* 8, 2580. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02580>.
- Novais, R.F., Smyth, T.J., Nunes, F.N., 2007. Fósforo. In: Novais, R.F., Alvarez, V.V.H., Barros, N.F., Fontes, R.L.F., Cantarutti, R.B., Neves, J.C.L. (Eds.), *Fertilidade do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, Brazil, pp. 471–550.

- Nunes, F.N., Cantarutti, R.B., Novais, R.F., Silva, I.R., Tótola, M.R., Ribeiro, B.N., 2008. Atividade de fosfatases em gramíneas forrageiras em resposta à disponibilidade de fósforo no solo e à altura de corte das plantas. *Rev. Bras. Cienc. Solo.* 32, 1899–1909. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000500011>.
- Ozawa, K., Osaki, M., Matisui, H., Honma, M., Tadano, T., 1995. Purification and properties of acid phosphatase secreted from lupin roots under phosphorus-deficiency conditions. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 41, 461–469. <https://doi.org/10.1080/00380768.1995.10419608>.
- Pascal A.A., Liu Z., Broess K., van Oort, B., van Amerongen, H., Wang, C., Horton, P., Robert, B., Chang, W., Ruban, A., 2005. Molecular basis of photoprotection and control of photosynthetic light-harvesting. *Nature.* 436, 134–137. <https://doi.org/10.1038/nature03795>.
- Patrício, F.R.A., Almeida, I.M.G., Santos, A.S., Cabral, O., Tessarioli Neto, J., Sinigaglia, C., Beriam, L.O.S., Rodrigues Neto, J., 2005. Avaliação da solarização do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*. *Fitopatol. Bras.* 30, 475–481. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000500003>.
- Pinto, E.P.P., Moutinho, P., Stella, O., Castro, I., Mazer, S., Rettmann, R., Moreira, P.F., 2010. Perguntas e respostas sobre aquecimento global. Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia IPAM, p. 65.
- Preston, C.L., Diaz, D.A.R., Mengel, D.B., 2019. Corn response to long-term phosphorus fertilizer application rate and placement with strip-tillage. *Agron. J.* 111, 841–850. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.07.0422>.
- Raij, B.V., Cantarella, H., Quaggio, J.A., Furlani, A.M.C., 1997. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas (Boletim Técnico, 100).
- Rampazzo, P.E., Marcos, F.C.C., Cipriano, M.A.P., Marchiori, P.E.R., Freitas, S.S., Machado, E.C., Nascimento, L.C., Brochi, M., Ribeiro, R.V., 2018. Rhizobacteria improve sugarcane growth and photosynthesis under well-watered conditions. *Ann. Appl. Biol.* 172, 309–320. <https://doi.org/10.1111/aab.12421>.
- Reynolds, M., Foulkes, M.J., Slafer, G.A., Berry, P., Parry, M.A., Snape, J.W., Angus, W.J., 2009. Raising yield potential in wheat. *J. Exp. Bot.* 60, 1899–1918. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp016>.

- Rfaki, A., Zennouhi, O., Aliyat, F.Z., Nassiri, L., Ibijbijen, J., 2020. Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in Moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiol. J.* 37, 230–241. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>.
- Rodrigues, J.D., Jadoski, C.J., Fagan, E.B., Ono, E.O., Soares, L.H., Dourado Neto, D., 2018. *Fisiologia da Produção de Cana-de-Açúcar*. ANDREI, São Paulo, Brazil.
- Rosa, P.A.L., Galindo, F.S., Oliveira, C.E.S., Jalal, A., Mortinho, E.S., Fernandes, G.C., Marega, E.M.R., Buzetti, S., Texeira Filho, M.C.M., 2022. Inoculation with plant growth-promoting bacteria to reduce phosphate fertilization requirement and enhance technological quality and yield of sugarcane. *Microorganisms*. 10, 192. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010192>.
- Rosa, P.A.L., Mortinho, E.S., Jalal, A., Galindo, F.S., Buzetti, S., Fernandes, G.C., Barco Neto, M., Pavinato, P.S., Teixeira Filho, M.C.M., 2020. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. *Front. Environ. Sci.* 8, 32. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00032>.
- Roy, E.D., Richards, P.D., Martinelli, L.A., Della Coletta, L., Lins, S.R.M., Vazquez, F.F., Willig, E., Spera, S.A., VanWey, L.K., Porder, S., 2016. The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. *Nat. Plants*. 2, 2–7. <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.43>.
- Sadoka, K., Yamori, W., Shimada, T., Sugano, S.S., Hara-Nishimura, I., Tanaka, Y., 2020. Higher stomatal density improves photosynthetic induction and biomass production in *Arabidopsis* under fluctuating light. *Front. Plant Sci.* 11, 589603. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.589603>.
- Saeid, A., Prochownik, E., Dobrowolska-Iwanek, J., 2018. Phosphorus Solubilization by *Bacillus* Species. *Molecules*. 23, 2897. <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>.
- Safirzadeh, S., Chorom, M., Enayatizamir, N., 2019. Effect of phosphate solubilising bacteria (*Enterobacter cloacae*) on phosphorus uptake efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Soil Res.* 57, 333–341. <https://doi.org/10.1071/SR18128>.
- Samaniego-Gámez, B.Y., Garruña, R., Tun-Suárez, J.M., Kantun-Can, J., Reyes-Ramírez, A., Cervanes-Díaz, L., 2016. *Bacillus* spp. inoculation improves

- photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. *Chil. J. Agric. Res.* 76, 409–416. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000400003>.
- Samaniego-Gómez, B.Y., Garruña, R., Tun-Suárez, J.M., Moreno-Valenzuela, O.A., Reyes-Ramírez, A., Valle-Gough, R.E., Ail-Catzim, C.E., Toscano-Palomar, L., 2021. Healthy photosynthetic mechanism suggests ISR elicited by *Bacillus* spp. in *Capsicum chinense* plants infected with PepGMV. *Pathogens*, 10, 455. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040455>.
- Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., Anjos, L.H.C., Oliveira, V.A., Lumbrreras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A., Araújo-Filho, J.C., Oliveira, J.B., Cunha, T.J.F., 2018a. Sistema brasileiro de classificação de solos, fifth ed. Embrapa Solos, Brasília, Brazil.
- Santos, H.L., Silva, G.F., Carnietto, M.R.A., Oliveira, L.C., Nogueira, C.H.C., Silva, M.A., 2022. *Bacillus velezensis* associated with organomineral fertilizer and reduced phosphate doses improves soil microbial-chemical properties and biomass of sugarcane. *Agronomy*. 12, 2701. <https://doi.org/10.3390/agronomy12112701>.
- Santos, R.M., Diaz, P.A.E., Lobo, L.L.B., Rigobelo, E.C., 2020. Use of plant growth-promoting rhizobacteria in maize and sugarcane: characteristics and applications. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 136. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00136>.
- Santos, R.M., Kandasamy, S., Rigobelo, E.C., 2018b. Sugarcane growth and nutrition levels are differentially affected by the application of PGPR and cane waste. *MicrobiologyOpen*. 7, e00617. <https://doi.org/10.1002/mbo3.617>.
- Schreiber, J., Bilger, W., Hormann, H., Neubauer, C., 1998. Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance, in: Raghavendra, A.S. (Ed.), *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge University Press, Cambridge, pp.320–336.
- Setlow, P., 1994. Mechanisms which contribute to the long-term survival of spores of *Bacillus* species. *J. Appl. Bacteriol.* 76, 49S–60S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb04357.x>.
- Shen, H.; He, X.; Liu, Y.; Chen, Y.; Tang, J.; Guo, T., 2016. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of

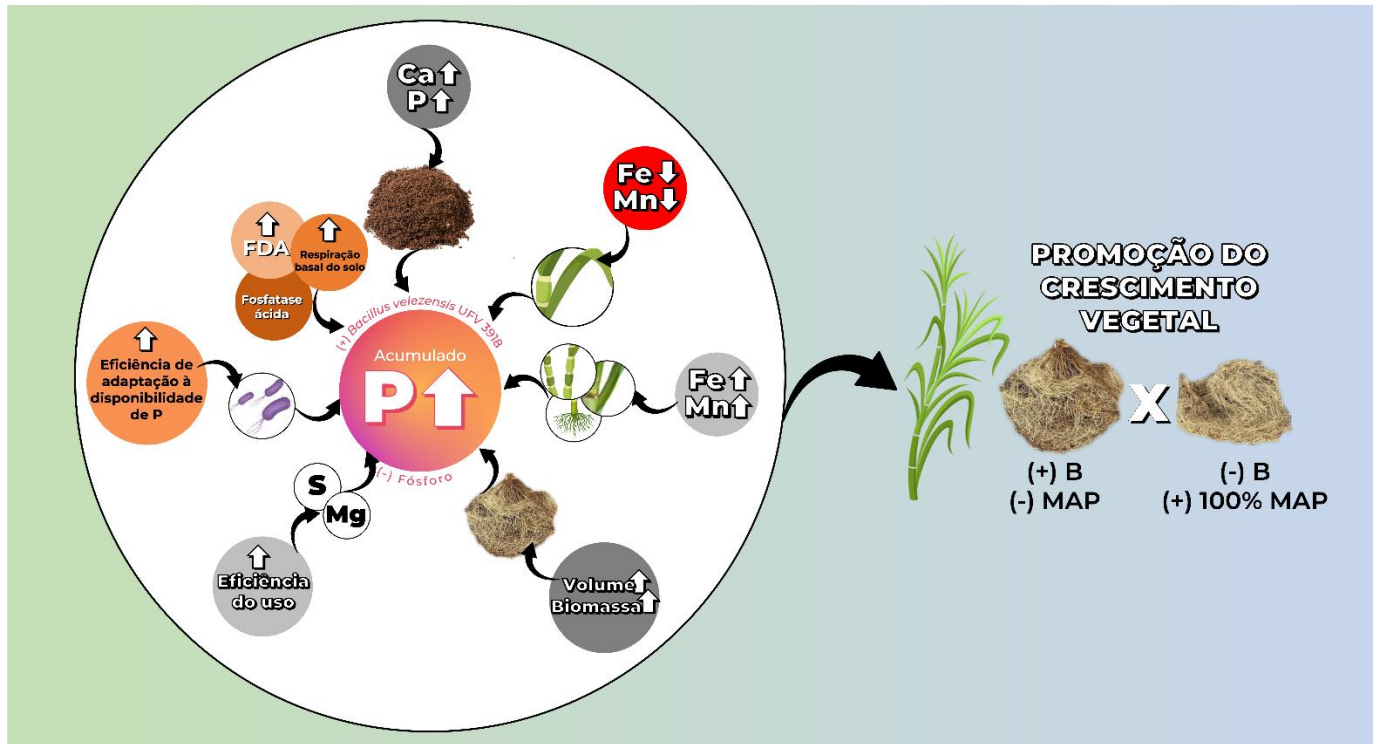
- kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. *Front. Microbiol.* 7, 841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00841>.
- Shi, Y., Lou, K., and Li, C., 2010. Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by endophytic bacteria. *Photosynth. Res.* 105, 5–13. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9547-7>.
- Shukla, A.K., 2019. Ecology and Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Landscape. In: Singh, A.K., Kumar, A., Singh, P.K. (Eds.), *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture: Food Security and Environmental Management*. Woodhead Publishing, Duxford, UK, pp. 1-14.
- Siefermann, D., Yamamoto, H.Y., 1975. Properties of NADPH and oxygen-dependent zeaxanthin epoxidation in isolated chloroplasts: a transmembrane model for the violaxanthin cycle. *Arch. Biochem. Biophys.* 171, 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(75\)90008-9](https://doi.org/10.1016/0003-9861(75)90008-9).
- Silva, A.M.S., Oliveira, E.C.A., Willadino, L.G., Freire, F.J., Rocha, A.T., 2019. Corrective phosphate application as a practice for reducing oxidative stress and increasing productivity in sugarcane. *Cienc. Agron.* 50, 188–196. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20190022>.
- Silva, M.A., Geronimo, G.Z., Santos, H.L., 2020. Genetic and morpho-physiological differentiation of sugarcane genotypes under drought stress. *Int. J. Agric. Biol.* 24, 311–318. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1440>.
- Singh, S.K., Badgujar, G., Reddy, V.R., Fleisher, D.H., Bunce, J.A., 2013. Carbon dioxide diffusion across stomata and mesophyll and photo-biochemical processes as affected by growth CO₂ and phosphorus nutrition in cotton. *J. Plant Physiol.* 170, 801–813. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.01.001>.
- Singh S.K., Reddy V.R., 2014. Combined effects of phosphorus nutrition and elevated carbon dioxide concentration on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and nutrient efficiency of cotton. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 177, 892–902. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400117>.
- Singh S.K., Reddy V.R., 2015. Response of carbon assimilation and chlorophyll fluorescence to soybean leaf phosphorus across CO₂: Alternative electron sink, nutrient efficiency and critical concentration. *J. Photoch. Photobio. B, Biol.* 151, 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.08.021>.

- Singh, B., Pandey, R., 2003. Differences in root exudation among phosphorus-starved genotypes of maize and green gram and its relationship with phosphorus uptake. *J. Plant Nutr.* 26, 2391–2401. <https://doi.org/10.1081/PLN-120025467>.
- Smith, B.N., 2004. Photosynthesis, respiration and growth. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of photosynthesis*. London, UK, pp. 671–677.
- Steele, M.R., Gitelson, A.A., Rundquist, D.C., 2008. A comparison of two techniques for nondestructive measurement of chlorophyll content in grapevine leaves. *Agron. J.* 100, 779–782. <https://doi.org/10.2134/agronj2007.0254N>.
- Stirbet, A., Lazár, D., Kromdijk, J., Govindjee, 2018. Chlorophyll a fluorescence induction: can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? *Photosynthetica*. 56, 86–104. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0770-3>.
- Suleman, M., Yasmin, S., Rasul, M., Yahya, M., Atta, B.M., Mirza, M.S., 2018. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS One*. 13, e0204408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>.
- Tahir, H.A., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Colman, M.V., Gao, X., 2017. Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Front. Microbiol.* 8, 171. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171>.
- Tahir, M., Khalid, U., Ijaz, M., Shah, G.M., Naeem, M.A., Shahid, M., Mahmood, K., Ahmad, N., Kareem, F., 2018. Combined application of bio-organic phosphate and phosphorus solubilizing bacteria (*Bacillus* strain MWT 14) improve the performance of bread wheat with low fertilizer input under an arid climate. *Braz. J. Microbiol.* 49, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.11.005>.
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M., Murphy, A., 2017. *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal*. Artmed, Porto Alegre, Brazil.
- Tanaka, Y., Sugano, S.S., Shimada, T., Hara-Nishimura, I., 2013. Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in *Arabidopsis*. *New Phytol.* 198, 757–764. <https://doi.org/10.1111/nph.12186>.
- Tatagiba, S.D., 2013. Fotossíntese: metabolismo antioxidativo e respostas de defesa de plantas de arroz infectadas por *Microdochium oryzae* e supridas com silício. 126p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa.

- Teixeira, W.G., Sousa, R.T.X., Korndörfer, G.H., 2014. Response of sugarcane to doses of phosphorus provided by organomineral fertilizer. *Biosci. J.* 30, 1729–1736.
- Urbonaviciute, A., Samuoliene, G., Sakalauskaite, J., Duchovskis, P., Brazaityte, A., Siksniariene, J.B., Ulinskaite, R., Sabajeviene, G., Baranauskis, K., 2006. The effect of elevated CO₂ concentrations on leaf carbohydrate, chlorophyll contents and photosynthesis in radish. *Polish J. Environ. Studies.* 15, 921–925.
- Vitti, G.C., Luz, P.H.C., Altran, W.S., 2015. Nutrição e Adubação, in: Santos, F., Bórem, A. (Eds.), *Cana-de-açúcar: do plantio à colheita*. UFV, Viçosa, Brazil, pp. 49–79.
- Wang, F., Kertesz, M.A., Feng, G., 2019. Phosphorus forms affect the hyphosphere bacterial community involved in soil organic phosphorus turnover. *Mycorrhiza*. 29, 351–362. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00896-0>.
- Wang, J., Chen, Y., Wang, P., Li, Y.S., Wang, G., Liu, P., Khan, A., 2018a. Leaf gas exchange, phosphorus uptake, growth and yield responses of cotton cultivars to different phosphorus rates. *Photosynthetica*. 56, 1414–1421. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0845-1>.
- Wang, S.K., Zhuang, S., Zhang, M., Yang, F., Meng, Q., 2018b. Overexpression of a Tomato carotenoid ϵ -hydroxylase gene (SILUT1) improved the drought tolerance of transgenic tobacco. *J. Plant Physiol.* 70, 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.01.009>.
- Wellburn, A.R., 1994. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144, 307–313. [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).
- White, P.J., Brown, P.H., 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot.* 105, 1073–1080. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq085>.
- White, P.J., Hammond, J.P., 2008. Phosphorus nutrition of terrestrial plants. In: White, P.J., Hammond, J.P. (Eds.), *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*. Springer, Dordrecht, pp. 51–81. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8435-5_4.
- Widdig, M., Schleuss, P.M., Weig, A.R., Guhr, A., Biederman, L.A., Borer, E.T., Crawley, M.J., Kirkman, K.P., Seabloom, E.W., Wragg, P.D., Spohn, M., 2019. Nitrogen and phosphorus additions alter the abundance of phosphorus-

- solubilizing bacteria and phosphatase activity in grassland soils. *Front. Environ. Sci.* 7, 185. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00185>.
- Wong, S.C., Cowan, I.R., Farquhar, G.D., 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature.* 282, 424–426. <https://doi.org/10.1038/282424a0>.
- Xu cheng, J., min Huang, L., Chen, C., Wang, J., xian Long, X., 2019. Effective lead immobilization by phosphate rock solubilization mediated by phosphate rock amendment and phosphate solubilizing bacteria. *Chemosphere.* 237, 124540. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124540>.
- Yemm, E.W., Cocking, E.C., 1955. The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst.* 80, 209–213. <https://doi.org/10.1039/AN9558000209>.
- Yobo, K.S., Laing, M.D., Hunter, C.H., 2011. Effects of single and combined inoculations of selected *Trichoderma* and *Bacillus* isolates on growth of dry bean and biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 8746–8756. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2213>.
- Zhang, H., Xie, X., Kim, M.-S., Korniyev, D.A., Holaday, S., Paré, P.W., 2008. Soil bacteria augment Arabidopsis photosynthesis by decreasing glucose sensing and abscisic acid levels in planta. *Plant J.* 56, 264–273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03593.x>.
- Zhao, K., Penttinen, P., Zhang, X.P., Ao, X.L., Liu, M.K., Yu, X.M., Chen, Q., 2014. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. *Microbiol. Res.* 169, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.003>.
- Zheng, W., Zeng, S., Bais, H., LaManna, J.M., Hussey, D.S., Jacobson, D.L., Jin, Y., 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) reduce evaporation and increase soil water retention. *Water Resour. Res.* 54, 3673–3687. <https://doi.org/10.1029/2018wr022656>.
- Zubair, M., Hanif, A., Farzand, A., Sheikh, T.M.M., Khan, A.R., Suleman, M., Ayaz, M., Gao, X., 2019. Genetic screening and expression analysis of psychrophilic *Bacillus* sp. reveal their potential to alleviate cold stress and modulate phytohormones in wheat. *Microorganisms,* 7, 337. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090337>.

GRAPHICAL ABSTRACT – CAPÍTULO 2



CAPÍTULO 2

***Bacillus velezensis* UFV 3918 MELHORA A ABSORÇÃO E ACÚMULO DE FÓSFORO E OUTROS NUTRIENTES NA CANA-DE-AÇÚCAR E BENEFICIA A SAÚDE DO SOLO²**

Hariane Luiz Santos¹; Gustavo Ferreira da Silva¹; Adão de Siqueira Ferreira² e Marcelo de Almeida Silva^{1*}

¹Laboratório de Ecofisiologia Aplicada a Agricultura, Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

²Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – Campus Umuarama, Uberlândia, MG, Brasil.

(hariane.lui@unesp.br, gustavo.ferreira@unesp.br, adaoferreira@ufu.br, marcelo.a.silva@unesp.br)

(0000-0003-3322-111X, 0000-0001-5788-8635, 0000-0002-1867-4308, 0000-0002-9104-5583)

*Autor correspondente: Marcelo de Almeida Silva (marcelo.a.silva@unesp.br)

Resumo

A inoculação de bactérias é considerada uma prática promissora para auxiliar na otimização do uso de fertilizantes fosfatados, mas a capacidade das diferentes cepas de permitir a redução do uso do fósforo (P) ainda precisa ser estudada. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de *Bacillus velezensis* UFV 3918 combinado ou não com doses de fosfato monoamônico (MAP) na biodisponibilidade de P e outros nutrientes para a cana-de-açúcar e nas propriedades químicas e microbianas do solo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos [Testemunha absoluta (TA) – sem MAP; Testemunha comercial (TC) – dose recomendada de MAP (3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP)] e quatro repetições. Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram incrementos médios no teor de P no solo (22,0%), volume (9,9%) e diâmetro médio de raízes (6,7%), respiração basal do solo (RBS) (11,4%) e atividades da diacetato de fluoresceína (17,4%), urease (9,1%) e fosfatase ácida (9,3%) em relação à TC. Além disso, Bv proporcionou acúmulos de

²Capítulo elaborado de acordo com as normas do periódico “**Biology and Fertility of Soils**” (<https://www.springer.com/journal/374>).

P, K, Fe, B e Cu na parte aérea superiores aos verificados na TC, e Bv+1/3 MAP incrementou a absorção de K, N, Ca, P, Fe, Mn, B e Cu quando comparado à TC. A análise multivariada mostrou comportamentos semelhantes entre Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP e entre Bv+1/3 MAP e a TC. As principais variáveis que influenciaram o acúmulo de P na parte aérea foram os teores de S, P e Ca no solo, e de Fe e Mn na parte aérea e nas raízes, o volume radicular, a eficiência do uso do S e do Mg, o acúmulo e a absorção de Fe e Mn e a RBS, com destaque para *B. velezensis* sem adubação com MAP (Bv). Houve correlação negativa entre os teores de nutrientes nas folhas e o acúmulo de P, e correlação positiva entre o acúmulo de P e as variáveis teores de nutrientes nas bainhas, raízes e colmos, eficiência do uso de nutrientes, acúmulo e absorção de nutrientes e indicadores microbiológicos. Portanto, os resultados mostram que *B. velezensis* UFV 3918 associado a doses reduzidas de fosfato incrementou a atividade microbiana e enzimática do solo, refletindo na nutrição da cana-de-açúcar, com melhoria no acúmulo e absorção de nutrientes.

Palavras-Chave: *Saccharum* spp. · Bactérias solubilizadoras de fosfato · Macronutrientes · Micronutrientes · Adubação fosfatada · Indicadores microbiológicos

CHAPTER 2 – *Bacillus velezensis* UFV 3918 IMPROVES PHOSPHORUS AND OTHER NUTRIENTS UPTAKE AND ACCUMULATION IN SUGARCANE AND BENEFITS SOIL HEALTH

Abstract

Bacteria inoculation is considered a promising practice to help optimize the use of phosphate fertilizers. However, the ability of different strains to reduce phosphorus (P) use still needs to be studied. Thus, this research aimed to evaluate the effect of *Bacillus velezensis* UFV 3918 combined or not with doses of mono ammonium phosphate (MAP) on the bioavailability of P and other nutrients to sugarcane and on soil chemical and microbial properties. The experiment was carried out in a completely randomized design with six treatments [absolute control (AC); commercial control (CC) (recommended dose of MAP – 3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP] and four replicates. Bv and Bv+1/3 MAP provided average increments in soil P content (22.0%), volume (9.9%) and average root diameter (6.7%), basal soil respiration (BSR) (11.4%), and activities of fluorescein diacetate (17.4%), urease (9.1%), and acid phosphatase (9.3%) compared to CC. In

addition, B improved shoot accumulation of P, K, Fe, B, and Cu compared to CC, and Bv+1/3 MAP increased the uptake of K, N, Ca, P, Fe, Mn, B, and Cu compared to CC. Multivariate analysis showed similar behavior between Bv, Bv+2/3 MAP, and Bv+3/3 MAP and between Bv+1/3 MAP and CC. The main variables influencing the shoot P accumulation were the soil S, P, and Ca contents, shoot and root Fe and Mn contents, root volume, S and Mg use efficiency, Mn and Fe accumulation and uptake, and RBS, with emphasis on *B. velezensis* without MAP fertilization (Bv). There was a negative correlation between leaf nutrient contents and P accumulation and a positive correlation between P accumulation and nutrient contents in sheaths, roots, and stems, nutrient use efficiency, nutrient accumulation and uptake, and microbiological indicators. Therefore, the results showed that *B. velezensis* UFV 3918, associated with reduced doses of phosphate, increased the microbial and enzymatic activity of the soil, reflecting in the nutrition of sugarcane, with improvement in the accumulation and uptake of nutrients.

Keywords: *Saccharum* spp. · Phosphate solubilizing bacteria · Macronutrients · Micronutrients · Phosphate fertilization · Microbiological indicators

2.1 Introdução

A cana-de-açúcar é uma cultura importante internacionalmente para a produção de energia renovável, sendo plantada em uma área global de aproximadamente 24,3 milhões de hectares (OECD–FAO 2022). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e na safra de 2021/2022 produziu 585,2 milhões de toneladas em 8,31 milhões de hectares de terras cultivadas (Conab 2022).

O uso de fertilizantes químicos sintéticos tem aumentado, visando otimizar o crescimento e a produtividade das culturas, entretanto a absorção de nutrientes pelas plantas, a eficiência do uso de nutrientes (EUNu) e a produtividade das culturas não têm aumentado simultaneamente (Adnan et al. 2020; Seleiman et al. 2020). Em geral, os fertilizantes minerais utilizados na agricultura apresentam baixa eficiência (Guo et al. 2018). Estima-se que a eficiência do uso do fósforo (P) varia de 18 a 20% e essa estimativa permaneceu constante nas últimas décadas (Subramanian et al. 2015; Preetha e Balakrishnan 2017), o que evidencia que mais da metade dos fertilizantes fosfatados aplicados em campo são perdidos por imobilização.

O P no solo é afetado pela fixação, principalmente pela ligação aos óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al), que é intensificada em solos ácidos das regiões tropicais, reduzindo a utilização de P pelas plantas (Caione et al. 2015; Borges et al. 2018; Asomaning 2020; Hanyabui et al. 2020). A baixa eficiência do uso do P implica no uso intensivo de fertilizantes fosfatados sintéticos para aumentar a produção agrícola (Guo et al. 2018).

Normalmente, os solos utilizados para o cultivo de cana-de-açúcar têm alta capacidade de fixação de P, devido ao elevado número de cortes e dificuldade de incorporação do fertilizante em cana-soca e, portanto, a aplicação de grandes quantidades de fertilizantes fosfatados solúveis é necessária para auxiliar no fornecimento dos níveis adequados de P que permitem um rendimento adequado da cultura (Roy et al., 2016). Entretanto, a longo prazo, o uso intensivo destes fertilizantes pode resultar em riscos ambientais, como a degradação do solo (Seleiman et al. 2020; Czymmek et al. 2021).

Além da problemática que envolve os solos brasileiros, cerca de 75% dos fertilizantes minerais fosfatados utilizados na agricultura brasileira são importados (Colussi et al. 2022). Isso promove uma preocupação global com os custos e a energia envolvidos na mineração do fosfato e seu transporte das fábricas às lavouras, visto que trata-se de um recurso finito e de uma atividade que não é economicamente viável nem ecologicamente correta. Observa-se como restrições a emissão de flúor como gás fluoreto de hidrogênio, o descarte de gesso e a acumulação de cádmio e outros metais pesados no solo e, possivelmente, nas colheitas, resultante do uso repetitivo desses fertilizantes (Sharma et al. 2013a; Meng et al. 2019).

Uma estratégia sustentável para o aumento da disponibilidade de P (Alori et al. 2017; Billah et al. 2019; Shukla 2019; Rosa et al. 2020, 2022) e melhoria da eficiência do uso do P no sistema solo-planta (Meena et al. 2015; Kumar et al. 2017) é o uso de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP). BSP são microrganismos capazes de solubilizar e mineralizar fontes inorgânicas e orgânicas de P (Shen et al. 2016). Dentre as principais formas de ação desses microrganismos estão a produção de ácidos orgânicos, sideróforos, prótons e CO₂ (Buch et al. 2010; Richardson et al. 2011; Bhattacharyya e Jha 2012; Kumar e Rai 2015; Alori et al. 2017) e a ação de enzimas, como fosfatases, fitases e fosfonatases (Richardson e Simpson 2011; Behera et al. 2013; Sharma et al. 2013a; Kumar 2016).

Bactérias do gênero *Bacillus* são exemplos de microrganismos abundantes na rizosfera e promissores como solubilizadores de fosfato (Saeid et al. 2018). O uso destes microrganismos favorece uma agricultura sustentável, pois contribui para a melhoria da saúde do solo e um solo saudável beneficia o ecossistema através da manutenção da qualidade da água e da produtividade das plantas e do controle da ciclagem de nutrientes do solo (Tahat et al. 2020; Santos et al. 2022).

Além da possibilidade de aumento da disponibilidade de P, as culturas podem se beneficiar das BSP quando a atividade microbiana estimula o crescimento radicular. Em associação com as raízes, os microrganismos da rizosfera são capazes de modular o sistema radicular da planta através de diferentes mecanismos, a fim de estimular a capacidade de absorção das raízes, beneficiando a absorção de nutrientes em condições limitantes (Hussain et al. 2019; Emami et al. 2019).

A atividade das comunidades microbianas no solo pode ser avaliada para entender os mecanismos de ação das bactérias na solubilização do P. Essas avaliações podem ser realizadas por meio de indicadores microbiológicos, atividade de enzimas ligadas a ciclos biogeoquímicos dos nutrientes e atividade de enzimas do metabolismo intracelular das bactérias (Sobucki et al. 2021).

Diante do contexto apresentado, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito do uso de *Bacillus velezensis* UFV 3918 combinado ou não com doses de fosfato monoamônico (MAP) na disponibilidade de P e outros nutrientes no solo, na nutrição e variáveis radiculares da cana-de-açúcar e nas propriedades microbiológicas do solo, 180 dias após o plantio (DAP).

Nesse sentido, a hipótese desta pesquisa é que a inoculação de *Bacillus velezensis* UFV 3918 nos minitoletes aumenta o fósforo disponível no solo, favorece a absorção de nutrientes pelas raízes e, consequentemente, a nutrição da cana-de-açúcar, e melhora as propriedades microbiológicas do solo, mesmo com doses reduzidas de MAP.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Condições de cultivo e material vegetal

O experimento foi conduzido entre novembro de 2021 e maio de 2022 em uma instalação denominada ambiente protegido, localizada no Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP, em Botucatu, SP, Brasil (22°51'01"S, 48°25'55"O e 786 m acima do nível do mar).

O ambiente protegido é constituído por uma estrutura de aço galvanizado e teto contendo arcos também em aço galvanizado, com pé direito de 3,6 m nas laterais e 4,8 m ao centro, em uma área total de 48 m². As laterais são fechadas com tela de polietileno anti-afídeos de 2 mm de diâmetro e 14% de nível de sombra e a cobertura é composta por plástico transparente de 150 µm.

A solarização foi utilizada como método de desinfestação do solo para o controle de patógenos (Patrício et al. 2005), com o objetivo de evitar efeitos de outros microrganismos sobre a brotação e crescimento das plantas e na solubilização do fosfato que não fossem oriundos da ação da cepa utilizada. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico (Santos et al. 2018) e a análise granulométrica mostrou 68,2% de areia, 25,7% de argila e 6,1% de silte, caracterizando um solo de textura média.

A variedade RB966928 foi utilizada por ser a mais cultivada na região canavieira do Brasil, correspondendo a 17,7% da área cultivada em São Paulo (Braga Junior et al. 2021). As plantas foram cultivadas sob irrigação total (100% da capacidade do vaso), através de irrigação com gotejadores (Netafim, PCJ-CNL 4 L/h, Ribeirão Preto, SP, Brasil), controlando-se a vazão com registros.

2.2.2 Descrição, obtenção e procedência do produto

O produto comercial utilizado contém 7 g L⁻¹ do ingrediente ativo *Bacillus velezensis* UFV 3918, com um mínimo de 1,0×10⁸ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹, com dosagem recomendada de 2 L ha⁻¹ para a cana-de-açúcar. O produto à base da cepa UFV 3918 foi obtido da Vittia, com sede em São Joaquim da Barra, SP, Brasil.

2.2.3 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos [Testemunha absoluta (TA) – sem MAP; Testemunha comercial (TC) – dose recomendada de MAP (3/3 MAP); *Bacillus velezensis* UFV 3918 (Bv); Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP]] e quatro repetições.

Cada parcela foi composta por vasos de 50 L contendo 45 dm³ de solo, corrigidos com base na análise química de acordo com Vitti et al. (2015) e seguindo as doses de adubação fosfatada com MAP (60% P solúvel em citrato neutro de amônio e 12% N) exigidas pelos tratamentos (Tabela 1). Para cana-de-açúcar, é recomendado utilizar 30 a 60 kg de N ha⁻¹ em cobertura antes da formação dos

colmos, com doses maiores em solos mais argilosos (Santos et al. 2018). Assim, a adubação de cobertura com ureia foi realizada na quantidade de 1,5 g vaso⁻¹ (30 kg N ha⁻¹).

O plantio foi realizado no dia 12 de novembro de 2021. Os fertilizantes foram adicionados ao solo no momento do plantio. Para a inoculação da bactéria, uma solução composta por 75 mL de água em pH 7,0 e 2 mL do produto comercial contendo um isolado de *B. velezensis* UFV 3918 (10⁸ UFC mL⁻¹) foi aplicada por vaso. As gemas foram posicionadas a 2 cm de profundidade, sendo que cada gema dos tratamentos contendo bactérias recebeu 15,4 mL dessa solução, enquanto as gemas dos demais tratamentos receberam 15,4 mL de água.

2.2.4 Variáveis radiculares

Após a colheita, as raízes foram lavadas em água corrente e o sistema radicular (SR) foi amostrado. O SR foi picotado e homogeneizado e, em seguida, retirou-se uma amostra uniforme contendo porções das partes superficial, central, lateral e final do SR. O restante do SR foi acondicionado em sacos de papel, mantido em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingir massa constante e, em seguida, pesado em balança de precisão de 0,01 g (Balmak, ELC-6/15/30, Santa Barbara d'Oeste, SP, Brasil) para obter a biomassa radicular (BR).

As amostras de raízes foram acondicionadas em recipientes contendo álcool 70% (v/v) e estes foram armazenados em ambiente refrigerado. Posteriormente, as amostras foram submetidas à leitura em um scanner óptico com resolução de 250 dpi, e as imagens obtidas foram analisadas com o programa WinRhizo para determinar o comprimento radicular (CR) (m), o volume radicular (VR) (cm³) e o diâmetro médio das raízes (DR) (mm) (Tennant 1975). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 48 h para a determinação da massa de matéria seca.

2.2.5 Amostragem e análise química do solo

As amostras de solo foram coletadas em uma profundidade de 0–0,15 m em maio de 2022. Em seguida, o solo amostrado foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C por 96 h e passado em peneira granulométrica de 2 mm.

Tabela 1 Análise química inicial do solo e doses dos fertilizantes adicionados no plantio.

pH	MO	Al ³⁺	H + Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	P _{resina}	S	Cu	Fe	Mn	Zn	B
CaCl ₂	g dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³							mg dm ⁻³							
6,0	40,1	0,7	20,8	0,6	75,2	26,4	102,2	123,0	83,0	61,8	34,1	0,3	22,7	0,7	1,2	0,2
Adubação de plantio																
Dose			N			P			K							
Dose recomendada de MAP			36,12 kg ureia ha ⁻¹ (0,813 g ureia vaso ⁻¹)			125 kg MAP ha ⁻¹ (2,8 g MAP vaso ⁻¹)			250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)							
2/3 da dose recomendada de MAP			46,3 kg ureia ha ⁻¹ (1,04 g ureia vaso ⁻¹)			83,33 kg MAP ha ⁻¹ (1,878 g MAP vaso ⁻¹)			250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)							
1/3 da dose recomendada de MAP			56,47 kg ureia ha ⁻¹ (1,272 g ureia vaso ⁻¹)			41,7 kg MAP ha ⁻¹ (0,939 g MAP vaso ⁻¹)			250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)							
Sem MAP			66,6 kg ureia ha ⁻¹ (1,5 g ureia vaso ⁻¹)			–			250 kg KCl ha ⁻¹ (5,635 g KCl vaso ⁻¹)							

MO (matéria orgânica); SB (soma de bases); V% (saturação por bases); CTC (capacidade de troca catiônica).

A matéria orgânica (MO) foi determinada de acordo com a metodologia de Walkley e Black (1934). A análise das concentrações de potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), fósforo (P), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu) foi realizada de acordo com a metodologia de van Raij et al. (2001).

Os macronutrientes foram extraídos por resina de troca iônica, sendo K, Ca e Mg determinados por espectrofotometria de absorção atômica (EAA) e S e P pelo método colorimétrico. E os micronutrientes foram extraídos com uma solução contendo ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) (0,005 M, pH 7,3); trietanolamina (TEA) (0,1 M) e CaCl_2 (0,01 M) e determinados por EAA (van Raij et al. 2001).

2.2.6 Amostragem, análise química e variáveis nutricionais do tecido vegetal

A diagnose nutricional consiste na determinação do teor de nutrientes em amostras de folhas diagnósticas, como a folha +1 (Malavolta et al. 1997; McCray e Mylavarapu 2010). Em cana-de-açúcar, a folha +1 é caracterizada como a primeira folha com a lígula totalmente aberta, também conhecida como folha TVD (*top visible dewlap*) (van Raij et al. 1997).

Aos 180 DAP, foram coletadas porções medianas das folhas +1, descartando-se a nervura central, bainhas das folhas +1, porções medianas dos colmos principais e amostras uniformes dos sistemas radiculares. O material amostrado foi levado para uma estufa de circulação forçada a 60 °C até atingir um peso constante e, em seguida, foi triturado em moinho tipo Willey.

O nitrogênio (N) foliar foi extraído por digestão sulfúrica e determinado pelo método de Kjeldahl, enquanto a extração de K, Ca, Mg, S, P, Fe, Zn, Mn, B e Cu ocorreu por digestão nitroperclórica (AOAC 2016). K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn e Cu foram determinados por EAA e S, P e B pelo método colorimétrico.

A eficiência do uso de nutrientes foi calculada pelo índice proposto por Siddiqi e Glass (1981), definido pela fórmula 1:

$$\text{EUNu} = W/C, \text{ onde } C = Q/W \quad (1)$$

onde EUNu é a eficiência do uso de nutrientes [mg de matéria seca (MS) mg^{-1} de nutriente]; W é a biomassa da parte aérea (mg); C é a concentração do nutriente no tecido (mg planta^{-1}) e Q é a quantidade do nutriente na biomassa (mg).

A eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo foi determinada pela fórmula 2 (Sant'Ana et al. 2003; Fageria 2007):

$$\text{EADP} = \text{BR/BPA} \quad (2)$$

onde EADP é a eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo; BR é a biomassa radicular (g) e BPA é a biomassa da parte aérea (g).

O acúmulo de nutrientes foi calculado pela fórmula 3:

$$Ac = BPA \times CN \quad (3)$$

onde Ac é o acúmulo de nutrientes (g ou mg planta⁻¹); BPA é a biomassa da parte aérea (g) e CN é a concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹).

A absorção de nutrientes por comprimento radicular foi calculada pela fórmula 4, proposta por Rosolem et al. (1994):

$$ANuCR = (BPA \times CN)/CR \quad (4)$$

onde ANuCR é a absorção de nutrientes por comprimento radicular (g ou mg m⁻¹ raiz); BPA é a biomassa da parte aérea (g); CN é a concentração de nutrientes (g ou mg kg⁻¹) e CR é o comprimento radicular (m).

2.2.7 Indicadores microbiológicos do solo

As amostras de solo para as variáveis microbiológicas foram coletadas em uma profundidade de 0–0,10 m logo após a colheita da cana-de-açúcar e armazenadas em freezer a –10 °C até a análise.

A respiração basal do solo (RBS) foi medida pela quantificação do C–CO₂ liberado após a incubação estática de 50 g de solo em vidros herméticos a 25 °C (BOD) (Silva et al. 2007). O C–CO₂ foi analisado aos 3, 7, 14 e 21 dias após a instalação de recipientes contendo 10 mL de solução de NaOH (1 mol L⁻¹), seguido de titulação com HCl após a adição de Ba(OH)₂ para precipitação dos carbonatos. O C–CO₂ liberado foi expresso em µg C–CO₂ g⁻¹ de solo seco acumulado em 21 dias e em µg C–CO₂ g⁻¹ de solo seco por dia.

O carbono (CBM) e o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) foram determinados pelo método de irradiação-extração (Vance et al. 1987; Ferreira et al. 1999). Para o CBM, K₂SO₄ (0,5 mol L⁻¹, pH 6,8) foi utilizado como agente extrator. O carbono orgânico (C) dos extratos foi estimado pela oxidação com K₂Cr₂O₇. A diferença na concentração de C entre amostras irradiadas e não irradiadas dos extratos foi expressa como CBM pela multiplicação de um fator de conversão (K_C) de 0,33 (Ferreira et al. 1999). Os resultados foram expressos em µg C g⁻¹ de solo.

A extração de N foi realizada com 60 mL de K₂SO₄ (0,5 mol L⁻¹, pH 6,8) em agitador com movimento circular horizontal (Quimis Inc., Q225M22, Diadema, SP, Brasil) a 150 rpm por 40 min. Após a decantação, alíquotas de 20 mL foram retiradas

e transferidas para tubos de vidro, seguido da adição de 3 mL de H_2SO_4 concentrado e 1 g de catalisador (mistura de K_2SO_4 , CuSO_4 e selênio em pó na proporção de 1:0,1:0,01). A digestão foi realizada a 160 °C por 2 h, seguido de elevação da temperatura para 350 °C por 1 h. A destilação foi realizada com 20 mL de NaOH (400 g L^{-1}) e o destilado foi coletado em um tubo falcon de 50 mL contendo 10 mL de H_3BO_3 (20 g L^{-1}). Em seguida, foram adicionados 15 mL de verde de bromocresol 0,1% em meio alcoólico (v/v), 6 mL de vermelho de metila 0,1% em meio alcoólico (m/v) e três gotas de hidróxido de sódio (0,1 N), seguido de titulação com H_2SO_4 (0,0025 mol L^{-1}). A diferença na concentração de N entre as amostras irradiadas e não irradiadas dos extratos foi expressa como NBM pela multiplicação de um fator (K_N) de 0,54 (Ferreira et al. 1999). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g N g}^{-1}$ de solo.

A atividade enzimática catalítica (intra e extracelular) foi estimada pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), conforme proposto por Green et al. (2006). A atividade do FDA foi determinada pela adição de 1 g de solo, 5 mL de tampão fosfato de potássio (pH 7,6) e 0,2 mL do substrato (diacetato de fluoresceína) em tubos falcon de 50 mL. As amostras foram incubadas a 30 °C por 1 h. Em seguida, a fluoresceína foi extraída com 25 mL de solução de clorofórmio-metanol (2:1). Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi coletada e centrifugada a 5000×g por 10 min. O produto formado foi a fluoresceína sódica e a quantificação das amostras foi realizada em uma curva padrão. A absorbância foi analisada em espectrofotômetro (ThermoFisher Scientific, BioMate™3, Waltham, MA, EUA) a 490 nm e os resultados foram expressos em $\mu\text{g FDA g}^{-1}$ solo seco h^{-1} .

A enzima desidrogenase (DHA) foi determinada de acordo com a metodologia de Mersi e Schinner (1991). Em um tubo falcon de 50 mL contendo 1 g de solo, foram adicionados 1,5 mL de tampão tris(hidroximetil)-aminometano (1 mol L^{-1} , pH 7,5) e 2 mL de substrato INT (2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil- 5-feniltetrazólio, 4,4 mmol L^{-1}). Em seguida, as amostras foram agitadas e incubadas a 40 °C por 5 h. O produto da atividade enzimática (INTF, iodo-nitrofenilformazan) foi extraído pela adição de 10 mL de solução de etanol-dimetilformamida (1:1) e as amostras foram mantidas no escuro por 20 min. Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi coletada e centrifugada a 5000×g por 10 min. A absorbância foi analisada em espectrofotômetro (ThermoFisher Scientific, Bio-Mate™3, Waltham, MA, EUA) a 490 nm e os resultados foram expressos em $\mu\text{g INTF g}^{-1}$ solo h^{-1} .

A atividade da urease foi determinada de acordo com a metodologia de Kandeler e Gerber (1988). Em um tubo falcon de 50 mL contendo 1 g de solo, foram adicionados 4 mL de tampão citrato (pH 6,7) e 1 mL de solução de ureia a 10% (m/v) como substrato. As amostras foram incubadas a 37 °C por 2 h. Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi coletada e centrifugada a 5000×g por 10 min. O produto formado foi o N-NH₄ liberado, determinado em espectrofotômetro (ThermoFisher Scientific, BioMate™3, Waltham, MA, EUA) a 600 nm pelo kit comercial Urea 500® (Dolles Inc., Goiânia, GO, Brasil). Os resultados foram expressos em µg N-NH₄ g⁻¹ de solo seco h⁻¹.

A atividade extracelular da enzima β-glicosidase foi determinada de acordo com Eivazi e Tabatabai (1988). A β-glicosidase foi medida após a incubação de 1 g de solo com 1 mL do substrato PNFG (*p*-nitrofenil-β-D-glucopiranosídeo, 4,2 mmol L⁻¹) e 4 mL de tampão universal modificado (TUM, pH 6,0) a 37°C por 1 h. Em seguida, foram adicionados 1 mL de CaCl₂ (1 mol L⁻¹) e 4 mL de NaOH (1 mol L⁻¹). Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi coletada e centrifugada a 5.000×g por 10 min. O produto da reação (*p*-nitrofenil-PNF) foi determinado em espectrofotômetro (ThermoFisher Scientific, BioMate™3, Waltham, MA, EUA) a 410 nm. Os resultados foram expressos em µg PNF g⁻¹ solo seco h⁻¹.

A atividade da arilsulfatase foi realizada da mesma forma que a β-glicosidase, substituindo o substrato sintético por *p*-nitrofenilsulfato (0,05 mol L⁻¹) em tampão acetato de sódio (pH 5,8). Os resultados foram expressos em µg PNF g⁻¹ solo seco h⁻¹.

A atividade da fosfatase ácida foi avaliada pela liberação de PNF a partir do substrato sintético *p*-nitrofenil fosfato (2,4 mmol L⁻¹), utilizando o TUM (pH 6,0), conforme descrito por Tabatabai e Bremner (1969). Em um tubo falcon de 50 mL, foram adicionados 1 g de solo, 4 mL de TUM e 1 mL de substrato. As amostras foram incubadas a 37 °C por 1 h. Após, foram adicionados 1 mL de CaCl₂ (1 mol L⁻¹) e 4 mL de NaOH (1 mol L⁻¹), seguido de agitação manual. Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi centrifugada a 5000×g por 10 min. O PNF liberado foi determinado em espectrofotômetro (ThermoFisher Scientific, BioMate™3, Waltham, MA, EUA) a 405 nm. Os resultados foram expressos em µg PNF g⁻¹ solo seco h⁻¹.

2.2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Levene) e, após atenderem os pressupostos, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com o teste F, com posterior comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) por meio do software estatístico AgroEstat (AgroEstat, versão 2015, Jaboticabal, SP, Brasil). Adicionalmente, os dados foram submetidos a ajuste de regressão considerando as doses de MAP associadas a *B. velezensis* (Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP), através do software estatístico Minitab (Minitab®, versão 19, State College, PA, EUA).

Em seguida, as variáveis foram divididas em 10 grupos. O grupo denominado “variáveis radiculares” foi composto pelo CR, VR, DR e BR; o grupo “química do solo” pelos teores de MO, K, Ca, Mg, S, P, Fe, Zn, Mn e Cu; os grupos denominados “teores de nutrientes nas folhas, bainhas, raízes e colmos” foram compostos pelos teores de K, N, Ca, Mg, S, P, Fe, Zn, Mn, B e Cu; o grupo “eficiência do uso de nutrientes” pela EUNu e pela EADP; o grupo “acúmulo de nutriente” pelo acúmulo de K, N, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, B e Cu na parte aérea; o grupo “absorção de nutrientes por comprimento radicular” pela absorção de K, N, Ca, Mg, S, P, Fe, Zn, Mn, B e Cu; e o grupo “indicadores microbiológicos” por RBS, CBM, NBM, FDA, DHA, urease, arilsulfatase, B-glicosidase e fosfatase ácida.

A análise de componentes principais (PCA) (Hair et al. 2009) foi aplicada em cada grupo de variáveis por meio do algoritmo de mínimos quadrados parciais iterativos não lineares (NIPALS). E para cada conjunto de variáveis buscou-se o menor número possível de componentes que explicassem pelo menos 70% da variabilidade total.

Os escores dos 10 grupos de variáveis foram então comparados com os escores de “P acumulado na parte aérea” e plotados em gráficos de dispersão, considerando a média de cada tratamento. A partir dos escores das componentes principais selecionadas de cada grupo de variáveis, foi avaliada a associação de cada componente no acúmulo de P da parte aérea das plantas de cana-de-açúcar por meio do coeficiente de correlação linear de Pearson ($p < 0,01$).

2.3 Resultados

2.3.1 Variáveis radiculares

Os tratamentos sem adubação fosfatada (TA e Bv) resultaram nos melhores desempenhos para as variáveis radiculares (Tabela 2). Com relação ao comprimento radicular (CR), Bv proporcionou incrementos de 5,8%, 26,7% e 38,7% em relação à TA, TC e aos demais tratamentos inoculados com *B. velezensis*, respectivamente. Considerando Bv + doses de MAP (0,89*), houve redução do CR com o aumento das doses de MAP.

O maior VR foi verificado em Bv, representando aumentos de 30,5%, 18,7%, 17,2% e 32,8% em relação à TC, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, respectivamente (Tabela 2). Bv + doses de MAP reduziu o VR, à medida que houve aumento das doses de MAP (0,85*). Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* para o DR, mas Bv+1/3 MAP proporcionou DR 6,7% superior ao verificado na TC (Tabela 2). E não houve ajuste de Bv + doses de MAP para o DR.

Quanto à BR, os maiores valores foram verificados em TA e Bv. Bv proporcionou BR 22,2%, 21,1%, 25,3% e 32,1% superior à verificada na TC, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, respectivamente (Tabela 2). Assim como verificado nas outras variáveis, considerando Bv + doses de MAP, a BR foi reduzida à medida que houve aumento das doses de MAP (0,88*).

2.3.2 Química do solo

Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* e a TC para o teor de MO no solo (Fig. 1A). De modo geral, a TC proporcionou os maiores teores de K (Fig. 1B), S (Fig. 1E) e Zn (Fig. 1H) no solo, representando aumentos médios de 54,2%, 61,5% e 39,9%, respectivamente, em relação aos tratamentos inoculados. Considerando Bv + doses de MAP, não houve ajuste de regressão para os dados de MO, K e Zn. Entretanto, houve redução do teor de S de 0 a 66% da dose de MAP, seguido de aumento tênue com 100% da dose de MAP (0,88*) (Fig. 1E).

Independente da dose de MAP, não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC para os teores de Ca (Fig. 1C). Embora não tenha se diferido de Bv e Bv+3/3 MAP, a TC proporcionou um incremento médio de 14,5% no teor de Mg quando comparada aos tratamentos Bv+1/3 e 2/3 MAP (Fig. 1D). Não houve ajuste dos teores de Ca e Mg para Bv + doses de MAP (Fig. 1C–D).

Tabela 2 Comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), diâmetro médio de raízes (DR) e biomassa radicular (BR) da cana-de-açúcar 180 dias após o plantio, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP)

Tratamentos	Comprimento (m)	Volume (cm ³)	Diâmetro médio (mm)	Biomassa radicular (g)
TA	3.815,31 b	358,10 a	0,354 b	147,86 a
TC	3.187,08 c	276,23 c	0,360 b	127,06 b
Bv	4.038,17 a	360,53 a	0,363 ab	155,33 a
Bv+1/3 MAP	2.845,82 d	303,60 b	0,384 a	128,30 b
Bv+2/3 MAP	2.916,60 d	307,62 b	0,366 ab	126,36 bc
Bv+3/3 MAP	2.970,65 d	271,55 c	0,360 ab	117,54 c
CV (%)	5,02	6,89	4,91	8,12
Regressão	$Y = 0,2806 x^2 - 37,45x + 3.972$ (R ² = 0,89)	$Y = 4,759 \times 10^{-3} x^2 - 1,266x + 355,4$ (R ² = 0,85)	Y = n.s.	$Y = 4,130 \times 10^{-3} x^2 - 0,7529x + 153,7$ (R ² = 0,88)

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As equações de regressão e o R² referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

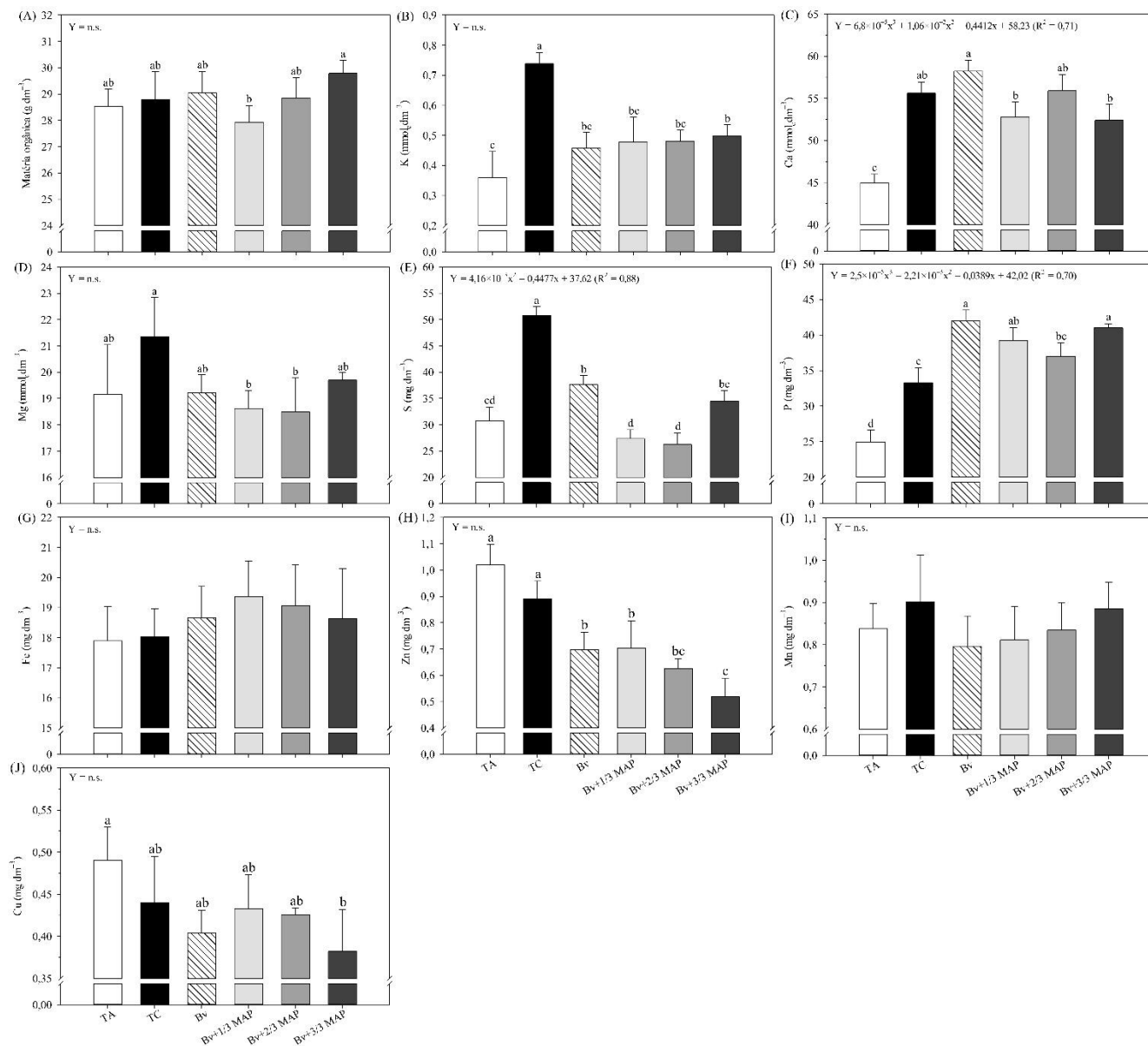


Fig. 1 Teores de matéria orgânica (MO) (A), potássio (K) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I) e cobre (Cu) (J) no solo após 180 dias de cultivo com cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Em relação ao P, os maiores teores foram verificados nos tratamentos inoculados, sendo que Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram aumento médio de 22,0%

no teor de P em relação à TC (Fig. 1F). Considerando Bv + doses de MAP, houve redução do teor de P de 0 a 66% da dose de MAP, seguido de aumento no teor deste nutriente com 100% da dose de MAP (0,70*) (Fig. 1F).

Não houve diferença entre os tratamentos para os teores de Fe (Fig. 1G) e Mn (Fig. 1I). E quanto ao Cu, o maior teor foi verificado na TA, que diferiu apenas de Bv+3/3 MAP, que teve o menor teor de Cu (Fig. 1J). TA proporcionou um aumento de 28,3% no teor de Cu em relação a Bv+3/3 MAP. E não houve ajuste dos teores de Cu para Bv + doses de MAP.

2.3.3 Variáveis nutricionais do tecido vegetal

Em relação aos teores de nutrientes, não foi verificado ajuste de Bv + doses de MAP para nenhum dos macronutrientes nas partições analisadas e, de modo geral, os menores teores de macronutrientes foram observados na TA (Fig. 2).

Não houve diferença entre os tratamentos para o teor de K foliar (Fig. 2A), assim como não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* e a TC para o teor de K nas raízes. Entretanto, Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP proporcionaram aumentos de 10,4%, 11,5% e 12,9%, respectivamente, no teor de K nas bainhas em relação à TC. Vale ressaltar que os teores de K nas bainhas foram superiores aos verificado nas folhas para todos os tratamentos. E Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP incrementaram o teor de K nos colmos em 18,0%, 11,4% e 13,0%, respectivamente, em relação à TC (Fig. 2A).

Não houve diferença entre os tratamentos para o teor de N foliar (Fig. 2B). TC apresentou teor de N nas bainhas, em média, 22,0% superior aos verificados nos tratamentos inoculados com *B. velezensis*. E os maiores teores de N nas raízes e colmos foram verificados em Bv+1/3 MAP, representando aumentos de 30,6% e 30,5%, respectivamente, em relação à TC (Fig. 2B).

Não houve diferença entre os tratamentos para os teores de Ca nas folhas, bainhas e colmos (Fig. 2C). E o teor de Ca nas raízes foi semelhante entre a TC e os tratamentos inoculados (Fig. 2C). Quanto ao Mg, não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC para os teores nas folhas e nos colmos (Fig. 4D). Entretanto, TC apresentou teor de Mg nas bainhas, em média, 13,9% superior aos verificados nos tratamentos inoculados. E o maior teor de Mg nas raízes foi verificado em Bv, que proporcionou aumentos de 21,0%, 12,7% e 17,5%, respectivamente, em relação à TC, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP (Fig. 2D).

Não houve diferença entre os tratamentos para os teores de S nas bainhas e nos colmos e os teores de S foliar foram semelhantes entre os tratamentos inoculados e a TC. Além disso, de modo semelhante ao K, os teores de S nas bainhas foram superiores aos verificados nas folhas em todos os tratamentos (Fig. 2E). Já para as raízes, Bv não diferiu da TC em relação ao teor de S, mas proporcionou um aumento médio de 9,9% quando comparado aos demais tratamentos inoculados (Fig. 2E).

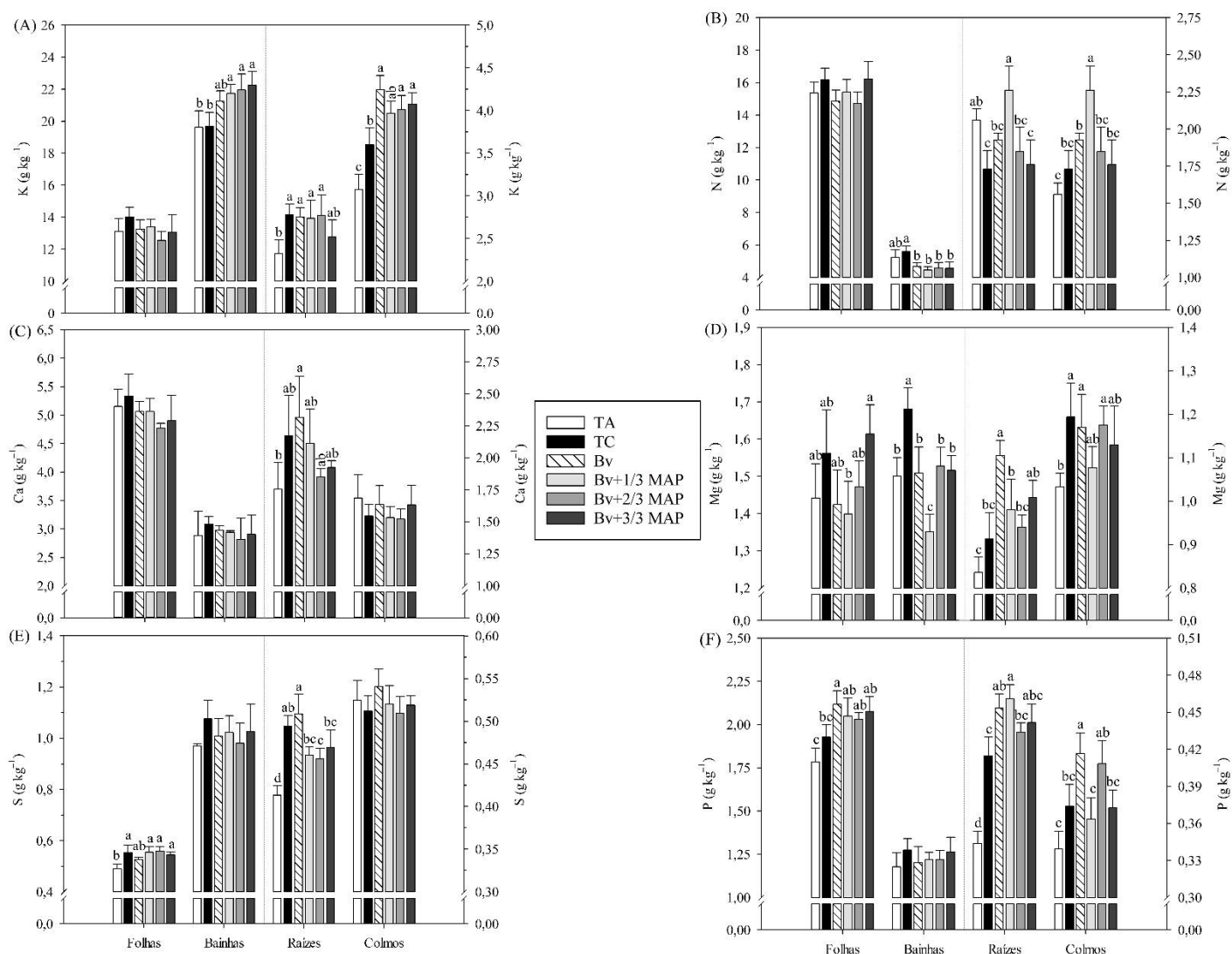


Fig. 2 Teores de potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F) nas folhas, bainhas, raízes e colmos da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Quanto ao P, Bv incrementou o teor foliar em 10,0% em relação à TC, mas não diferiu dos demais tratamentos inoculados (Fig. 2F). Não houve diferença entre os tratamentos para o teor de P nas bainhas. Bv e Bv+1/3 MAP apresentaram teor de P nas raízes, em média, 10,1% superior ao verificado na TC. E Bv proporcionou aumento de 11,5% no teor de P nos colmos em relação à TC (Fig. 2F).

Assim como verificado nos macronutrientes, os menores teores de micronutrientes também foram encontrados na TA (Fig. 3). Bv e Bv+1/3 MAP apresentaram teores de Fe nas folhas e bainhas semelhantes aos verificados na TC. Entretanto, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram aumentos de 15,9% e 33,4% no teor de Fe foliar, respectivamente, em relação à TC, assim como proporcionaram um aumento médio de 15,9% no teor de Fe nas bainhas em relação à TC (Fig. 3A). Quanto às raízes, Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram incremento médio de 9,5% no teor de Fe quando comparados à TC. E Bv+2/3 MAP aumentou teor de Fe nos colmos em 11,5% em relação à TC (Fig. 3A).

Em relação ao Fe, foi verificada resposta diferente dos demais nutrientes, pois os seus teores nas partições da planta decresceram na seguinte ordem: raízes > colmos > folhas ≥ bainhas (Fig. 3A). Isso pode ter ocorrido em função dos altos teores de Fe normalmente encontrados nos Latossolos vermelhos (Santos et al. 2018), contribuindo para a concentração deste nutriente nas raízes. Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento das doses de MAP, houve aumento do teor de Fe foliar (0,86*); enquanto nas bainhas (0,83*) e raízes (0,73*), houve redução do teor de Fe de 0 a 33% da dose de MAP, seguido de aumento nesses teores sob doses maiores (66% e 100% de MAP) (Tabela S1).

Em TC foram verificados teores de Zn foliar 22,8%, 40,0%, 50,1% e 62,9% superiores aos verificados em Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, respectivamente (Fig. 3B). De modo geral, os maiores teores de Zn nas raízes foram verificados nos tratamentos inoculados com *B. velezensis*, sendo que Bv+3/3 MAP apresentou teor de Zn nas raízes 41,6% superior ao verificado na TC. Quanto aos colmos, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP resultaram em teor de Zn, em média, 15,1% superior ao verificado na TC (Fig. 3B).

Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento das doses de MAP, houve redução do teor de Zn nas folhas (0,88*); nas bainhas (0,81*) houve tendência de aumento dos teores com até 66% da dose de MAP, seguido de redução

quando 100% de MAP foi aplicado; e nos colmos (0,70*), houve aumento do teor de Zn, à medida que as doses de MAP aumentaram (Tabela S1).

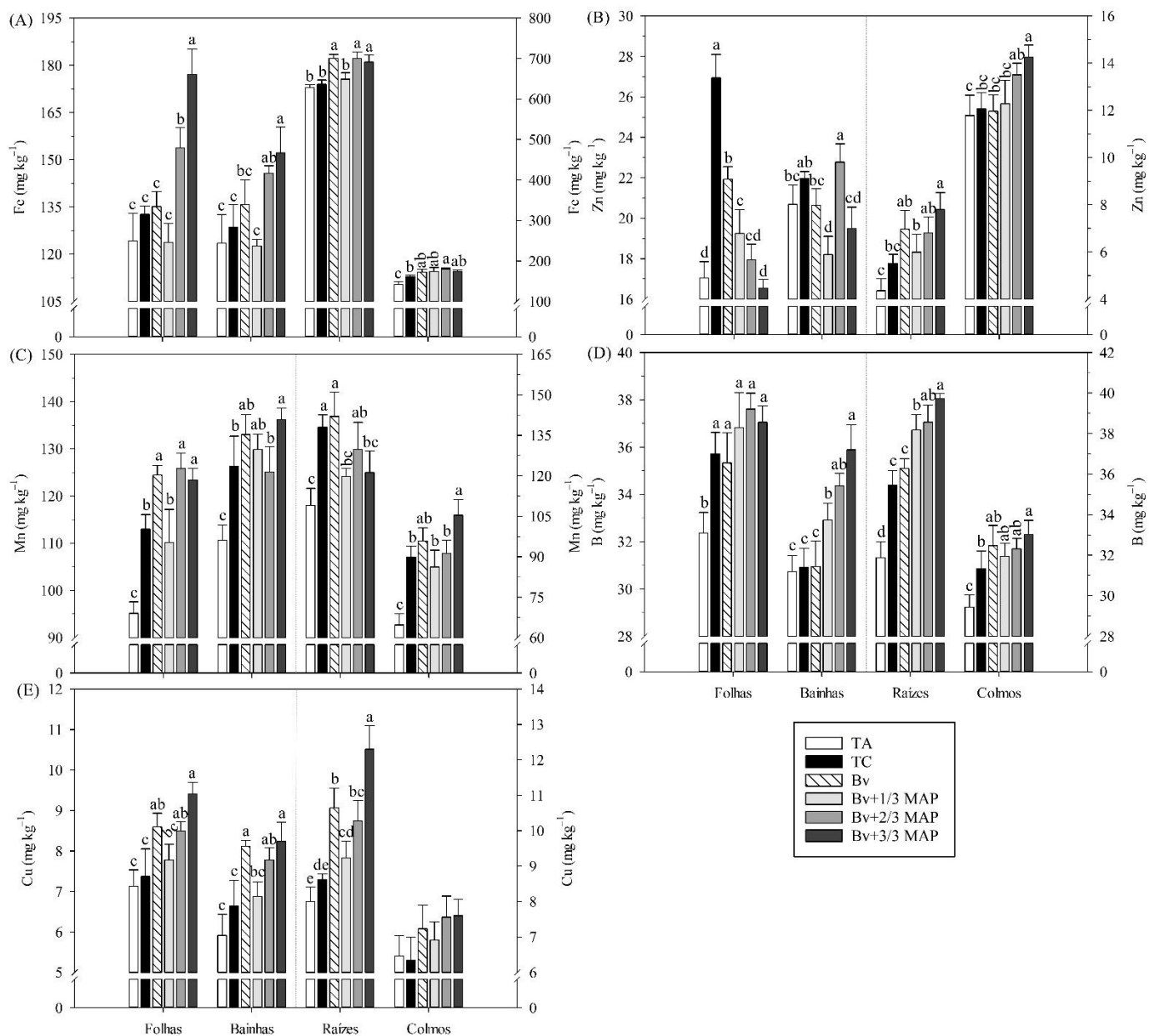


Fig. 3 Teores de ferro (Fe) (A), zinco (Zn) (B), manganês (Mn) (C), boro (B) (D) e cobre (Cu) (E) nas folhas, bainhas, raízes e colmos da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram aumento médio de 10,2% no teor de Mn foliar quando comparados à TC (Fig. 3C). Dentre os tratamentos inoculados com *B. velezensis*, apenas Bv+3/3 MAP diferiu da TC para os teores de Mn nas bainhas e nos colmos, conferindo aumentos de 7,9% e 17,4%, respectivamente (Fig. 3C). TC, Bv e Bv+2/3 MAP resultaram em teores de Mn nas raízes semelhantes entre si, mas, dentre os tratamentos inoculados, Bv teve o maior teor de Mn nas raízes, representando incremento médio de 14,9% em relação aos demais tratamentos inoculados (Fig. 3C).

Considerando Bv + doses de MAP, houve redução do teor de Mn nas folhas (0,75*) e nos colmos (0,70*) de 0 a 33% da dose de MAP, seguido de aumento nesses teores sob doses maiores (66% e 100% de MAP) (Tabela S1).

Não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC para o teor de B foliar (Fig. 3D). Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP proporcionaram aumentos de 6,5%, 11,2%, 16,0%, respectivamente, no teor de B nas bainhas em relação à TC e, os mesmos tratamentos, proporcionaram aumentos de 7,7%, 8,8% e 11,3%, respectivamente, no teor de B nas raízes em relação à TC. Dentre os tratamentos inoculados com *B. velezensis*, apenas Bv+3/3 MAP diferiu da TC para o teor de B nos colmos, causando aumento de 5,4% (Fig. 3D). À medida que *B. velezensis* foi associado a maiores doses de MAP, ocorreu aumento dos teores de B nas bainhas (0,85*) e nas raízes (0,80*) (Tabela S1).

Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram incrementos de 16,7%, 15,2% e 27,7%, respectivamente, no teor de Cu foliar em relação à TC e, os mesmos tratamentos, proporcionaram aumentos de 22,3%, 17,2% e 24,1%, respectivamente, no teor de B nas bainhas em relação à TC (Fig. 3E). De modo semelhante, Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram incrementos de 23,6%, 19,2% e 42,7%, respectivamente, no teor de Cu nas raízes em relação à TC. Entretanto, não houve diferença entre os tratamentos para o teor de B nos colmos (Fig. 3E). Considerando Bv + doses de MAP, houve tendência de redução dos teores de Cu nas raízes entre 0 e 33% da dose de MAP, seguido de aumento nesses teores sob doses maiores (66% e 100% de MAP) (Tabela S1).

Com relação à eficiência do uso de nutrientes (EUNu), não houve diferença entre os tratamentos para a EUK (Fig. 4A), EUS (Fig. 4E) e EUP (Fig. 4F). Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* para a EUN, mas Bv proporcionou aumento de 12,9% na EUN em relação à TC (Fig. 4B). Embora não

tenha sido verificada diferença estatística, os tratamentos inoculados proporcionaram incremento de 7,3% na EUCa quando comparados à TC (Fig. 4C). E quanto à EUMg, Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram aumento médio de 14,5% em relação à TC (Fig. 4D).

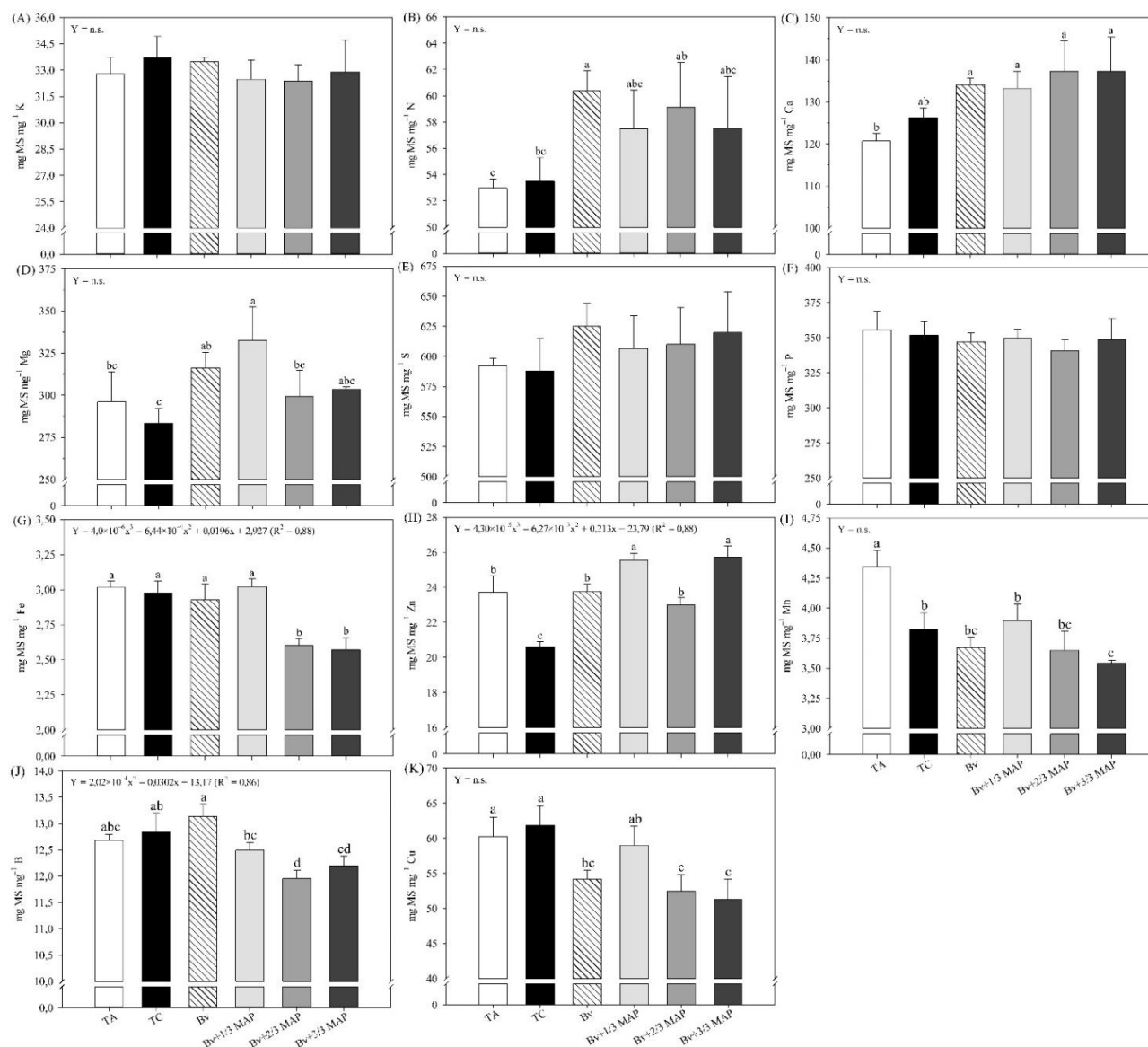


Fig. 4 Eficiência do uso do potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I), boro (B) (J) e cobre (Cu) (K) da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Bv e Bv+1/3 MAP foram equivalentes à TC para a EUPe, sendo que, considerando Bv + doses de MAP (0,88*), à medida que houve aumento das doses de MAP, verificou-se tendência de redução da EUPe (Fig. 4G). Bv e Bv+1/3 MAP apresentaram EUPn, em média, 16,6% superior à verificada na TC (Fig. 4H). Quanto à EUMn e à EUB, Bv e Bv+1/3 MAP apresentaram desempenhos similares à TC (Fig. 4I–J). Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento das doses de MAP, houve tendência de redução da EUB (Fig. 4J). E, quanto à EUCu, a TC não diferiu de Bv+1/3 MAP, mas proporcionou um aumento médio de 17,4% na EUCu em relação a Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP (Fig. 4K).

Quanto à EADP, TA e Bv, que tiveram os melhores desempenhos em relação às variáveis radiculares, proporcionaram aumento médio de 20,2% na EADP em relação aos demais tratamentos (TC e Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP) (Fig. 5).

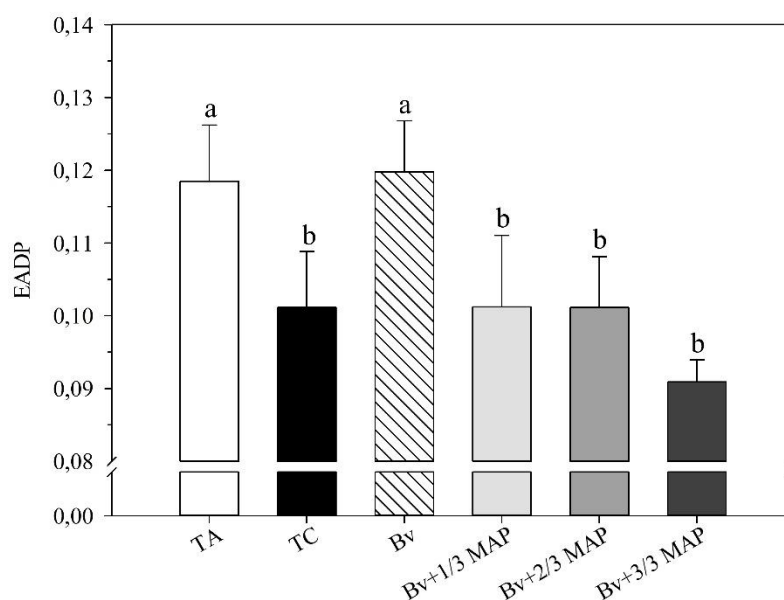


Fig. 5 Eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo (EADP) da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média (n = 4). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Em relação ao acúmulo de nutrientes (AcNu) na parte aérea, de modo geral, a TA resultou o menor desempenho para os macro e micronutrientes avaliados (Fig. 6).

Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram aumento médio de 9,8% no AcK em relação à TC (Fig. 6A). Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* e a TC para o AcN (Fig. 6B), AcCa (Fig. 6C), AcMg (Fig. 6D) e AcS (Fig. 6E).

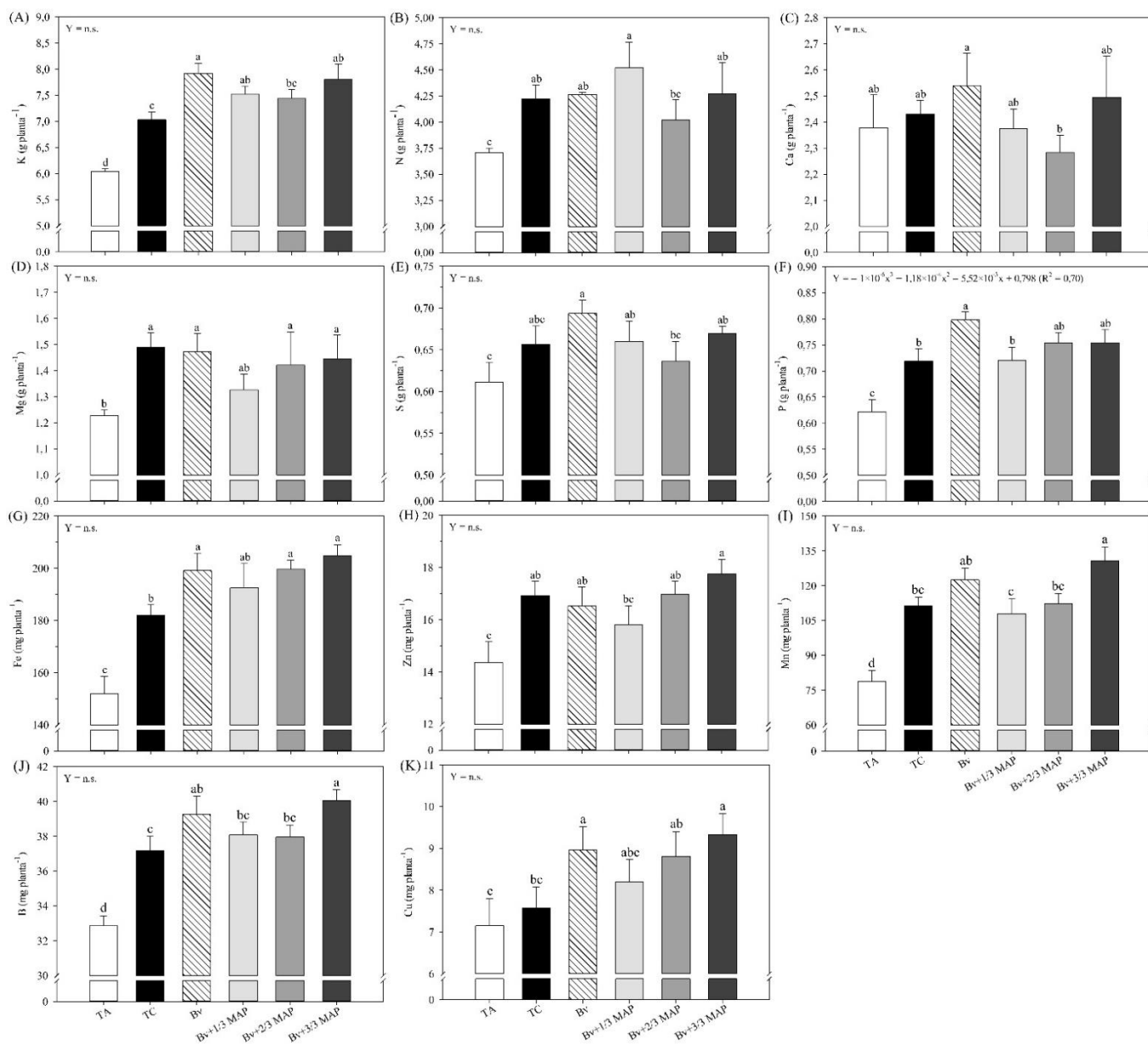


Fig. 6 Acúmulo de potássio (K) (A), nitrogênio (N) (B), cálcio (Ca) (C), magnésio (Mg) (D), enxofre (S) (E), fósforo (P) (F), ferro (Fe) (G), zinco (Zn) (H), manganês (Mn) (I), boro (B) (J) e cobre (Cu) (K) na parte aérea da cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$). As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Embora não tenha sido verificada diferença estatística entre Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP e a TC para o AcP, Bv proporcionou aumentos de 11,0% e 28,5% no AcP em relação à TC e à TA, respectivamente (Fig. 6F). Considerando Bv + doses de MAP, houve redução do AcP de 0 a 33% da dose de MAP, seguido de aumento tênue com 66% e 100% da dose de MAP (0,70*).

Bv, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram incrementos de 9,4%, 9,7% e 12,6% no AcFe, respectivamente, em relação à TC (Fig. 6G). Não houve diferença entre os tratamentos inoculados com *B. velezensis* e a TC para o AcZn (Fig. 6H). Quanto ao AcMn, Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP apresentaram desempenhos semelhantes à TC, mas Bv+3/3 MAP proporcionou um aumento de 17,3% no AcMn em relação à TC (Fig. 6I). Bv e Bv+3/3 MAP proporcionaram incrementos médios de 6,7% e 20,7% no AcB e no AcCu, respectivamente, em relação à TC (Fig. 6J–K), enquanto Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP foram semelhantes à TC para o AcB e o AcCu.

De modo geral, os menores valores para a absorção de nutrientes por comprimento radicular (ANuCR) foram observados nos tratamentos sem adubação fosfatada (TA e Bv), como resultado do maior CR destes tratamentos (Tabela 3). Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP não diferiram entre si para a AKCR, mas proporcionaram aumento médio de 15,8% em relação à TC. Considerando Bv + doses de MAP (0,73*), à medida que houve aumento das doses de MAP, houve aumento da AKCR (Tabela S2).

Os maiores valores para ANCR e ACaCR foram observados em Bv+1/3 MAP, representando incrementos de 6,6% e 8,4%, respectivamente, em relação à TC (Tabela 3). Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento das doses de MAP, houve aumento da ANCR (0,71*); enquanto a ACaCR aumentou até 33% da dose de MAP, seguido de decréscimo sob doses maiores (0,94*) (Tabela S2).

Não houve diferença entre a TC e Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP para a AMgCR e ASCR, mas estes tratamentos proporcionaram incrementos médios de 39,8% e 39,4% na AMgCR e na ASCR, respectivamente, em relação à TA e Bv (Tabela 3). Bv + doses de MAP aumentou a AMgCR com o aumento das doses de MAP (0,90*), enquanto ASCR aumentou até 33% da dose de MAP, seguido de decréscimo sob doses maiores (0,70*) (Tabela S2). Bv+1/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram as maiores APCR, representando um aumento médio de 14,9% em relação à TC (Tabela 3). Bv + doses de MAP aumentou a APCR com o aumento das doses de MAP (0,77*) (Tabela S2).

Tabela 3 Absorção de nutrientes por comprimento radicular da cana-de-açúcar cultivada sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio.

Tratamentos	K	N	Ca	Mg	S	P	Fe	Zn	Mn	B	Cu
	----- g m ⁻¹ raiz -----						----- mg m ⁻¹ raiz -----				
TA	11,05 c	6,83 c	2,99 c	1,22 b	0,612 b	1,05 c	120,03 f	15,27 d	83,50 e	28,53 d	6,02 d
TC	14,72 b	9,28 b	3,93 b	1,75 a	0,845 a	1,41 b	166,56 d	24,06 a	129,76 c	38,65 b	8,05 c
Bv	12,45 c	6,90 c	3,11 c	1,32 b	0,667 b	1,18 c	142,44 e	17,53 c	113,45 d	31,72 c	7,69 c
Bv+1/3 MAP	17,50 a	9,89 a	4,26 a	1,71 a	0,935 a	1,63 a	188,18 c	22,26 ab	146,06 b	45,52 a	9,65 b
Bv+2/3 MAP	16,51 a	9,05 b	3,90 b	1,79 a	0,877 a	1,57 ab	205,48 b	23,25 ab	146,64 b	44,69 a	10,22 b
Bv+3/3 MAP	17,15 a	9,81 a	4,11 ab	1,85 a	0,910 a	1,62 a	219,08 a	21,90 b	158,87 a	46,15 a	11,00 a
CV (%)	7,24	5,96	5,41	6,40	7,43	7,15	5,07	5,90	5,08	4,78	5,48

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial. As equações de regressão e o R² referentes à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP encontram-se nos materiais suplementares (Tabela S2).

Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram as maiores AFeCR, representando incrementos de 13,0%, 23,3% e 31,5%, respectivamente, em relação à TC (Tabela 3). Bv + doses de MAP também aumentou a AFeCR com o aumento das doses de MAP (0,96*) (Tabela S2).

TC proporcionou aumentos de 37,2% e 57,6% na AZnCR em relação a Bv e à TA, respectivamente (Tabela 3). A associação de Bv e doses de MAP aumentou a AZnCR até 66% da dose de MAP, seguido de decréscimo sob 100% de MAP (0,89*).

Bv+1/3 MAP proporcionou aumentos de 12,6% e 19,9% na AMnCR e na ACuCR, respectivamente, em relação à TC (Tabela 3). E para a ABCR, não houve diferença entre Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP, mas estes causaram aumento médio de 17,6% na ABCR quando comparados à TC. Considerando Bv + doses de MAP, à medida que houve aumento das doses de MAP, houve aumento da AMnCR (0,86*), da ABCR (0,88*) e da ACuCR (0,93*) (Tabela S2).

2.3.4 Indicadores microbiológicos do solo

Considerando a RBS acumulada em 21 dias e a RBS por dia, os maiores valores foram verificados nos tratamentos inoculados com *B. velezensis* (Fig. 7A–B). TA foi o único tratamento que não superou a RBS avaliada antes do cultivo (662,39 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ solo seco). Bv e Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram aumentos de 11,4%, 29,9%, 38,1%, respectivamente, em relação à TC. O aumento da RBS acumulada (0,91*) e da RBS por dia (0,88*) foi diretamente proporcional ao aumento das doses de MAP associadas a *B. velezensis*.

Com relação ao CBM, não houve diferença entre os tratamentos inoculados para esta variável e apenas Bv+3/3 MAP se diferiu da TC, representando aumento de 31,5% (Fig. 7C). Apenas Bv+1/3, 2/3 e 3/3 MAP superaram o CBM verificado no solo antes do cultivo (69,92 $\mu\text{g C g}^{-1}$ solo). Não houve ajuste de Bv + doses de MAP para o CBM.

Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP foram semelhantes à TC para o NBM, enquanto Bv+3/3 MAP proporcionou aumento de 20,8% no NBM em relação à TC (Fig. 7D). Com exceção de TA, os demais tratamentos resultaram em NBM superior ao verificado no solo antes do cultivo (9,72 $\mu\text{g N g}^{-1}$ solo). Considerando Bv + doses de MAP (0,71*), à medida que as doses de MAP aumentaram, houve aumento linear do NBM.

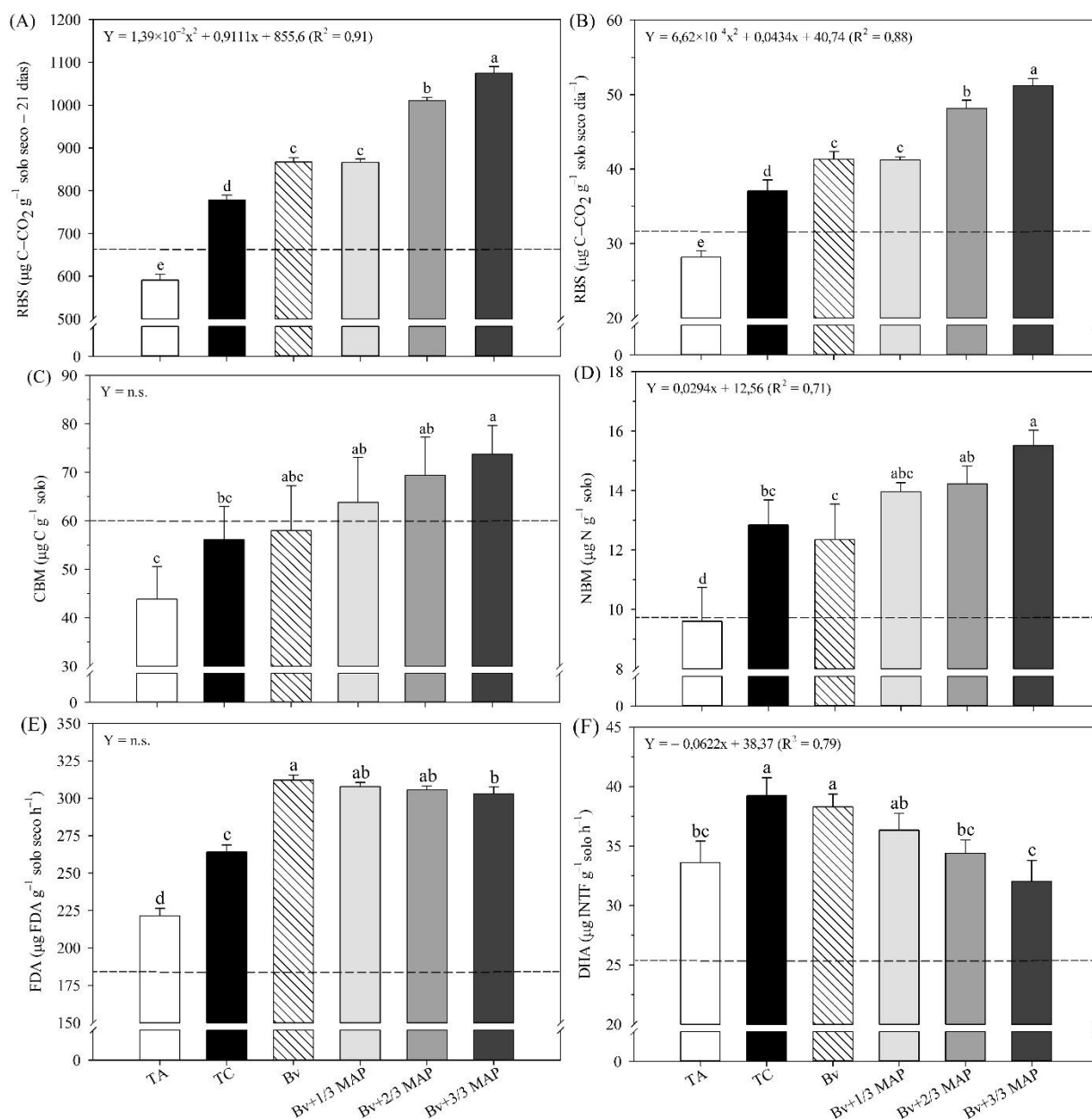


Fig. 7 Respiração basal do solo (RBS) acumulada em 21 dias (A), RBS por dia (B), carbono (CBM) e nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) (C–D), hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) (E) e atividade da desidrogenase (DHA) em solo cultivado com de cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$) e as linhas horizontais tracejadas representam a condição inicial do solo antes do cultivo. As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Em relação ao FDA, os maiores valores foram verificados nos tratamentos inoculados com *B. velezensis*, dentre estes, Bv promoveu o maior FDA, representando aumento de 18,2% em relação à TC (Fig. 7E). Todos os tratamentos superaram o FDA observado no solo inicial ($183,59 \mu\text{g FDA g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$), sendo o maior aumento verificado em Bv (70%). Não houve ajuste de Bv + doses de MAP para o FDA.

De modo contrário ao observado na RBS, doses crescentes de P associadas a *B. velezensis* reduziram a atividade da DHA. Bv e TC proporcionaram as maiores atividades da DHA, representando aumento médio de 15,3% em relação à TA (Fig. 7F). Todos os tratamentos superaram a atividade enzimática verificada no solo inicial ($25,32 \mu\text{g INTF g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$). Considerando Bv + doses de MAP (0,79*), 0% de MAP foi a dose ótima, visto que proporcionou atividade enzimática similar à encontrada na TC (100% de MAP).

As maiores atividades da urease foram verificadas nos tratamentos inoculados com *B. velezensis*, que foram semelhantes entre si e proporcionaram aumentos médios de 10,7% e 32,4% em relação à TC e à TA, respectivamente (Fig. 8A). Todos os tratamentos superaram a atividade da urease verificada no solo inicial ($32,48 \mu\text{g NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$), mas os maiores aumentos foram verificados em Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP (174% e 180,3%, respectivamente). Não houve ajuste de Bv + doses de MAP para os dados da urease.

Bv e Bv+1/3 MAP apresentaram atividades da arilsulfatase semelhantes à verificada na TC, enquanto Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP proporcionaram as maiores atividades enzimáticas, representando aumentos de 37,0% e 24,6%, respectivamente, em relação à TC (Fig. 8B). Com exceção da TA, os demais tratamentos superaram a atividade da arilsulfatase verificada no solo antes do cultivo ($11,99 \mu\text{g PNF g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$), com aumentos médios de 13,2%, 37,7% e 25,3% em Bv e Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP, respectivamente.

À medida que houve aumento das doses de MAP em associação com *B. velezensis*, houve tendência de decréscimo na atividade da B-glicosidase, mas não houve ajuste das doses. Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP promoveram atividade enzimática semelhante à TC (Fig. 8C) e, embora Bv não tenha diferido dos demais tratamentos inoculados, este proporcionou aumento de 13,8% na atividade da B-glicosidade em relação à TC. Todos os tratamentos superaram a atividade enzimática verificada no solo inicial ($14,67 \mu\text{g PNF g}^{-1} \text{ solo seco h}^{-1}$) (Fig. 8C).

As maiores atividades de fosfatase ácida (FA) foram observadas nos tratamentos inoculados (Fig. 8D). Bv e Bv+1/3 MAP proporcionaram aumentos de 10% e 8,6%, respectivamente, na atividade da FA em relação à TC. Considerando Bv + doses de MAP (0,88*), houve tendência de redução linear da atividade enzimática, à medida que as doses de MAP aumentaram. E todos os tratamentos superaram a atividade da FA verificada no solo inicial (74,66 $\mu\text{g PNF g}^{-1}$ solo seco h^{-1}) (Fig. 8D).

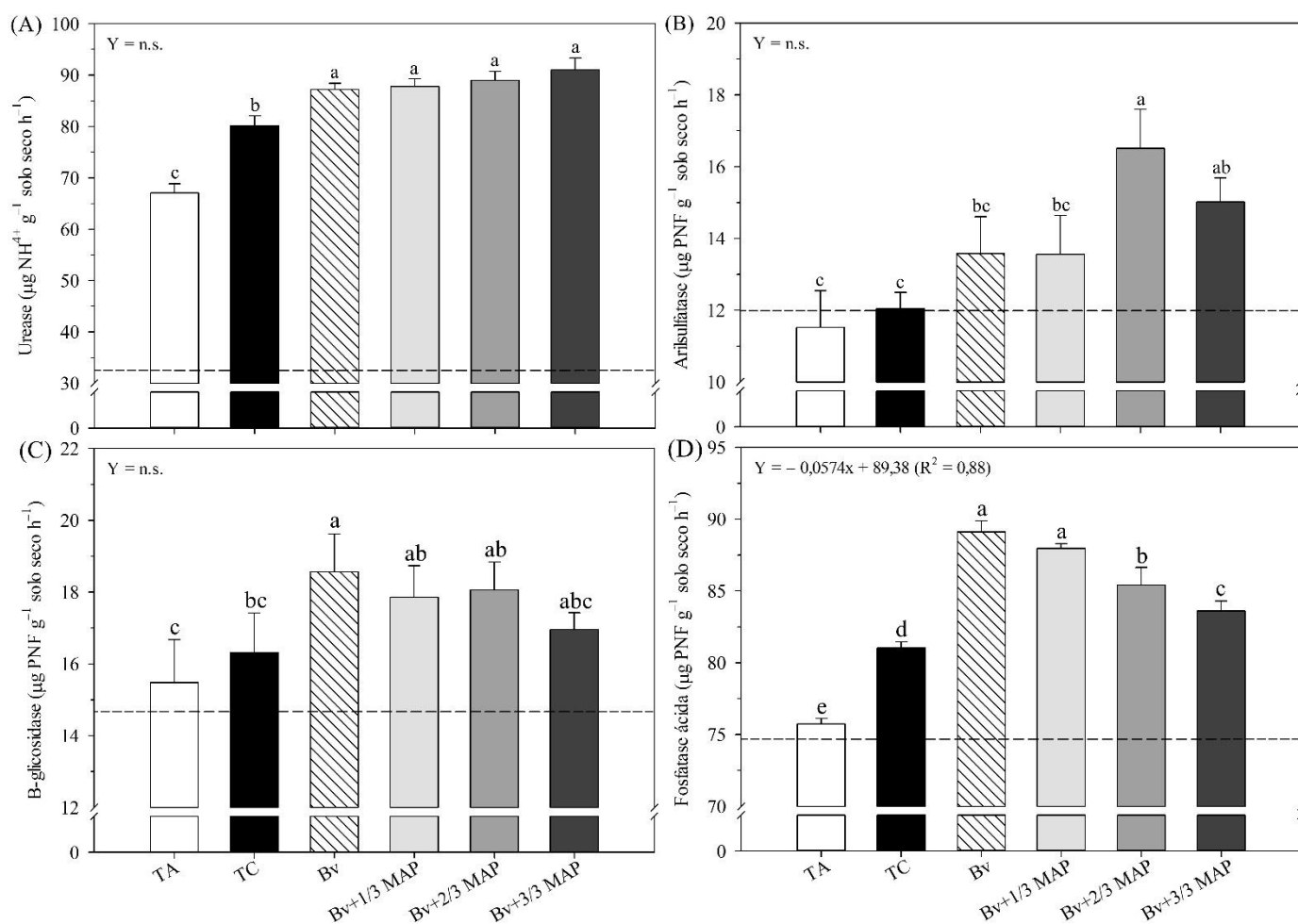


Fig. 8 Atividade das enzimas urease (A), arilsulfatase (B), B-glicosidase (C) e fosfatase ácida (D) em solo cultivado com de cana-de-açúcar, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), 180 dias após o plantio.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As barras de erro expressam o desvio padrão da média ($n = 4$) e as linhas horizontais tracejadas representam a condição inicial do solo antes do cultivo. As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

2.3.5 Análise das componentes principais

A partir da matriz de correlação entre os pares de cada grupo de variáveis (radiculares; química do solo; teores de nutrientes nas folhas, bainhas, raízes e colmos; eficiência do uso de nutrientes; acúmulo de nutrientes; absorção de nutrientes por comprimento radicular e indicadores microbiológicos), foram obtidos os autovalores e seus respectivos autovetores para a análise das componentes principais.

Com exceção do grupo química do solo, a primeira componente principal explicou 70% da variância para os demais grupos de variáveis (Tabela 4) e, nestes casos, apenas a primeira componente foi considerada para explicar os resultados.

Tabela 4 Porcentagem de explicação das componentes do grupo de variáveis radiculares, química do solo, teor de nutrientes nas folhas, bainhas, raízes e colmos, eficiência do uso de nutrientes, acúmulo de nutrientes, absorção de nutrientes por comprimento radicular e indicadores microbiológicos.

Grupos de variáveis	Componente principal 1	Componente principal 2
	Porcentagem de explicação (%)	
Variáveis radiculares	98,18	
Química do solo	56,88	36,64
Teor de nutrientes nas folhas	84,53	
Teor de nutrientes nas bainhas	75,31	
Teor de nutrientes nas raízes	88,53	
Teor de nutrientes nos colmos	83,32	
Eficiência do uso de nutrientes	70,27	
Acúmulo de nutrientes	92,81	
Abs. de nutrientes por comprimento radicular	97,90	
Indicadores microbiológicos	98,50	

Dentre todas as variáveis analisadas, os teores de S, P e Ca no solo, teor de Fe nas folhas, bainhas, raízes e colmos, volume radicular (VR), eficiência do uso do S, acúmulo de Fe, absorção de Fe por comprimento radicular e respiração basal do solo (RBS) são as características que mais explicam as respectivas componentes (Figs. 9 e 10), com cargas de 0,97, 0,85, 0,51, -0,91, 0,88, 0,98, 0,73, 0,94, 0,87, 0,74, 0,80 e 0,98, respectivamente.

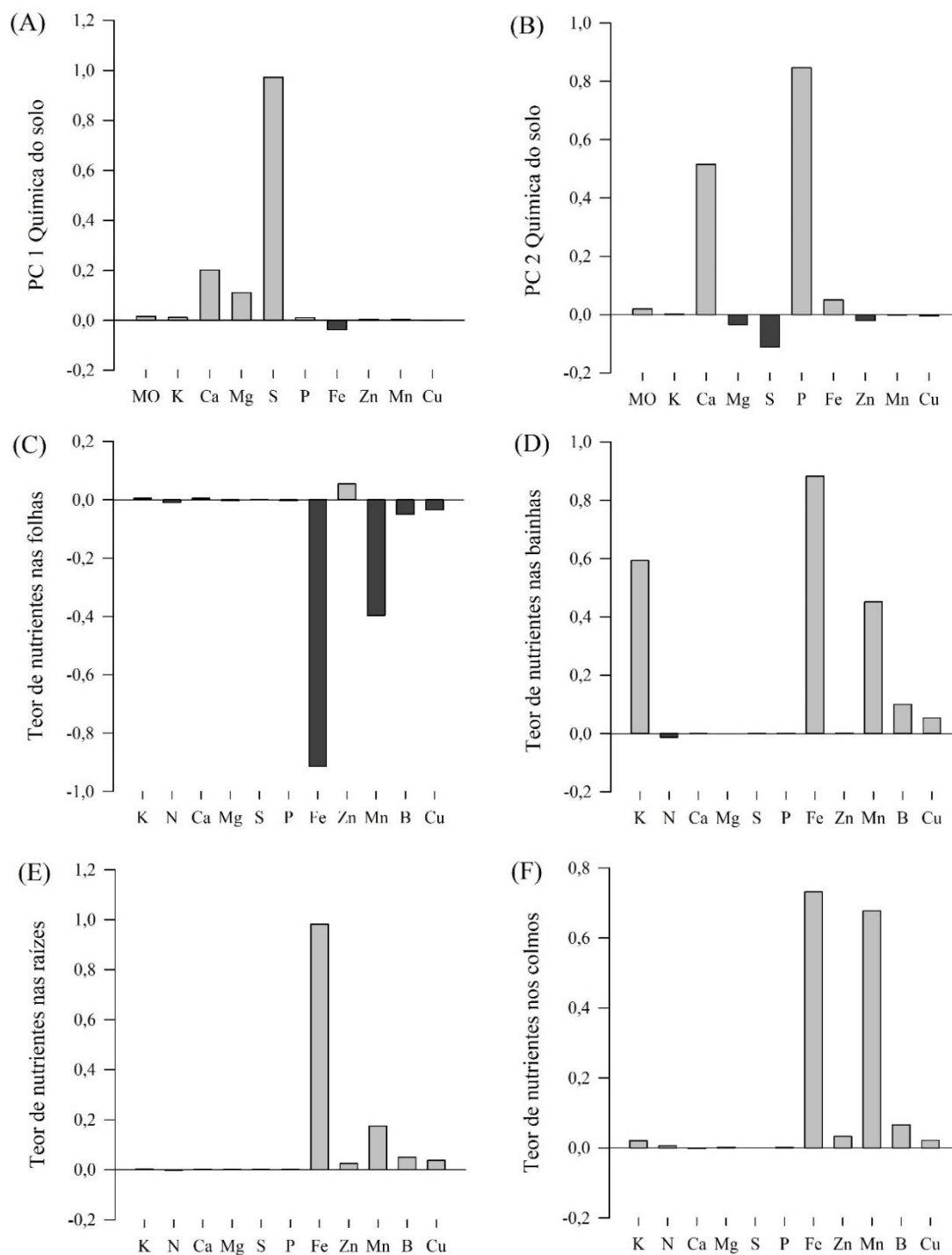


Fig. 9 Cargas de variáveis das componentes de química do solo PC1 (A), química do solo PC2 (B), teores de nutrientes nas folhas (C), bainhas (D), raízes (E) e colmos (F). A cor cinza claro indica variável de carga positiva; e a cor cinza escuro indica variável de carga negativa.

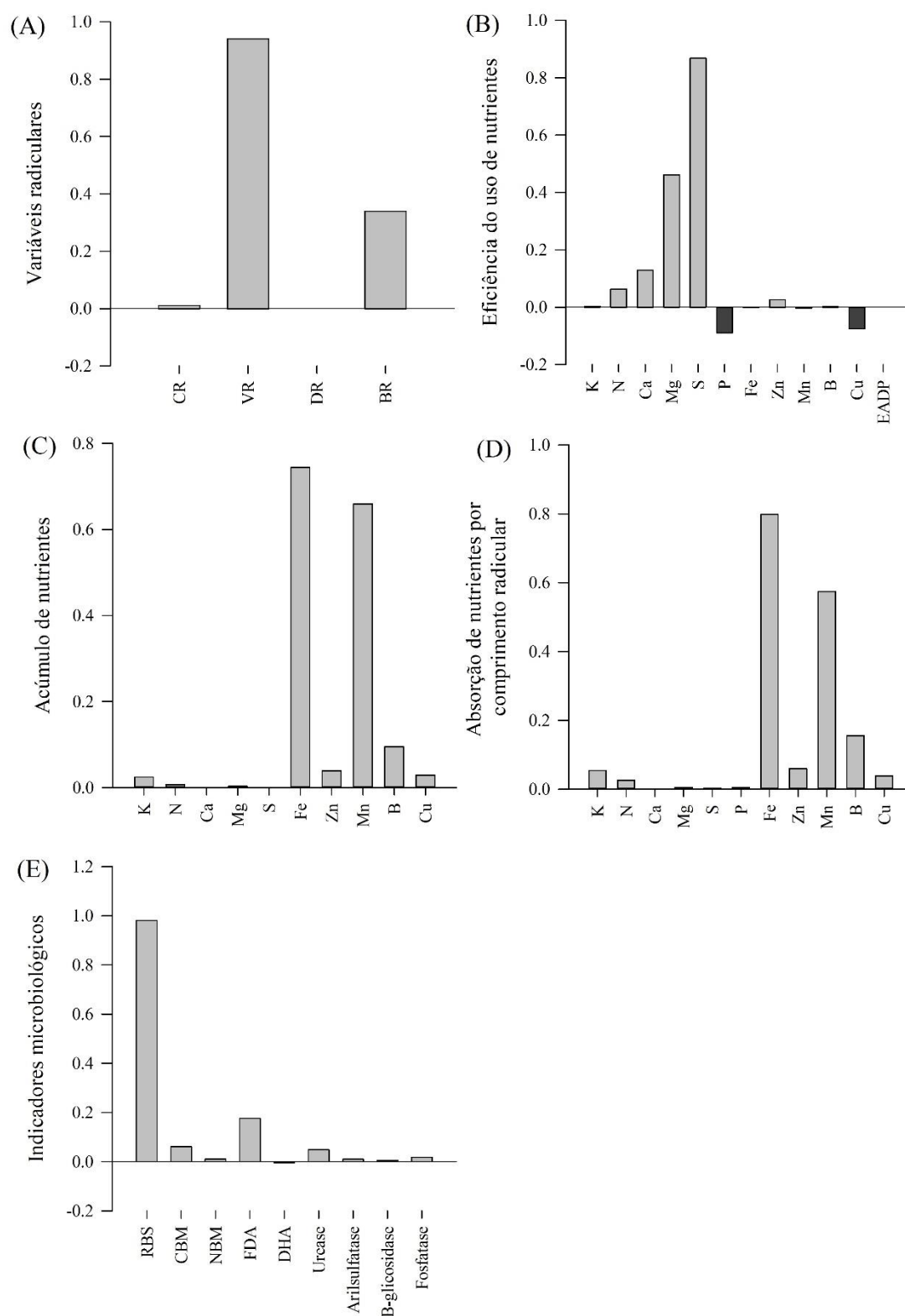


Fig. 10 Cargas de variáveis das componentes de variáveis radiculares (A), eficiência do uso de nutrientes (B), acúmulo de nutrientes (C), absorção de nutrientes por comprimento radicular (D) e indicadores microbiológicos (E).

A cor cinza claro indica variável de carga positiva; e a cor cinza escuro indica variável de carga negativa.

Através da dispersão bidimensional dos tratamentos, foi observado que houve diferença entre os tratamentos inoculados (Bv, Bv+1/3 MAP, Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP) e não inoculados (TA e TC) para a maioria dos grupos de variáveis, assim como as doses de MAP influenciaram o comportamento dos tratamentos inoculados em todos os grupos analisados. Plantas inoculadas com *B. velezensis* sem associação da adubação fosfatada apresentaram acúmulo de fósforo superior às aquelas sem inoculação ou inoculadas em associação com 1/3 da dose recomendada de MAP (Figs. 11 e 12). Bv teve comportamento semelhante a Bv+2/3 MAP e Bv+3/3 MAP na maioria dos grupos de variáveis.

O maior acúmulo de P na parte aérea em Bv ($0,80 \text{ g planta}^{-1}$) foi associado ao maior teor de S no solo na componente principal 1 (Fig. 9A), maior teor de P e Ca no solo na componente principal 2 (Fig. 9B), menor teor de Fe e Mn nas folhas (Fig. 9C), maior teor de Fe, K e Mn nas bainhas (Fig. 9D), maior teor de Fe nas raízes (Fig. 9E) e maior teor de Fe e Mn nos colmos (Fig. 9F). O maior volume radicular (VR) (Fig. 10A), maiores eficiência do uso do S e do Mg (Fig. 10B), maior acúmulo de Fe e Mn na parte aérea (Fig. 10C), menor absorção de Fe e Mn por comprimento radicular (Fig. 10D) e maior respiração basal do solo e atividade da FDA (Fig. 10E) também contribuíram para o maior acúmulo de P.

Com base na análise de correlação de Pearson (Figura 13), observou-se que as variáveis química do solo PC2 (0,89), teor de nutrientes nas folhas (-0,55), bainhas (0,63), raízes (0,74) e colmos (0,84), eficiência do uso de nutrientes (0,58), acúmulo de nutrientes (0,87), absorção de nutrientes por comprimento radicular (0,50) e indicadores microbiológicos (0,74) tiveram correlação significativa ($p \leq 0,01$ ou $p \leq 0,05$) com o acúmulo de P na parte aérea, enquanto não foi constatada correlação entre variáveis radiculares e acúmulo deste nutriente.

Independente do tratamento, com exceção da componente principal 1 da química do solo e das variáveis radiculares, o acúmulo de P na parte aérea teve correlação significativa com todos os outros conjuntos de variáveis (Fig. 13). De modo geral, quanto maior o teor de P e Ca no solo, melhor a resposta da cana ao acúmulo de P na parte aérea, além disso, maiores teores de Fe e Mn nas bainhas, raízes e colmos e menores teores de Fe e Mn nas folhas também contribuíram para o acúmulo deste nutriente (Figs. 9 e 13). Os maiores teores de P e Ca no solo também contribuem para maiores eficiências do uso de S e Mg, aumentando a absorção de Fe e Mn e, consequentemente, favorecendo o acúmulo de P (Figs. 9, 10 e 13).

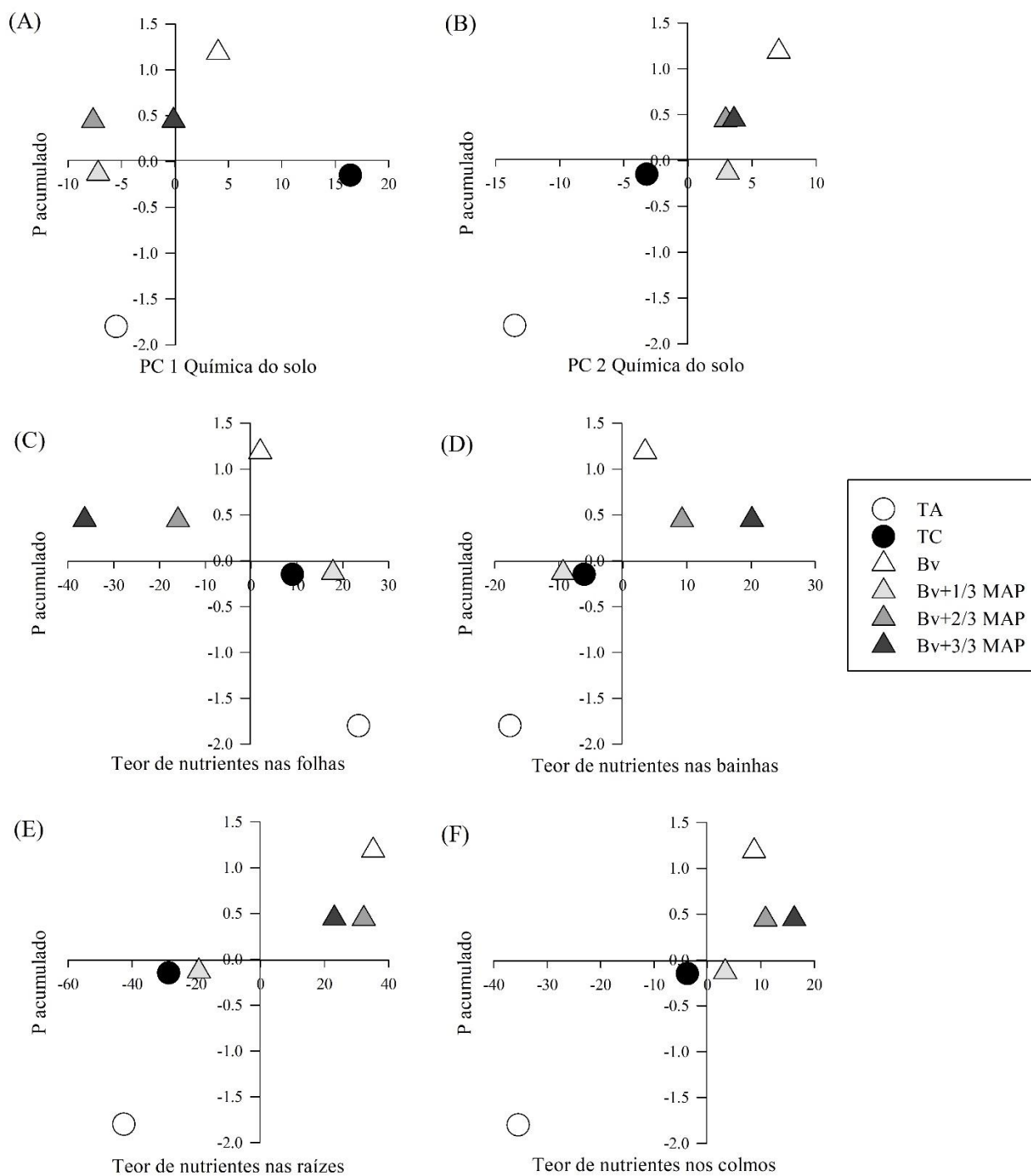


Fig. 11 Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de química do solo PC1 (A), química do solo PC2 (B), teores de nutrientes nas folhas (C), bainhas (D), raízes (E) e colmos (F).

TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial; Bv: *B. velezensis* UFV 3918; MAP: fosfato monoamônico; Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP.

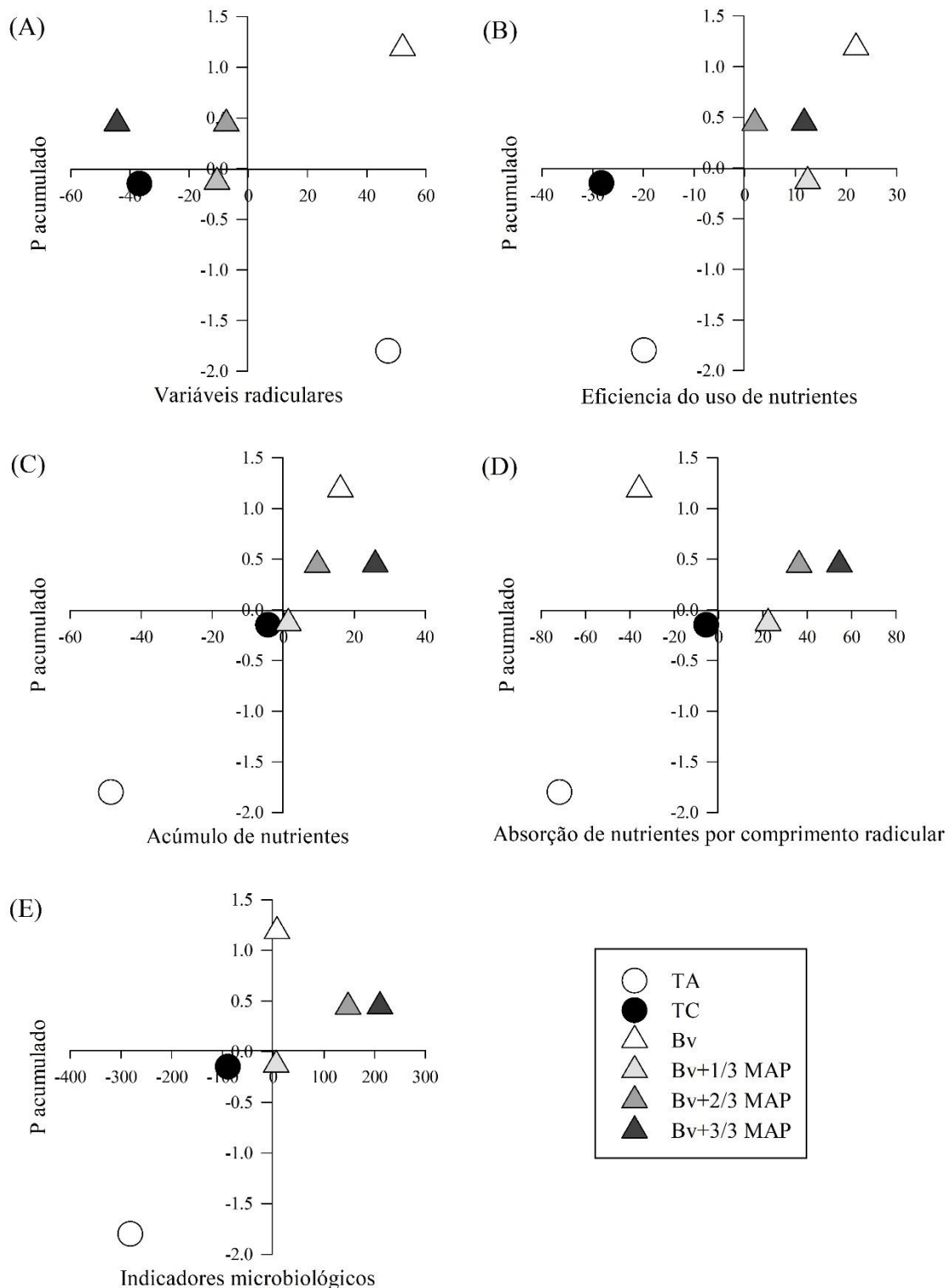


Fig. 12 Dispersão de observações na primeira componente das componentes principais de variáveis radiculares (A), eficiência do uso de nutrientes (B), acúmulo de nutrientes (C), absorção de nutrientes por comprimento radicular (D) e indicadores microbiológicos (E).

TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial; Bv: *B. velezensis* UFV 3918; MAP: fosfato monoamônico; Bv+1/3 MAP; Bv+2/3 MAP; Bv+3/3 MAP.

Houve correlação significativa entre as variáveis radiculares e os teores de nutrientes nas folhas, bainhas e colmos, absorção de nutrientes por comprimento radicular e indicadores microbiológicos (Fig. 13). Houve correlação significativa entre as variáveis eficiência do uso de nutrientes, química do solo PC2, teor de nutrientes nos colmos, acúmulo de nutrientes e indicadores microbiológicos. E, com exceção do grupo química do solo, os indicadores microbiológicos tiveram correlação significativa com todos os outros grupos de variáveis (Fig. 13).

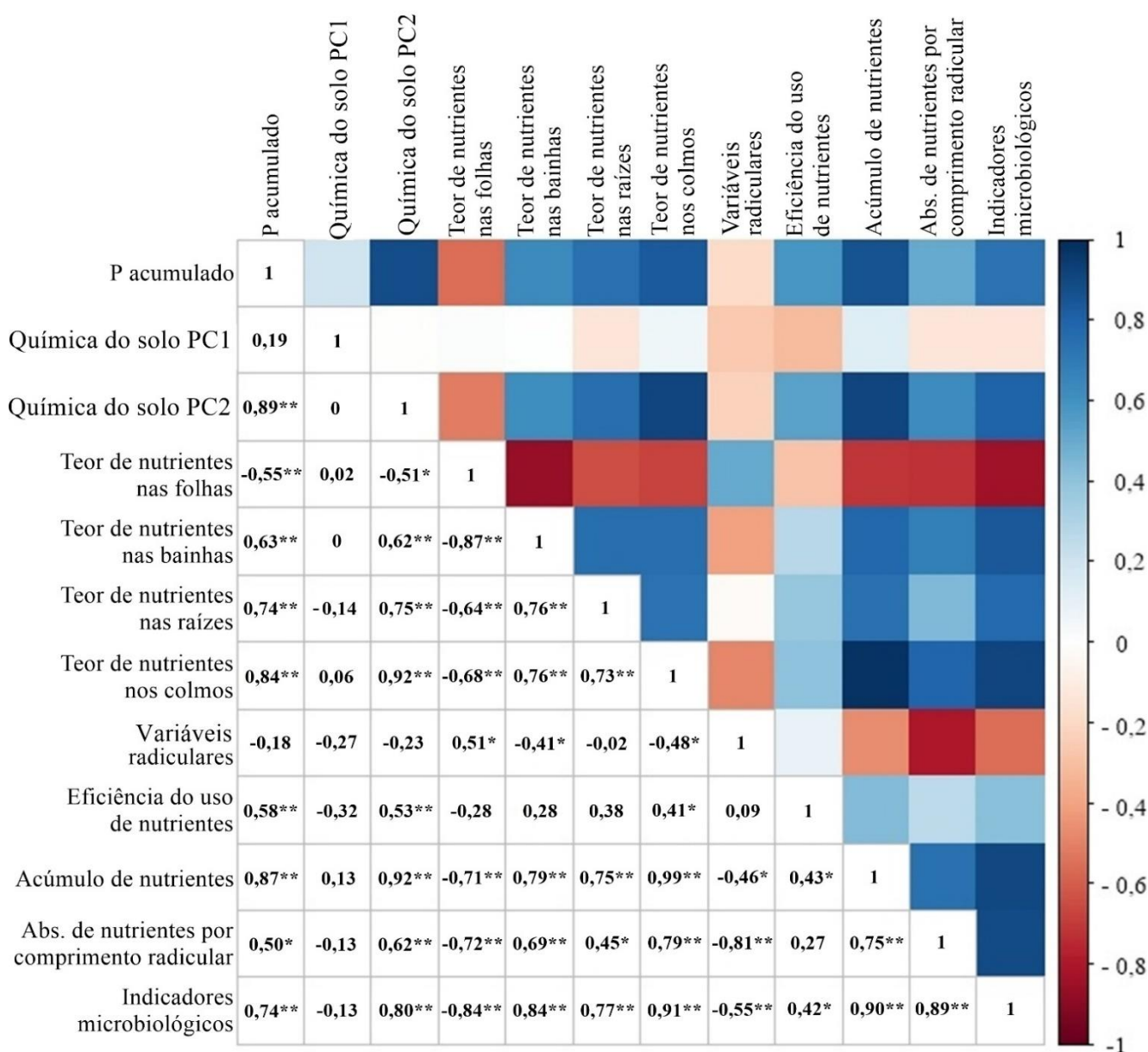


Fig. 13 Correlação de Pearson entre os primeiros componentes principais de cada grupo de variáveis. ** e * indicam correlação significativa em $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$, respectivamente.

2.4. Discussão

A crescente demanda por alimentos exige o uso mais intensivo, porém sustentável, do fosfato, que é um recurso finito (Tonini et al. 2019). O P fixado que vem sendo acumulado através da adição indiscriminada de fertilizantes fosfatados pode ser explorado e utilizado pela inoculação de bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP) (Zhu et al. 2018). Neste trabalho, estudamos a inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 como estratégia para reduzir a adubação fosfatada em cana-de-açúcar, e o efeito desta bactéria nas variáveis radiculares e nutricionais do solo, e da parte aérea da planta.

***B. velezensis* altera a arquitetura radicular em solo rico em P**

Em associação com as raízes, os microrganismos da rizosfera podem modular o sistema radicular por meio de diferentes mecanismos, estimulando a capacidade de absorção da raiz e facilitando a absorção de nutrientes em condições limitantes (Hussain et al. 2019; Emami et al. 2019). A inoculação de BSP no solo pode estimular a produção de enzimas hidrolisantes de P e de fitohormônios (Batool e Iqbal 2019; Suleman et al. 2018). Estudos recentes, com plantas de milho e trigo, reportaram que várias cepas de BSP produzem ácido indol-3-acético, estimulando o crescimento e modificando a arquitetura radicular para favorecer a aquisição de P (Li et al. 2017; Suleman et al. 2018; Emami et al. 2019; Hashem et al. 2019). Estes fatores podem ter contribuído para os incrementos no comprimento (CR), volume (VR) e biomassa radicular (BR) proporcionados pela inoculação com *B. velezensis*.

Entretanto, a fertilização fosfatada pode favorecer algumas famílias bacterianas em detrimento de outras (Grafe et al. 2018), além de regular os genes bacterianos que codificam as enzimas envolvidas no ciclo do P, alterando substancialmente a eficiência da renovação deste nutriente (Grafe et al. 2018; Wang et al. 2019a).

Há relatos de aumentos na frequência da atividade de solubilização de P em solos não fertilizados em comparação com solos fertilizados com P, mostrando que BSP podem ser competidores fracos sob altos teores de P e N, o que é confirmado pelo maior investimento na aquisição de nutrientes em solos com baixos teores de P (Mander et al. 2012; Widdig et al. 2019; Dai et al. 2020). Além disso, o aumento do suprimento de P em solos de arroz diminuiu a atividade de BSP do gênero *Bacillus* (Long et al. 2018). Os maiores valores de CR, VR e BR foram observados em *B.*

velezensis isolado (Bv) ou associado a menores doses de MAP (Bv+1/3 MAP), ao passo que decréscimos nestas variáveis foram observados com maiores doses de MAP, o que é explicado pelo *feedback* negativo entre a maior disponibilidade de P e a atividade de *Bacillus*.

Os sistemas radiculares rasos são formados pela diminuição do crescimento da raiz primária e pela indução da formação e alongamento da raiz lateral no solo superficial, conferindo uma vantagem em ter raízes mais próximas às fontes de P no solo, com evidências de que BSP podem impactar o desenvolvimento de tais estruturas radiculares (Wang et al. 2015; Lynch 2019). Isso pode explicar o VR ter sido a variável mais importante para o acúmulo de P, com aumentos de até 30,5% no VR das plantas inoculadas em relação à TC (3/3 MAP). Nossos resultados corroboram com Santos et al. (2019) e Safirzadeh et al. (2019), que relataram mudanças na arquitetura da raiz da cana-de-açúcar por diversos isolados de BSP produtores de auxina, com incrementos em BR, VR, CR, área superficial da raiz e absorção de nutrientes. Araujo et al. (2021) também relataram aumento do CR e VR em plantas de soja com a inoculação de *B. subtilis*.

Hipotetiza-se que a TA tenha apresentado variáveis radiculares semelhantes a Bv devido à deficiência de P, entretanto, as vantagens proporcionadas pela inoculação na nutrição da cana-de-açúcar não foram observadas na TA.

Teor de S, P e Ca do solo no acúmulo de P da parte aérea

Com relação à química do solo, a componente principal 1 demonstrou que o aumento de S proporcionaria aumento do acúmulo de P na parte aérea, mas embora haja uma relação entre P e S, este não foi suficiente para explicar os resultados. A componente principal 2 demonstrou que o aumento de P e Ca e a redução dos teores de S no solo são responsáveis pelo aumento no acúmulo do P nos tratamentos inoculados, além disso, essa componente apresentou correlação positiva com o P acumulado.

P e Ca são nutrientes essenciais para a proliferação abundante das raízes (Rane et al. 2015). O P desempenha papel fundamental no desenvolvimento radicular, nas modificações da anatomia das raízes e na densidade dos pelos radiculares, com contribuição significativa no aumento do rendimento da cana-de-açúcar (Kingston 2014; Elhaisoufi et al. 2020). E um dos sintomas de deficiência de Ca é o reduzido crescimento radicular (Kingston 2014). A inoculação com *B. velezensis* aumentou a disponibilidade de P no solo que, juntamente com o Ca, promoveu o estímulo ao

crescimento radicular em Bv, favorecendo a aquisição de P pelas raízes e, consequentemente, o acúmulo de P na planta.

Por outro lado, a utilização de adubos concentrados e com elevados teores de P, como o MAP, pode levar à deficiência de S, e a interação do P com o S afeta de maneira recíproca os níveis críticos destes elementos no solo (Alvarez et al. 2007). Isso explica porque a inoculação da BSP reduziu o teor de S no solo em relação à TC.

Aumento da disponibilidade de nutrientes

A inoculação com *B. velezensis* promoveu aumento nos teores de P nas folhas, colmos e raízes, bem como aumentou a absorção deste nutriente por CR e seu acúmulo na parte área da cana-de-açúcar quando comparada à TC. Isso demonstra a capacidade de solubilização de fosfato da cepa UFV 3918.

A liberação de ácidos orgânicos na rizosfera é um dos principais mecanismos responsáveis pela solubilização de fosfato (Lin et al. 2006; Glick 2012; Rfaki et al. 2020), entretanto, o pH da solução do solo não se alterou após a inoculação e apresentou média de 6,4 (dados não mostrados), o que demonstra que a solubilização de fosfatos inorgânicos nem sempre está associada à redução do pH (Marra et al. 2011) e que o aumento da disponibilidade de P pode ter ocorrido em função da mineralização do P orgânico, verificada pelo aumento da atividade da fosfatase ácida nos tratamentos inoculados, enzima que catalisa a hidrólise de ligações fosfoéster ou fosfoanidro. E a maior eficiência de adaptação à disponibilidade de fósforo (EADP) verificada em TA e Bv ocorreu devido à melhoria na arquitetura do sistema radicular em função do estresse pela baixa disponibilidade de P (Soumya et al. 2021) e do estímulo ao crescimento do sistema radicular pelas bactérias (Hussain et al. 2019; Emami et al. 2019), respectivamente, que favoreceram a aquisição deste nutriente.

De modo geral, a cepa UFV 3918 afetou de modo mais significativo os teores de micronutrientes em relação aos teores de macronutrientes, promovendo aumentos nos teores de Fe, Mn e Cu nas folhas; nos teores de K, Fe, Mn, B e Cu nas bainhas; nos teores de K, N, Fe, Mn e B nos colmos e nos teores de N, Fe, B e Cu nas raízes das plantas em relação às plantas não inoculadas.

A promoção do crescimento radicular e as mudanças na morfologia e arquitetura radicular proporcionadas pelas bactérias são associadas ao aumento da capacidade de absorção de nutrientes por aumentar a superfície de contato, facilitando a absorção de nutrientes (Prieto et al. 2017; Hussain et al. 2019; Emami et

al. 2019). Além disso, as bactérias também podem estimular os sistemas de captação e transporte de íons através de mecanismos ainda não claramente definidos (Mantelin e Touraine 2004; Okumura et al. 2013; Santi et al. 2013). Nossos resultados corroboram com estes estudos, pois, embora tenha sido observada redução dos teores de K, Mn e Cu no solo com a inoculação de *B. velezensis* UFV 3918, houve aumentos na absorção de K, N, Fe, Mn, B e Cu pelas raízes em relação aos tratamentos não inoculados.

Alguns autores já relataram aumentos nos teores ou no acúmulo e na absorção de macronutrientes (N, P, K, Ca e Mg) pela inoculação de bactérias em arroz (Costa et al. 2015), cana-de-açúcar (Cipriano et al. 2021) e feijão (Hassan et al. 2017; Bamagoos et al. 2021). Da mesma forma, há relatos de que a inoculação de bactérias proporcionou aumentos nos teores de micronutrientes, principalmente Fe, Mn, Zn e Cu, em cana-de-açúcar (Labanca et al. 2020), feijão (Bamagoos et al. 2021), milho (Goteti et al. 2013), tomate (Liu et al. 2020) e trigo (Rana et al. 2012).

O P e o Zn apresentam interações antagônicas no solo e no interior da planta. Ao nível de gene, altos níveis de P regulam negativamente o transportador de Zn, afetando a mobilização do Zn (Huang et al. 2000). Desse modo, em condições de elevado suprimento de P, pode ocorrer redução da absorção de Zn pelas raízes e da translocação de Zn das raízes para a parte aérea, além do P ter a capacidade de induzir a imobilização de Zn das raízes pela formação de fitatos de Zn, o que leva à redução da concentração de Zn na parte aérea (Loneragan 1993; Araújo e Machado 2006; Ova et al. 2015; Zhang et al. 2016, 2017). Como as BSP aumentam a disponibilidade e absorção de P, pode ocorrer redução da absorção e disponibilidade de Zn (Bagyako et al. 2000; Khosravi et al. 2018), o explica a redução do teor de Zn no solo e nas folhas dos tratamentos inoculados.

A inoculação de *B. velezensis* aumentou a disponibilidade de P, assim, embora tenha sido observado incremento no teor de Zn nas raízes das plantas inoculadas, houve redução na absorção deste nutriente e, conseqüentemente, os teores de Zn nas folhas e bainhas foram reduzidos. Além disso, a redução do teor de Zn foliar foi diretamente proporcional ao aumento das doses de MAP.

Embora a inoculação tenha reduzido os teores de S no solo e nas raízes, em relação à TC, não houve diferença entre os tratamentos inoculados e a TC para o teor de S nas folhas, bainhas e colmos. Há interação antagônica entre o S e o P, pois o aumento da disponibilidade de P pode reduzir a disponibilidade de S (Alvarez et al.

2007). A solubilização de P promovida pela cepa UFV 3918 e o uso de fosfato monoamônico, que é uma fonte altamente solúvel, contribuíram para a redução do teor de S no solo e raízes.

Além disso, as plantas inoculadas apresentaram acúmulos de K, Fe, B e Cu na parte aérea superiores aos verificados nas plantas não inoculadas. Estes são nutrientes importantes para o processo fotossintético e produção de matéria seca. O K, além de ser essencial na manutenção do turgor celular, participando do processo de abertura estomática, que é fundamental para a assimilação de CO₂, também é importante para a translocação de sacarose no floema e sua deficiência pode reduzir o movimento da sacarose da folha para o colmo (Rodrigues et al. 2018). O B também possui funções no transporte de açúcares, favorecendo o maior aporte de sacarose fotossintetizada das folhas para os colmos, além de ter outras funções como no metabolismo de carboidratos, estruturação e lignificação da parede celular e metabolismo de auxinas (Kirkby e Römheld 2004; Rodrigues et al. 2018).

O Fe participa de vários processos metabólicos importantes, como fotossíntese, desenvolvimento de cloroplastos, biossíntese de clorofila, transporte de elétrons e reações redox (Marschner, 1995). E o Cu é constituinte de diversas proteínas essenciais ao metabolismo das plantas, como a plastocianina, que é uma proteína que participa do transporte de elétrons não cíclico nos tilacóides dos cloroplastos (Sykes 1985), o que torna este micronutriente essencial para a eficiência da etapa fotoquímica da fotossíntese e, conseqüentemente, para a redução e fixação do CO₂.

Ainda, embora o acúmulo de N, Mg e Zn na parte aérea tenha sido semelhante entre as plantas inoculadas e a TC, *B. velezensis* proporcionou maior EUN, EUMg e EUZn, o que demonstra que as plantas inoculadas foram mais eficientes que as não inoculadas na produção de biomassa da parte aérea por unidade destes nutrientes absorvidos (Vitousek 1982; Suman et al. 2005). Cipriano et al. (2021) também verificaram que a inoculação de cepas de bactérias endofíticas em cana-de-açúcar melhorou a eficiência do uso de vários nutrientes, como N, P, K, Ca, Mg e S.

Importância dos micronutrientes e da eficiência do uso do S e Mg no P acumulado na parte aérea

Associado ao fato de que Latossolos vermelhos são conhecidos por apresentarem altos teores de Fe (Santos et al. 2018); a natureza intemperizada dos solos tropicais

leva à fixação de grande parte do fertilizante fosfatado aplicado pelos óxidos e hidróxidos de Fe, Al e Mn que, quando quimisorvidos no solo, não são facilmente liberados por simples dessorção de equilíbrio (Beauchemin et al. 2003; Sato e Comerford 2006; Bindraban et al. 2020), assim, a disponibilidade de P é controlada pelos níveis de Fe e Mn, o que explica estes terem sido os nutrientes mais importantes para o acúmulo de P na parte aérea.

A inoculação de *B. velezensis* aumentou a disponibilidade de P no solo, nas raízes e na parte aérea, com aumento da absorção e acúmulo deste nutriente, quando comparada aos tratamentos não inoculados. Há uma interação antagônica entre o aumento na disponibilidade de P e a disponibilidade de Fe e Mn (Beauchemin et al. 2003, Barben et al. 2010), e o P afeta os genes responsáveis pela regulação do Fe (Zheng et al. 2009). Além disso, o aumento na disponibilidade de Fe pode resultar na redução da disponibilidade de Mn (Rana et al. 2012).

Entretanto, essa interação antagônica não foi observada nos nossos resultados, pois, de modo geral, o aumento dos teores de Fe e Mn nas bainhas, colmos e raízes e a maior absorção e acúmulo de Fe e Mn na parte aérea contribuíram para o aumento do P acumulado na parte aérea da planta, o que sugere que a cepa UFV 3918 pode apresentar algumas estratégias para aumentar a disponibilidade destes micronutrientes.

O ferro está presente no solo na forma de ferro insolúvel (Fe^{3+}) que não está disponível para absorção pelas plantas. No entanto, cepas do gênero *Bacillus* podem secretar um composto quelante de baixo peso molecular e alta afinidade pelo ferro, conhecido como sideróforo, que aumenta a disponibilidade de Fe através do processo de solubilização de fontes de Fe precipitadas no solo, favorecendo o crescimento da planta e, conseqüentemente, outros microrganismos do solo podem ter seu crescimento limitado pela ausência de Fe (Andrews et al. 2003; Haas e Defago 2005; Cawoy et al. 2011; Schiessl et al. 2017; Khan et al. 2017; Pandey et al. 2017).

Os sideróforos quelam concentrações críticas de metais pesados, como o Fe e o Mn, e solubilizam minerais que, conseqüentemente, estimulam o crescimento das plantas (Gontia-Mishra et al. 2016). Além disso, está bem estabelecido que os sideróforos têm papel potencial no aumento da disponibilidade de P (Sharma et al. 2013a).

Tanto os microrganismos como as plantas liberam compostos quelantes (Gupta e Diwan 2017). Monocotiledôneas gramináceas, como a cana-de-açúcar, liberam

substâncias quelantes de Fe^{3+} de alta afinidade, da família do ácido mugineico, conhecidas como fitosideróforos (Rana et al. 2012). Essas substâncias solubilizam Fe^{3+} e os complexos Fe^{3+} –fitosideróforos resultantes são captados pelas células radiculares por meio de um sistema específico de transporte de membrana plasmática, sem redução do íon férrico (Römheld e Marschner 1986; Römheld 1991; von Wiren et al. 1993). Esse mecanismo é denominado estratégia II e pode se assemelhar à estratégia do sideróforo microbiano.

Além disso, algumas rizobactérias como o *Bacillus* podem reduzir o Mn^{4+} a Mn^{2+} , que é a forma química metabolicamente útil para as plantas, desempenhando um papel crucial no aumento da disponibilidade e da absorção de Mn pelas culturas (Dotaniya e Meena 2015). Essa reação é mediada na rizosfera, onde a redução do Mn requer elétrons e prótons que são fornecidos através da decomposição de compostos carbonosos e secreção orgânica das raízes (Marschner 1995).

Deste modo, embora não tenha sido realizada uma análise que comprove a produção de sideróforos por *Bacillus velezensis* UFV 3918, muitos trabalhos relatam diferentes cepas de *B. velezensis* como produtoras de sideróforos (Chen et al. 2019; Wei et al. 2020; Hasan et al. 2022; Mahdi et al. 2022; Mosela et al. 2022), e o aumento da disponibilidade, absorção e acúmulo de Fe e Mn pode ser indicativo do potencial de produção de sideróforos pela cepa UFV 3918.

Como observado para Fe e Mn, também existe uma interação antagônica entre P e S, em que o aumento da disponibilidade de P pode reduzir os níveis de S (Alvarez et al. 2007; Malhotra et al. 2018). E o Mg é muito importante pois regula a ativação da enzima quinase e a transferência do grupo fosfato (Malhotra et al. 2018). A interação entre estes nutrientes explica por que o aumento da eficiência do uso do S e do Mg favoreceu o aumento do acúmulo de P na parte aérea.

Efeito dos indicadores microbiológicos no acúmulo de P e na saúde do solo

BSP influenciam o desenvolvimento radicular e a rizodeposição, que podem ser fatores importantes que modificam a comunidade microbiana da rizosfera (Hernández et al. 2015). Os impactos resultantes da inoculação incluem eficiência do mutualismo planta-microrganismo (Bargaz et al. 2017; Latati et al. 2016) e melhoria na respiração basal do solo (Borden et al. 2021, Latati et al. 2016; Santos et al. 2022).

As comunidades microbianas do solo são fundamentais para manter a saúde do solo, pois desempenham papel fundamental na regulação de processos que

afetam as funções do ecossistema relacionadas à produção de biomassa, ciclagem de nutrientes e manutenção e melhoria do microbioma do solo (Nielsen et al. 2015; Jacoby et al. 2017; Yang et al. 2021). Diferentes estudos relataram que a diversidade microbiana do solo e a abundância relativa de microrganismos benéficos aumentaram na rizosfera devido à inoculação com cepas de *Bacillus* (Han et al., 2019; Cucu et al., 2020; Azeem et al., 2021; Cheng et al., 2021).

A respiração basal do solo (RBS) é determinada pela população bacteriana (Bond-Lamberty et al. 2016) e representa a atividade microbiana como um todo, porque mostra as mudanças benéficas produzidas pelas práticas agrícolas (Brandán et al. 2014, 2016, 2017). O aumento na RBS reflete o aumento da proliferação de bactérias no solo (Wardle et al. 1994; Haney et al. 2000). A hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) também é amplamente aceita como um método preciso e simples para medir a atividade microbiana total em uma ampla gama de solos, uma vez que lipases, proteases e esterases estão envolvidas nesta reação (Adam e Duncan 2001; Achuba e Peretiemo-Clarke 2008; Ding et al. 2020).

Nossos resultados corroboram com Sabaté e Brandán (2022), que também verificaram aumento da RBS e FDA com a inoculação de *B. amyloliquefaciens* B14, e com Santos et al. (2022), que estudaram a associação de *B. velezensis* UFV 3918 com fertilizante organomineral e doses de MAP e verificaram aumento na RBS e FDA à medida que houve aumento das doses de MAP.

A atividade enzimática do solo, que está diretamente relacionada à ciclagem de nutrientes, é controlada pela população microbiana (Siwik-Ziomek e Szczepanek 2019), que está atrelada à RBS e à FDA. Isso explica RBS e FDA serem os fatores mais importante no acúmulo de P, pois o aumento destas variáveis favoreceu o aumento da fosfatase ácida e, conseqüentemente, beneficiou a solubilização de P, refletindo em maior P acumulado na parte aérea das plantas inoculadas sem adubação com MAP (B).

O carbono da biomassa microbiana (CBM) é considerado um indicador-chave das atividades microbianas do solo e sua medição fornece uma estimativa da relação entre as atividades microbianas do solo e a ciclagem de nutrientes (Schultz e Urban 2008; Farrel et al. 2014; Fraser et al. 2016). Em nosso estudo, a inoculação de *B. velezensis* proporcionou incrementos no CBM, sendo os aumentos proporcionais ao aumento das doses de MAP. Outros autores também relataram que a inoculação com

cepas de *Bacillus* proporcionou aumentos no CBM (Sharma et al. 2013b; Sabaté et al. 2020; Azeem et al. 2021; Sabaté e Brandán 2022).

Normalmente, o crescimento da biomassa microbiana depende da entrada orgânica, que proporciona aumentos da biodisponibilidade de C e N no solo (Baldrian et al. 2008). O P e o N são nutrientes que atuam sinergicamente e os nossos resultados mostraram que o nitrogênio da biomassa microbiana (NBM) aumentou à medida que *B. velezensis* foi associado com doses maiores de MAP, o que também foi verificado por Santos et al. (2022). O NBM é considerado um indicador biológico essencial no manejo do solo e a associação da BSP com doses crescentes de P provavelmente melhorou os resíduos orgânicos e exsudatos no solo, estimulando o aumento deste indicador (Saini et al. 2004).

As enzimas do solo são indicadores eficazes de estresses ambientais, além de serem os principais mediadores dos processos biológicos do solo, desempenhando papel essencial na degradação da matéria orgânica, mineralização e ciclagem de nutrientes, permitindo avaliar a qualidade e saúde do solo (Aon et al. 2001; Kirk et al. 2004; Kong et al. 2014; Xie et al. 2017).

Embora a urease participe do ciclo do N e a inoculação da cepa UFV 3918 tenha aumentado a atividade desta enzima em relação aos tratamentos não inoculados, o aumento da urease não foi proporcional ao aumento das doses de MAP como verificado no NBM, não havendo diferenças entre Bv + doses de MAP. O aumento da atividade da urease no solo ajuda a fornecer nutrientes para as plantas e, assim, pode promover o crescimento (Wu et al. 2019). Duan et al. (2022) e Santos et al. (2022) também verificaram aumentos dessa enzima quando foi realizada a inoculação com *B. amyloliquefaciens* e *B. velezensis*, respectivamente.

Muitas cepas de bactérias podem secretar uma quantidade significativa de B-glicosidase no solo (Ahmed et al. 2017), mas apenas o uso de *B. velezensis* isolado aumentou a atividade desta enzima em relação à TC. Em geral, a atividade desta enzima está positivamente correlacionada com o CBM (Almeida et al. 2015), entretanto, enquanto o aumento das doses de MAP proporcionou incrementos no CBM, comportamento contrário foi observado para a atividade da B-glicosidase.

A arilsulfatase é conhecida por catalisar a hidrólise de ésteres de sulfato orgânico e, ocasionalmente, pode constituir um estágio limitante na ciclagem de S no solo (Acosta-Martinez e Tabatabai 2000; Li e Sara 2003). A disponibilidade de S pode ser significativamente influenciada pela adubação fosfatada, pois o fosfato possui

maior afinidade com o solo mineral que o sulfato (Kaiser et al. 1996), assim, a fertilização com P pode dessorver o sulfato, reduzindo o S disponível no solo (Alvarez et al. 2007). O aumento da atividade da arilsulfatase com o aumento da disponibilidade de P pode ter ocorrido devido à reduzida disponibilidade de S causada pela adubação com MAP, que provavelmente exacerbou a escassez de S, o que levou à maior demanda por S e maior alocação de recursos para a produção de arilsulfatase, provocando um aumento da atividade desta enzima no solo (Wang et al. 2019b).

Vários estudos já relataram aumentos na atividade das enzimas fosfatase ácida (FA) e desidrogenase (DHA) após a inoculação de bactérias (Sabaté et al. 2020; Sabaté e Brandán 2022; Santos et al. 2022). A enzima FA hidrolisa compostos orgânicos de P e os transforma em diferentes formas que podem ser diretamente absorvidas pelas plantas (Krämer e Green 2000). Entretanto, embora a inoculação com *B. velezensis* tenha aumentado a atividade da FA em relação aos tratamentos não inoculados, o aumento das doses de MAP foi inversamente proporcional à atividade desta enzima. Isso ocorreu porque a produção de fosfatases é rigorosamente controlada pela disponibilidade inorgânica de P e N e, enquanto a adição de N aumenta a atividade da fosfatase (Marklein e Houlton 2012; Heuck et al. 2018), o suprimento de P inorgânico limita a produção e a atividade das fosfatases, devido a um mecanismo de *feedback* negativo desencadeado por altas doses de P no solo (Olander e Vitousek 2000; Marklein e Houlton 2012).

Esse *feedback* negativo é confirmado por estudos que mostram que as atividades absolutas e específicas da fosfatase ácida e alcalina diminuem com o aumento da biodisponibilidade de P (Fraser et al. 2015; Zhang et al. 2015). Lopes et al. (2021) e Santos et al. (2022) também verificaram redução da atividade da FA com o aumento da disponibilidade de P em solos cultivados com cana-de-açúcar.

Curiosamente, o mesmo comportamento foi verificado para a atividade da DHA, mesmo sendo uma enzima exclusivamente intracelular, ou seja, ligada a células viáveis e, portanto, à atividade microbiológica (Skujins 1973). Em nossos estudos anteriores, avaliando o efeito de *B. velezensis* UFV 3918 associado com fertilizante organomineral e doses de MAP, também verificamos redução da atividade da DHA com o aumento das doses de MAP (Santos et al. 2022). Em ambos os casos, o solo já apresentava alto teor de P antes da inoculação e adubação de plantio, o que contribuiu para a redução da atividade desta enzima.

2.5 Conclusões

O estudo relatou como *B. velezensis* melhorou a absorção e o acúmulo de nutrientes na cana-de-açúcar, com destaque para o fósforo, além de ter incrementado as propriedades microbiológicas do solo. A inoculação da cepa UFV 3918, associada ou não a doses reduzidas de fosfato monoamônico (MAP) (Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+3/3 MAP), proporcionou aumento da respiração basal do solo (RBS) e da atividade das enzimas de solo (FDA, urease, B-glicosidase e fosfatase ácida), que além de favorecerem o aumento do volume de raízes, proporcionaram aumento dos teores de P e Ca no solo. A melhoria da saúde do solo favoreceu a absorção de nutrientes e o acúmulo de nutrientes na parte aérea. As variáveis que mais influenciaram o acúmulo de P na parte aérea foram volume radicular, teores de S, P e Ca no solo, teores de Fe e Mn na parte aérea e raízes, eficiência do uso do S e Mg, acúmulo e absorção de Fe e Mn e RBS. Neste estudo, o alto teor de P inicial no solo possibilitou que a inoculação com *B. velezensis* dispensasse a adubação fosfatada, pois a atividade microbiana estimulou o crescimento radicular e aumentou a disponibilidade de P no solo, devido à solubilização de fosfato verificada através da elevada atividade da fosfatase ácida, o que favoreceu o acúmulo de P na parte aérea. A inoculação também demonstrou o potencial de *B. velezensis* UFV 3918 de sintetizar sideróforos, visto que houve aumento do acúmulo de Fe na parte aérea das plantas. Esses resultados têm implicações importantes para o ecossistema e para a sustentabilidade, uma vez que o P é um dos nutrientes mais limitantes nos sistemas de cultivo agrícola, especialmente em condições tropicais, além disso, é um nutriente finito e insubstituível e os canaviais são dependentes de altas doses de P, principalmente para sua longevidade. Portanto, a inoculação com *B. velezensis* UFV 3918 é uma estratégia viável para otimizar o uso de fertilizantes fosfatados na cultura da cana-de-açúcar e os resultados fornecem apoio a pesquisas futuras que visem reduzir a utilização de fertilizantes fosfatados.

Declaração de contribuições dos autores Hariane Luiz Santos contribuiu com a conceitualização, metodologia, investigação, curadoria dos dados, escrita, revisão e edição do trabalho original. Gustavo Ferreira da Silva contribuiu com a investigação. Adão de Siqueira Ferreira auxiliou nas análises dos indicadores microbiológicos.

Marcelo de Almeida Silva contribuiu com a conceitualização, aquisição de recursos e financiamento, administração do projeto e revisão e edição do trabalho original.

Financiamento Esta pesquisa foi financiada pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) através da bolsa de mestrado de Hariane Luiz Santos (Proc. 2021/02991-0) e pela Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (Proc. FEPAF 1226).

Conflito de interesse Os autores declaram que a pesquisa foi realizada em colaboração com a Vittia (São Joaquim da Barra, SP, Brasil), que forneceu o produto e suporte técnico, e tem interesse no desempenho do produto em nível biológico.

Agradecimentos Marcelo de Almeida Silva e Gustavo Ferreira da Silva agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelas bolsas de “Produtividade em Pesquisa” (Proc. 305952/2018-8) e “Iniciação Científica” (Proc. 121804/2021-6), respectivamente.

Referências

- Achuba F, Peretiemmo-Clarke B (2008) Effect of spent engine oil on soil catalase and dehydrogenase activities. *Int Agrophys* 22:1–4.
- Acosta-Martinez V, Tabatabai MA (2000) Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol Fertil Soils* 31:85–91. <https://doi.org/10.1007/s003740050628>.
- Adam G, Duncan H (2001) Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol Biochem* 33:943–951. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00244-3).
- Adnan M, Fahad S, Zamin M, Shah S, Mian IA, Danish S, Zafar-Ul-Hye M, Battaglia ML, Naz RMM, Saeed B, Saud S, Ahmad I, Yue Z, Brtnicky M, Holatko J, Datta R (2020) Coupling phosphate-solubilizing bacteria with phosphorus supplements improve maize phosphorus acquisition and growth under lime induced salinity stress. *Plants* 9:900. <https://doi.org/10.3390/plants9070900>.
- Ahmed A, Nasim Fu-H, Batool K, Bibi A (2017) Microbial β -Glucosidase: Sources, production and applications. *J Appl Environ Microbiol* 5:31–46. <https://doi.org/10.12691/jaem-5-1-4>.

- Almeida RF, Nave ER, Mota RP (2015) Soil quality: Enzymatic activity of soil β -glucosidase. *GJARR—Glob Sci Res J* 3:146–150.
- Alori ET, Glick BR, Babalola OO (2017) Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front Microbiol* 8:971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>.
- Alvarez VVH, Roscoe R, Kurihara CH, Pereira NF (2007) Enxofre. In: Novais RF, Alvarez VVH, Barros NF, Fontes RLF, Cantarutti RB, Neves JCL (eds) *Fertilidade do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, Brazil, pp 595–644.
- Andrews SC, Robinson AK, Rodríguez-Quiriones F (2003) Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev* 27:215–237. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00055-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00055-X).
- AOAC (2016) *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International, Rockville, Maryland, USA.
- Aon MA, Cabello MN, Sarena DE, Colaneri AC, Franco MG, Burgos JL, Cortassa S (2001) I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Appl Soil Ecol* 18:239–254. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00153-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00153-6).
- Araújo AP, Machado CTT (2006) Fósforo. In: Fernandes MS (ed) *Nutrição mineral de plantas*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, Brazil, pp 253–280.
- Araujo FF, Bonifacio A, Bavaresco LG, Mendes LW, Araujo ASF (2021) *Bacillus subtilis* changes the root architecture of soybean grown on nutrient-poor substrate. *Rhizosphere* 18:100348. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100348>.
- Asomaning SK (2020) Processes and factors affecting phosphorus sorption in soils. In: Kyzas G, Lazaridis N (eds) *Sorption in 2020s*. IntechOpen, London, United Kingdom, pp 1–15.
- Azeem M, Hassan TUI, Tahir MI, Alia A, Jeyasundar PGSA, Hussain Q, Bashir S, Mehmood S, Zhang Z (2021) Tea leaves biochar as a carrier of *Bacillus cereus* improves the soil function and crop productivity. *Appl Soil Ecol* 157:103732. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103732>.
- Bagyako M, George E, Römheld V, Buerkert A (2000) Effect of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum in

- West African Soil. J Agric Sci 135:399–407. <https://doi.org/10.1017/S0021859699008254>.
- Baldrian P, Trögl J, Frouz J, Šnajdr J, Valášková V, Merhautová V, Cajthaml T, Herinková J (2008) Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining. Soil Biol Biochem 40:2107–2115. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.02.019>.
- Bamagoos AA, Alharby HF, Belal EE, Khalaf AEA, Abdelfattah MA, Rady MM, Ali EF, Mersal GAM (2021) Phosphate-Solubilizing Bacteria as a Panacea to Alleviate Stress Effects of High Soil CaCO₃ Content in *Phaseolus vulgaris* with Special Reference to P-Releasing Enzymes. Sustainability 13:7063. <https://doi.org/10.3390/su13137063>.
- Barben SB, Hopkins BG, Jolley VD, Webb BL, Nichols BA (2010) Phosphorus and manganese interactions and their relationships with zinc in chelator-buffered solution grown Russet Burbank potato. J Plant Nutr 323:752–769. <https://doi.org/10.1080/01904160903575964>.
- Bargaz A, Noyce GL, Fulthorpe R, Carlsson G, Furze JR, Jensen ES, Dhiba D, Isaac ME (2017) Species interactions enhance root allocation, microbial diversity and P acquisition in intercropped wheat and soybean under P deficiency. Appl Soil Ecol 120:179–188. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.08.011>.
- Batool S, Iqbal A (2019) Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). Saudi J Biol Sci 26:1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>.
- Beauchemin S, Hesterberg D, Chou J, Beauchemin M, Simard RR, Sayers DE (2003) Speciation of phosphorus in phosphorus-enriched agricultural soils using X-ray absorption near-edge structure spectroscopy and chemical fractionation. J Environ Qual 32:1809–1819. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.1809>.
- Behera BC, Singdevsachan SK, Mishra RR, Dutta SK, Thatoi HN (2013) Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganisms in mangrove – A review. Biocatal Agric Biotechnol 3:97–110. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.008>.
- Bhattacharyya PN, Jha DK (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J Microbiol Biotechnol 28:1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>.

- Billah M, Matiullah K, Bano A, Hassan TU, Munir A, Gurmani AR (2019) Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiol J* 36:904–916. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>.
- Bindraban PS, Dimpka CO, Pandey R (2020) Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. *Biol Fertil Soils* 56:299–317. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2>.
- Bond-Lamberty B, Bolton H, Fansler S, Heredia-Langner A, Liu C, McCue LA, Smith J, Bailey V (2016) Soil respiration and bacterial structure and function after 17 years of a reciprocal soil transplant experiment. *PLoS ONE* 11:e0150599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150599>.
- Borden KA, Mafa-Attoye TG, Dunfield KE, Thevathasan NV, Gordon AM, Isaac ME (2021) Root functional trait and soil microbial coordination: implications for soil respiration in Riparian agroecosystems. *Front Plant Sci* 12:681113. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.681113>.
- Borges BMMN, Abdala DB, Souza MF, Viglio LM, Coelho MJA, Pavinato PS, Franco HCJ (2019) Organomineral phosphate fertilizer from sugarcane byproduct and its effects on soil phosphorus availability and sugarcane yield. *Geoderma* 339:20–30. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.036>.
- Braga Junior RLC, Landel MGA, Silva DN, Bidóia MAP, Silva TN, Silva VHP, Luz AM, Anjos IA (2021) Censo varietal IAC: Região centro-sul – Safra 2019/20. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil. (Boletim Técnico, 225).
- Brandán CP, Chavarría D, Huidobro J, Meriles JM, Brandán CP, Gil SV (2017) Influence of a tropical grass (*Brachiaria brizantha* cv. Mulato) as cover crop on soil biochemical properties in a degraded agricultural soil. *Eur J Soil Biol* 83:84–90. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2017.10.009>.
- Brandán CP, Huidobro J, Galván M, Vargas Gil S, Meriles JM (2016) Relationship between microbial functions and community structure following agricultural intensification in South American Chaco. *Plant Soil Environ* 62:321–328. <https://doi.org/10.17221/19/2016-PSE>.
- Brandán CP, Huidobro J, Meriles JM, Vargas Gil S (2014) Soybean fungal soilborne diseases: a parameter for measuring the effect of agricultural intensification on soil health in northern Argentina. *Can J Microbiol* 60:73–84. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0792>.

- Buch A, Archana G, Kumar GN (2010) Heterologous expression of phosphoenolpyruvate carboxylase enhances the phosphate solubilizing ability of fluorescent pseudomonads by altering the glucose catabolism to improve biomass yield. *Bioresour Technol* 101:679–687. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.075>.
- Caione G, Prado RM, Campos CNS, Moda LR, Vasconcelos RL, Pizauro Júnior JM (2015) Response of sugarcane in a red ultisol to phosphorus rates, phosphorus sources, and filter cake. *Sci World J* 2–3:1–10. <https://doi.org/10.1155/2015/405970>.
- Cantarutti RB, Barros NF, Prieto HE, Novais RF (2007). Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: Novais RF, Alvarez VVH, Barros NF, Fontes RLF, Cantarutti RB, Neves JCL (eds) *Fertilidade do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, pp 769–850.
- Cawoy H, Bettiol W, Fickers P, Ongena M (2011) *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In: Stoytcheva M (ed) *Pesticides in the modern world – pesticides use and management*. InTech, Rijeka, Croatia, pp 274–302
- Chen L, Shi H, Heng J, Wang D, Bian K (2019) Antimicrobial, plant growth-promoting and genomic properties of the peanut endophyte *Bacillus velezensis* LDO2. *Microbiol Res* 218:41–48. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.002>.
- Cheng H, Zhang D, Ren L, Song Z, Li Q, Wu J, Fang W, Huang B, Yan D, Li Y, Wang Q, Cao A (2021) Bio-activation of soil with beneficial microbes after soil fumigation reduces soil-borne pathogens and increases tomato yield. *Environ Pollut* 283:117160. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117160>.
- Cipriano MAP, Freitas-Iório RP, Dimitrov MR, Andrade SAL, Kuramae EE, Silveira APD (2021) Plant-growth endophytic bacteria improve nutrient use efficiency and modulate foliar n-metabolites in sugarcane seedling. *Microorganisms* 9:479. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030479>.
- Colussi J, Schnitkey G, Zulauf C (2022) War in Ukraine and its Effect on Fertilizer Exports to Brazil and the U.S. Department of Agricultural and Consumer Economics, University of Illinois, Urbana-Champaign, USA. *Farmdoc daily* 12:34. <https://farmdocdaily.illinois.edu/2022/03/war-in-ukraine-and-its-effect-on-fertilizer-exports-to-brazil-and-the-us.html>. Acessado 12 dezembro 2022.

- Conab – Companhia Nacional de Abastecimento (2022) Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar – 4º levantamento. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>. Acessado 12 dezembro 2022.
- Costa EM, Lima W, Oliveira-Longatti SM, Souza FM (2015) Phosphate-solubilising bacteria enhance *Oryza sativa* growth and nutrient accumulation in an oxisol fertilized with rock phosphate. *Ecol Eng* 83:380–385. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.06.045>.
- Cucu MA, Gilardi G, Pugliese M, Ferrocino I, Gullino ML (2020) Effects of biocontrol agents and compost against the *Phytophthora capsici* of zucchini and their impact on the rhizosphere microbiota. *Appl Soil Ecol* 154:103659. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103659>.
- Czymmek K, Ketterings Q, Ros M, Battaglia M, Cela S, Crittenden S, Gates D, Walter T, Latessa S, Klaiber L, Albrecht G (2021) The New York Phosphorus: Version 2.0. User's Manual and Documentation. Cornell University Cooperative Extension, Ithaca, New York, USA.
- Dai Z, Liu G, Chen H, Chen C, Wang J, Ai S, Wei D, Li D, Ma B, Tang C, Brookes PC, Xu J (2020) Long-term nutrient inputs shift soil microbial functional profiles of phosphorus cycling in diverse agroecosystems. *ISME J* 14:757–770. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0567-9>.
- Ding Z, Kheir AMS, Ali MGM, Ali OAM, Abdelaal AIN, Lin X, Zhou Z, Wang B, Liu B, He Z (2020) The integrated effect of salinity, organic amendments, phosphorus fertilizers, and deficit irrigation on soil properties, phosphorus fractionation and wheat productivity. *Sci Rep* 10:2736. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59650-8>.
- Dotaniya ML, Meena VD (2015) Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review. *Proc Natl Acad Sci India Sect B Biol Sci* 85:1–12. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0297-0>.
- Duan Y, Zhou Y, Li Z, Chen X, Yin C, Mao Z (2022) Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* QSB-6 on the growth of replanted apple trees and the soil microbial environment. *Horticulturae* 8:83. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010083>.
- Eivazi F, Tabatabai MA (1988) Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol Biochem* 20:601–606. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90141-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(88)90141-1).

- Elhaissofi W, Khourchi S, Ibnyasser A, Ghoulam C, Rchiad Z, Zeroual Y, Lyamlouli K, Bargaz A (2020) Phosphate solubilizing rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and aboveground physiology than rhizosphere P solubilization. *Front Plant Sci* 11:979. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00979>.
- Emami S, Alikhani HA, Pourbabaei AA, Etesami H, Sarmadian F, Motessharezadeh B (2019) Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environ Sci Pollut Res* 26:19804–19813. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>.
- Fageria NK (2007) Yield physiology of rice. *J Plant Nutr* 30:843–879. <https://doi.org/10.1080/15226510701374831>.
- Farrell M, Prendergast-Miller M, Jones DL, Hill PW, Condon LM (2014) Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biol Biochem* 77:261–267. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.07.003>.
- Ferreira AS, Camargo FAO, Vidor C (1999) Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. *Rev Bras Cien Solo* 23:991–996. <https://doi.org/10.1590/S0100-06831999000400026>.
- Fraser FC, Todman LC, Corstanje R, Deeks LK, Harris JA, Pawlett M, Whitmore AP, Ritz K (2016) Distinct respiratory responses of soils to complex organic substrate are governed predominantly by soil architecture and its microbial community. *Soil Biol Biochem* 103:493–501. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.09.015>.
- Fraser T, Lynch DH, Entz MH, Dunfield KE (2015) Linking alkaline phosphatase activity with bacterial phoD gene abundance in soil from a long-term management trial. *Geoderma* 81:7281–7289. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.10.016>.
- Glick BR (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Gontia-Mishra I, Sapre S, Sharma A, Tiwari S (2016) Alleviation of mercury toxicity in wheat by the interaction of mercury-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *J Plant Growth Regul* 35:1000–1012. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9598-x>.
- Goteti PK, Emmanuel LDA, Desai S, Shaik MHA (2013) Prospective Zinc Solubilising Bacteria for Enhanced Nutrient Uptake and Growth Promotion in Maize (*Zea mays* L.). *Int J Microbiol* 1:869697. <https://doi.org/10.1155/2013/869697>.

- Grafe M, Goers M, von Tucher S, Baum C, Zimmer D, Leinweber P, Vestergaard G, Kublik S, Schlöter M, Schulz S (2018) Bacterial potentials for uptake, solubilization and mineralization of extracellular phosphorus in agricultural soils are highly stable under different fertilization regimes. *Environ Microbiol Rep* 10:320–327. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12651>.
- Green VS, Stott DE, Diack M (2006) Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: Optimization for soil samples. *Soil Biol Biochem* 38:693–701. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.06.020>.
- Guo H, White JC, Wang Z, Xing B (2018) Nano-enabled fertilizers to control the release and use efficiency of nutrients. *Curr Opin Environ Sci Heal* 6:77–83. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.07.009>.
- Gupta P, Diwan B (2017) Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: A review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnol Rep* 13:58–71. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006>.
- Haas D, Defago G (2005) Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat Rev Microbiol* 3:307–319. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1129>.
- Hair JF, Black Jr WC, Babin BJ, Anderson RE, Tatham RL (2009) *Análise Multivariada de Dados*, 6th ed. Bookman, Porto Alegre, RS, Brazil.
- Han LJ, Wang ZY, Li N, Wang YH, Feng JT, Zhang X (2019) *Bacillus amyloliquefaciens* B1408 suppresses Fusarium wilt in cucumber by regulating the rhizosphere microbial community. *Appl Soil Ecol* 136:55–66. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.12.011>.
- Haney RL, Senseman SA, Hons FM, Zuberer DA (2000) Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Sci.* 48:89–93. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0089:EOGOSM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0089:EOGOSM]2.0.CO;2).
- Hanyabui E, Apori SO, Frimpong KA, Atiah K, Abindaw T, Ali M, Asiamah JY, Byalebeka J (2020) Phosphorus sorption in tropical soils. *AIMS Agric Food* 5:599–616. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.599>.
- Hasan N, Khan IU, Farzand A, Heng Z, Moosa A, Saleem M, Canming T (2022) *Bacillus altitudinis* HNH7 and *Bacillus velezensis* HNH9 promote plant growth through upregulation of growth-promoting genes in upland cotton. *J Appl Microbiol* 132:3812–3824. <https://doi.org/10.1111/jam.15511>.

- Hashem A, Tabassum B, Abd-Allah EF (2019) *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. Saudi J Biol Sci 26:1291–1297. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>.
- Hassan W, Bashir S, Hanif S, Sher A, Sattar A, Wasaya A, Atif H, Hussain M (2017) Phosphorus solubilizing bacteria and growth and productivity of mung bean (*Vigna radiata*). Pak J Bot 49:331–336.
- Hernández M, Dumont MG, Yuan Q, Conrad R (2015) Different bacterial populations associated with the roots and rhizosphere of rice incorporate plant-derived carbon. Appl Environ Microbiol 81:2244–2253. <https://doi.org/10.1128/AEM.03209-14>.
- Heuck C, Smolka G, Whalen ED, Frey S, Gundersen P, Moldan F, Fernandez IJ, Spohn M (2018) Effects of long-term nitrogen addition on phosphorus cycling in organic soil horizons of temperate forests. Biogeochemistry 141:167–181. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0511-5>.
- Huang C, Barker SJ, Langridge P, Smith FW, Graham RD (2000) Zinc deficiency up-regulates expression of high-affinity phosphate transporter genes in both phosphate-sufficient and -deficient barley roots. Plant Physiol 124:415–422.
- Hussain A, Adnan M, Hajira, Iqbal S, Fahad S, Saeed M, Mian IA, Muhammad MW, Romman M, Perveez R, Wahid F, Subhan F, Raza MA, Zamin M, Ullah F, Rehman Ur K, Andaleeb S (2019) Combining phosphorus (P) with phosphate solubilizing bacteria (PSB) improved wheat yield and P uptake in alkaline soil. Pure Appl Biol 8:1809–1817. <https://doi.org/10.19045/bspab.2019.80124>.
- Jacoby R, Peukert M, Succurro A, Koprivova A (2017) The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition-current knowledge and future directions. Front Plant Sci 8:1617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>.
- Kaiser K, Guggenberger G, Zech W (1996) Sorption of DOM and DOM fractions to forest soils. Geoderma 74:281–303. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(96\)00071-7](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(96)00071-7).
- Kandeler E, Gerber H (1988) Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. Biol Fertil Soils 6:68–72. <https://doi.org/10.1007/BF00257924>.
- Khan N, Maymon M, Hirsch AM (2017) Combating *Fusarium* infection using *Bacillus*-based antimicrobials. Microorganisms 5:75. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040075>.

- Khosravi A, Zarei M, Ronaghi A (2018) Effect of PGPR, phosphate sources and vermicompost on growth and nutrients uptake by lettuce in a calcareous soil. *J Plant Nutr* 41:80–89. <https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381727>.
- Kingston G (2014) Mineral Nutrition of Sugarcane. In: Moore PH, Botha FC (eds) *Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology*, 1st ed. John Wiley & Sons, Ames, Iowa, USA, pp 85–120.
- Kirk JL, Beaudette LA, Hart M, Moutoglis P, Klironomos JN, Lee H, Trevors JT (2004) Methods of studying soil microbial diversity. *J Microbiol Methods* 58:169–188. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.04.006>.
- Kirkby EA, Römheld V (2004) Micronutrients in plant physiology: functions, uptake, and mobility. *Proceedings* 543. International Fertiliser Society, Nova York, USA.
- Kong T, Wu XY, Zhao XS, Liu M, Huang J, Zhang D (2014) Soil microbial quantity and soil enzyme activity characteristics of riparian zone in upper reaches of Hunhe river. *Bull J Soil Water Conserv* 34:123–128.
- Krämer S, Green DM (2000) Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. *Soil Biol Biochem* 32:179–188. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00140-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00140-6).
- Kumar A (2016) Phosphate solubilizing bacteria in agriculture biotechnology: diversity, mechanism and their role in plant growth and crop yield. *Int J Adv Res* 4:116–124. <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/111>.
- Kumar A, Maurya BR, Raghuwanshi R, Meena VS, Islam MT (2017) Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under Indo-Gangetic plain of India. *J Plant Growth Reg* 36:608–617. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9663-5>.
- Kumar A, Rai LC (2015) Proteomic and biochemical basis for enhanced growth yield of *Enterobacter* sp. LCR1 on insoluble phosphate medium. *Microbiol Res* 170:195–204. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.06.006>.
- Labanca ERG, Andrade SAL, Kuramae EE, Silveira APD (2020) The modulation of sugarcane growth and nutritional profile under aluminum stress is dependent on beneficial endophytic bacteria and plantlet origin. *Appl Soil Ecol* 156:103715. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103715>.
- Latati M, Bargaz A, Belarbi B, Lazali M, Benlahrech S, Tellah S, Kaci G, Drevon JJ, Ounane SM (2016) The intercropping common bean with maize improves the

- rhizobial efficiency, resource use and grain yield under low phosphorus availability. *Eur J Agron* 72:80–90. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.015>.
- Li X, Sarah P (2003) Arylsulfatase activity of soil microbial biomass along a Mediterranean-arid transept. *Soil Biol Biochem* 35:925–934. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(03\)00143-3](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(03)00143-3).
- Li Y, Liu X, Hao T, Chen S (2017) Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. *Int J Mol Sci* 18:1253. <https://doi.org/10.3390/ijms18071253>.
- Lin TF, Huang HI, Shen FT, Young CC (2006) The protons of gluconic acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC-A174. *Bioresour Technol* 97:957–960. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.017>.
- Liu J, Qi W, Li Q, Wang S-G, Song C, Yuan X-Z (2020) Exogenous phosphorus-solubilizing bacteria changed the rhizosphere microbial community indirectly. *3 Biotech* 10:164. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-2099-4>.
- Loneragan, JF, Webb MJ (1993) Interactions between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. In: Robinson AD (ed) *Zinc in soils and plants*. Kluwer Academic, Dordrecht, Amsterdam, pp 119–134.
- Long XE, Yao H, Huang Y, Wei W, Zhu YG (2018) Phosphate levels influence the utilization of rice rhizodeposition carbon and the phosphate-solubilising microbial community in a paddy soil. *Soil Biol Biochem* 118:103–114. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.014>.
- Lopes CM, Silva AMM, Estrada-Bonilla GA, Ferraz-Almeida R, Vieira JLV, Otto R, Vitti GC, Cardoso EJBN (2021) Improving the fertilizer value of sugarcane wastes through phosphate rock amendment and phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *J Clean Prod* 298:126821. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126821>.
- Lynch JP (2019) Root phenotypes for improved nutrient capture: an underexploited opportunity for global agriculture. *New Phytol* 223:548–564. <https://doi.org/10.1111/nph.15738>.
- Mahdi I, Allaoui A, Fahsi N, Biskri L (2022) *Bacillus velezensis* QA2 Potentially Induced Salt Stress Tolerance and Enhanced Phosphate Uptake in Quinoa Plants. *Microorganisms* 10:1836. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091836>.

- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira AS (1997) *Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações*. 2nd ed. Potafós, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
- Malhotra H, Vandana, Sharma S, Pandey R (2018) Phosphorus Nutrition: Plant Growth in Response to Deficiency and Excess. In Husanuzzaman M, Fujita M, Oku H, Nahar K, Hawrylak-Nowak B (eds) *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Springer Nature: Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_7.
- Mander C, Wakelin S, Young S, Condrón L, O'Callaghan M (2012) Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biol Biochem* 44:93–101. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.009>.
- Mantelin S, Touraine B (2004) Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: Impacts on roots development and nitrate uptake. *J Exp Bot* 55:27–34. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh010>.
- Marklein AR, Houlton BZ (2012) Nitrogen inputs accelerate phosphorus cycling rates across a wide variety of terrestrial ecosystems. *New Phytol* 193:696–704. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03967.x>.
- Marra LM, Oliveira SM, Soares CRFS, Moreira FMS (2011) Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. *Sci Agric* 68:603–609. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000500015>.
- Marschner H (1995) *Mineral nutrition of higher plants*, 2nd ed. Academic Press, London, United Kingdom.
- McCray JM, Mylavarapu R (2010) *Sugarcane nutrient management using leaf analysis*. SS-AGR-259. University of Florida – Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville, FL, USA. <http://edis.ifas.ufl.edu/sc076>.
- Meena RS, Meena VS, Meena SK, Verma JP (2015) The needs of healthy soils for a healthy world. *J Clean Prod* 102:560–561. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.045>.
- Meng X, Huang Q, Xu J, Gao H, Yan J (2019) A review of phosphorus recovery from different thermal treatment products of sewage sludge. *Waste Dispos Sustain Energy* 1:99–115. <https://doi.org/10.1007/s42768-019-00007-x>.
- Mersi W, Schinner F (1991) An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodonitrotetrazolium chloride. *Biol Fertil Soils* 11:216–220.

- Mosela M, Andrade G, Massucato L, Almeida SRA, Nogueira AF, Lima Filho RB, Zeffa DM, Mian S, Higashi AY, Shimizu GD, Teixeira GM, Branco KS, Faria MV, Giacomini RM, Scapim CA, Gonçalves LSA (2022) *Bacillus velezensis* strain Ag75 as a new multifunctional agent for biocontrol, phosphate solubilization and growth promotion in maize and soybean crops. Scientific Reports 12:15284. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19515-8>.
- Nielsen UN, Wall DH, Six J (2015) Soil biodiversity and the environment. Annu Rev Environ Resour 40:63–90. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102014-021257>.
- OECD, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022) OECD-FAO Agricultural Outlook 2022–2031. OECD, Paris, France.
- Okumura RS, Mariano DC, Dallacort R, Albuquerque AN, Lobato AKS, Guedes EMS, Oliveira Neto CF, Conceição HEO, Alves GAR (2013) *Azospirillum*: A new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. J Food Agric Environ 11:1142–1146.
- Olander LP, Vitousek PM (2000) Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. Biogeochemistry 49:175–191. <https://doi.org/10.1023/A:1006316117817>.
- Ova EA, Kutman UB, Ozturk L, Cakmak I (2015) High phosphorus supplies reduced zinc concentration of wheat in native soil but not in autoclaved soil or nutrient solution. Plant Soil 393:147–162. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2483-8>.
- Pandey PK, Singh MC, Singh SS, Kumar AK, Pathak MM, Shakywar RC, Pandey AK (2017) Inside the plants: endophytic bacteria and their functional attributes for plant growth promotion. Int J Curr Microbiol App Sci 6:11–21. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.002>.
- Patrício FRA, Almeida IMG, Santos AS, Cabral O, Tessarioli Neto J, Sinigaglia C, Beriam LOS, Rodrigues Neto J (2005) Avaliação da solarização do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*. Fitopatol Bras 30:475–481. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582005000500003>.
- Preetha PS, Balakrishnan N (2017) A review of nanofertilizers and their use and functions in soil. Int J Curr Microbiol App Sci 6:3117–3133. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.364>.
- Prieto KR, Echaide-Aquino F, Huerta-Robles A, Valério HP, Macedo-Raygoza G, Prado FM, Medeiros MHG, Brito HF, Silva IGN, Felinto MCFC, White Jr JF,

- DiMascio P, Beltran-García MJ (2017) Endophytic bacteria and rare earth elements; promising candidates for nutrient use efficiency in plants. In: Hossain MA, Kamiya T, Burritt DJ, Tran L-SP, Fujiwara T (eds) Plant Macronutrient Use Efficiency. Elsevier BV, Amsterdam, The Netherlands, pp 285–306. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811308-0.00016-8>.
- Rana A, Joshi M, Prasanna R, Shivay YS, Nain L (2012) Biofortification of wheat through inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and cyanobacteria. Eur J Soil Biol 50:118–126. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.01.005>.
- Rane M, Bawskar M, Rathod D, Nagaonkar D, Rai M (2015) Influence of calcium phosphate nanoparticles, *Piriformospora indica* and *Glomus mosseae* on growth of *Zea mays*. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol 6:045014. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/6/4/045014>.
- Rfaki A, Zennouhi O, Aliyat FZ, Nassiri L, Ibijbijen J (2020) Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in Moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). Geomicrobiol J 37:230–241. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>.
- Richardson AE, Lynch JP, Ryan PR, Delhaize E, Smith FA, Smith SE, Harvey PR, Ryan MH, Veneklaas EJ, Lambers H, Oberson A, Culvenor RA, Simpson RJ (2011) Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. Plant Soil 349:121–156. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0950-4>.
- Richardson AE, Simpson RJ (2011) Soil microorganisms mediating phosphorus availability. Plant Physiol 156:989–996. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175448>.
- Rodrigues JD, Jadoski CJ, Fagan EB, Ono EO, Soares LH, Dourado Neto D (2018) Fisiologia da Produção de Cana-de-Açúcar. ANDREI, São Paulo, Brazil.
- Römheld V (1991) The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: an ecological approach. Plant Soil 130:127–134.
- Römheld V, Marschner H (1986) Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. Plant Physiol 80:175–180. <https://doi.org/10.1104/pp.80.1.175>.
- Rosa PAL, Galindo FS, Oliveira CES, Jalal A, Mortinho ES, Fernandes GC, Marega EMR, Buzetti S, Texeira Filho MCM (2022) Inoculation with plant growth-promoting bacteria to reduce phosphate fertilization requirement and enhance

- technological quality and yield of sugarcane. *Microorganisms* 10:192. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010192>.
- Rosa PAL, Mortinho ES, Jalal A, Galindo FS, Buzetti S, Fernande GC, Barco Neto M, Pavinato PS, Teixeira Filho MCM (2020) Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. *Front Environ Sci* 8:32. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00032>.
- Rosolem CA, Assis JS, Santiago AD (1994) Root growth and mineral nutrition of corn hybrids as affected by phosphorus and lime. *Commun Soil Sci Plant Anal* 25:249–254. <https://doi.org/10.1080/00103629409369202>.
- Roy ED, Richards PD, Martinelli LA, Della Coletta L, Lins SRM, Vazquez FF, Willig E, Spera SA, VanWey LK, Porder S (2016) The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. *Nat Plants* 2:2–7. <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.43>.
- Sabaté DC, Brandán CP (2022) *Bacillus amyloliquefaciens* strain enhances rhizospheric microbial growth and reduces root and stem rot in a degraded agricultural system. *Rhizosphere* 22:100544. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100544>.
- Sabaté DC, Petroselli G, Erra-Balsells R, Audisio MC, Brandan CP (2020) Beneficial effect of *Bacillus* sp. P12 on soil biological activities and pathogen control in common bean. *Biol Control* 141:104131. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104131>.
- Saeid A, Prochownik E, Dobrowolska-Iwanek J (2018) Phosphorus Solubilization by *Bacillus* Species. *Molecules* 23:2897. <https://doi.org/10.3390/molecules23112897>.
- Safirzadeh S, Chorom M, Enayatizamir N (2019) Effect of phosphate solubilising bacteria (*Enterobacter cloacae*) on phosphorus uptake efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Soil Res* 57:333–341. <https://doi.org/10.1071/SR18128>.
- Saini VK, Bhandari SC, Tarafdar JC (2004) Comparison of crop yield, soil microbial C.N. and P, N-fixation, nodulation and mycorrhizal infection in inoculated and non-inoculated sorghum and chickpea crops. *Field Crops Res* 89:39–47.
- Sant’Ana EP, Sant’Ana EVP, Fageria NK, Freire AB (2003) Utilização de fósforo e características do sistema radicular e da parte aérea da planta de arroz. *Ciênc Agrotec* 27:370–381. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542003000200017>.

- Santi C, Bogusz D, Franche C (2013) Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Ann Bot* 111:743–767. <https://doi.org/10.1093/aob/mct048>.
- Santos HG, Jacomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbrreras JF, Coelho MR, Almeida JA, Araújo-Filho JC, Oliveira JB, Cunha TJF (eds) (2018) Sistema brasileiro de classificação de solos, 5th ed. Embrapa Solos, Brasília, DF, Brazil.
- Santos HL, Silva GF, Carnietto MRA, Oliveira LC, Nogueira CHC, Silva MA (2022) *Bacillus velezensis* associated with organomineral fertilizer and reduced phosphate doses improves soil microbial-chemical properties and biomass of sugarcane. *Agronomy* 12:2701. <https://doi.org/10.3390/agronomy12112701>.
- Santos SG, Chaves VA, Ribeiro, FS, Alves GC, Reis VM (2019) Rooting and growth of pre-germinated sugarcane seedlings inoculated with diazotrophic bacteria. *Appl Soil Ecol* 133:12–23. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.015>.
- Sato S, Comerford NB (2006) Organic anions and phosphorus desorption and bioavailability in a humid Brazilian ultisol. *Soil Sci* 171:695–705. <https://doi.org/10.1097/01.ss.0000228043.10765.79>.
- Schiessl KT, Janssen EML, Kraemer SM, McNeill K, Ackermann M (2017) Magnitude and mechanism of siderophore-mediated competition at low iron solubility in the *Pseudomonas aeruginosa* pyochelin system. *Front Microbiol* 8:1964. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01964>.
- Schultz P, Urban NR (2008) Effects of bacterial dynamics on organic matter decomposition and nutrient release from sediments: A modeling study. *Ecol Model* 210:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.06.026>.
- Seleiman MF, Santanen A, Mäkelä P (2020) Recycling sludge on cropland as fertilizer- Advantages and risks. *Resour Conserv Recycl* 155:104647. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104647>.
- Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA (2013a) Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus* 2:587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>.
- Sharma SK, Ramesh A, Johri BN (2013b) Isolation and characterization of plant growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens* strain sks_bnj_1 and its influence on rhizosphere soil properties and nutrition of soybean (*Glycine max* L. Merrill). *J Virol Microbiol* 2013:1–19. <https://doi.org/10.5171/2013.446006>.

- Shen H, He X, Liu Y, Chen Y, Tang J, Guo T (2016) A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets. *Front Microbiol* 7:841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00841>.
- Shukla AK (2019) Ecology and Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Landscape. In: Singh AK, Kumar A, Singh PK (eds) PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture: Food Security and Environmental Management. Woodhead Publishing, Duxford, United Kingdom, pp 1-14.
- Siddiqui MY, Glass ADM (1981) Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. *J Plant Nutr* 4:289–302. <https://doi.org/10.1080/01904168109362919>.
- Silva EE, Azevedo PHS, De-Polli H (2007) Determinação da Respiração Basal (RBS) e Quociente Metabólico do Solo (qCO₂). Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. (Technical Bulletin, 225).
- Siwik-Ziomek A, Szczepanek M (2019) Soil extracellular enzyme activities and uptake of N by oilseed rape depending on fertilization and seaweed bio-stimulant application. *Agronomy* 9:480. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090480>.
- Skujins J (1973) Dehydrogenase: An indicator of biological activities in arid soils. *Bull Ecol Res Commun* 17:235–241.
- Sobucki L, Ramos RF, Meireles LA, Antonioli ZI, Jacques RJS (2021) Contribution of enzymes to soil quality and the evolution of research in Brazil. *Rev Bras Cienc Solo* 45:e0210109. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20210109>.
- Soumya PR, Sharma S, Meena MK, Pandey R (2021) Response of diverse bread wheat genotypes in terms of root architectural traits at seedling stage in response to low phosphorus stress. *Plant Physiol Rep* 26:152–161. <https://doi.org/10.1007/s40502-020-00540-6>.
- Subramanian KS, Manikandan A, Thirunavukkarasu M, Rahale CS (2015) Nano-fertilizers for Balanced Crop Nutrition. In: Rai M, Ribeiro C, Mattoso L, Duran N (eds) Nanotechnologies in Food and Agriculture. Springer, Cham, Switzerland, pp 69–80.
- Suleman M, Id SY, Rasul M, Yahya M, Atta M, Mirza MS (2018) Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS One* 9:e0204408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>.

- Suman A, Gaur A, Shrivastava AK, Yadav R (2005) Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Glucanacetobacter diazotrophicus*. *Plant Growth Regul* 47:155–162. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-2847-9>.
- Sykes AG (1985) Tilden Lecture. Structure and electron-transfer reactivity of the blue copper protein plastocyanin. *Chem Soc Rev* 14:283–315. <https://doi.org/10.1039/CS9851400283>.
- Tabatabai MA, Bremner JM (1969) Arylsulfatase activity of soils. *Soil Sci Soc Am Proc* 34:225–229. <https://doi.org/10.2136/sssaj1970.03615995003400020016x>.
- Tahat MM, Alananbeh KM, Othman YA, Leskovar DI (2020) Soil health and sustainable agriculture. *Sustainability* 12:4859. <https://doi.org/10.3390/su12124859>.
- Tennant D (1975) A test of a modified line intercept method of estimating root length. *J Ecol Appl* 63:995–1001. <https://doi.org/10.2307/2258617>.
- Tonini D, Saveyn HGM, Huygens D (2019) Environmental and health co-benefits for advanced phosphorus recovery. *Nat Sustain* 2:1051–1061. <https://doi.org/10.1038/s41893-019-0416-x>.
- Van Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC (1997) *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil (Boletim técnico, 100).
- van Raij B, Quaggio JA, Cantarella H, Abreu CA (2001) Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional. In: van Raij B, Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA (eds) *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil, pp 5–39.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biol Biochem* 19:703–707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6).
- Vitousek P (1982) Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *Am Nat* 119:553–572.
- Vitti GC, Luz PHC, Altran WS (2015) Nutrição e Adubação. In: Santos F, Bórem A (eds) *Cana-de-açúcar: do plantio à colheita*. UFV, Viçosa, Brazil, pp 49–79.
- von Wirén N, Römheld V, Morel JL, Guckert A, Marschner H (1993) Influence of microorganisms on iron acquisition in maize. *Soil Biol Biochem* 25:371–376. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90136-Y](https://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90136-Y).

- Walkley A, Black IA (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci* 37:29–38.
- Wang F, Kertesz MA, Feng G (2019a) Phosphorus forms affect the hyphosphere bacterial community involved in soil organic phosphorus turnover. *Mycorrhiza* 29:351–362. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00896-0>.
- Wang J, Zhang Y, Li Y, Wang X (2015) Endophytic microbes *Bacillus* sp. LZR216-regulated root development is dependent on polar auxin transport in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell Rep* 34:1075–1087. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1766-0>.
- Wang S, Zhou K, Mori T, Mo J, Zhang W (2019b) Effects of phosphorus and nitrogen fertilization on soil arylsulfatase activity and sulfur availability of two tropical plantations in southern China. *For Ecol Manag* 453:117613. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117613>.
- Wardle DA, Nicholson KS, Rahman A (1994) Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. *N Z J Agric Res* 37:29–39. <https://doi.org/10.1080/00288233.1994.9513038>.
- Wei M, Zhang M, Huang G, Yuan Y, Fu C, Yu L (2020) Coculture with two *Bacillus velezensis* strains enhances the growth of *Anoectochilus* plants via promoting nutrient assimilation and regulating rhizosphere microbial community. *Ind Crops Prod* 154:112697. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112697>.
- Widdig M, Schleuss PM, Weig AR, Guhr A, Biederman LA, Borer ET, Crawley MJ, Kirkman KP, Seabloom EW, Wragg PD, Spohn M (2019) Nitrogen and phosphorus additions alter the abundance of phosphorus-solubilizing bacteria and phosphatase activity in grassland soils. *Front Environ Sci* 7:185. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00185>.
- Wu KJ, Dumat C, Li HQ, Xia HP, Li ZA, Wu JT (2019) Responses of soil microbial community and enzymes during plantassisted biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate and pyrene. *Int J Phytoremediat* 21:683–692. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556586>.
- Xie X, Pu L, Wang Q, Zhu M, Xu Y, Zhang M (2017) Response of soil physicochemical properties and enzyme activities to long-term reclamation of coastal saline soil,

Eastern China. Sci Total Environ 607–608:1419–1427.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.185>.

Yang T, Lupwayi N, Marc A, Siddique KHM, Bainard LD (2021) Anthropogenic drivers of soil microbial communities and impacts on soil biological functions in agroecosystems. Glob Ecol Conserv 27:e01521.
<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01521>.

Zhang W, Chen XX, Liu YM, Liu DY, Chen XP, Zou CQ (2017) Zinc uptake by roots and accumulation in maize plants as affected by phosphorus application and arbuscular mycorrhizal colonization. Plant Soil 413:59–71.
<https://doi.org/10.1007/s11104-017-3213-1>.

Zhang W, Liu DY, Liu YM, Cui ZL, Chen XP, Zou CQ (2016) Zinc uptake and accumulation in winter wheat relative to changes in root morphology and mycorrhizal colonization following varying phosphorus application on calcareous soil. Field Crop Res 197:74–82.
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.08.010>.

Zhang X, Dong W, Dai X, Schaeffer S, Yang F, Radosevich M, Xu L, Liu X, Sun X (2015) Responses of absolute and specific soil enzyme activities to long term additions of organic and mineral fertilizer. Sci Total Environ 536:59–67.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.043>.

Zheng L, Huang F, Narsai R, Wu J, Giraud E, He F, Cheng L, Wang F, Wu P, Whelan J, Shou H (2009) Physiological and transcriptome analysis of iron and phosphorus interaction in rice seedlings. Plant Physiol 151:262–274.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.141051>.

Zhu J, Li M, Whelan M (2018) Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review. Sci Total Environ 612:522–537.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inoculação de *Bacillus velezensis* UFV 3918 nos minitoletes de cana-de-açúcar, associada ou não a doses reduzidas de fosfato (Bv, Bv+1/3 MAP e Bv+2/3 MAP), melhorou as propriedades microbiológicas do solo, com o aumento da respiração basal do solo e da atividade das enzimas de solo, que juntamente com os fitohormônios produzidos pelas bactérias, estimularam o aumento do volume radicular e, conseqüentemente, favoreceram a absorção e acúmulo de nutrientes na parte aérea, tais como K, P, Fe, B e Cu, e aumentaram a eficiência do uso do S e do Mg. Além da inoculação ter aumentado a atividade da fosfatase ácida, o que possibilitou a solubilização de fosfato e garantiu maiores teores de P no solo, também promoveu maior absorção e acúmulo de Fe na parte aérea, demonstrando um potencial da cepa UFV 3918 de sintetizar sideróforos.

A produção de fitohormônios promotores do crescimento e o aumento da disponibilidade de nutrientes favoreceram o aumento da área foliar e da densidade estomática, proporcionando incrementos nos teores de pigmentos fotossintéticos e na taxa de assimilação de CO₂, fatores que contribuíram para o aumento da eficiência de carboxilação e garantiram o sucesso da produção de biomassa da parte aérea em Bv e Bv+1/3 MAP. Além disso, *B. velezensis* promoveu aumentos nos teores de açúcares e aminoácidos totais e na atividade da fosfatase ácida foliar, refletindo a regulação do metabolismo celular e o potencial de solubilização de fósforo (P).

Neste estudo, o alto teor de P inicial permitiu que inoculação da cepa UFV 3918 dispensasse a adubação fosfatada sem prejudicar a eficiência fotossintética e a produção de biomassa, além de garantir bom desempenho dos indicadores microbiológicos e proporcionar maior acúmulo de P na parte aérea da cana-de-açúcar. Entretanto, de modo geral, à medida que houve aumento das doses de fosfato monoamônico, ocorreu tendência de redução no potencial produtivo e eficiência nutricional, portanto, em solos com teores muito altos de P, recomenda-se o uso de *B. velezensis* isolado ou associado com 1/3 da dose recomendada de MAP.

Esses resultados têm implicações importantes para o ecossistema e para a sustentabilidade, uma vez que o P é um dos nutrientes mais limitantes nos sistemas de cultivo agrícola, especialmente em condições tropicais, além de ser um nutriente finito, insubstituível e altamente demandado pelos canaviais. Portanto, a inoculação com *B. velezensis* UFV 3918 é uma estratégia viável para otimizar o uso de

fertilizantes fosfatados na cultura da cana-de-açúcar e os resultados fornecem apoio a pesquisas futuras que visem reduzir a utilização de fertilizantes fosfatados.

REFERÊNCIAS

- AFZAL, A.; BAHADER, S.; HASSAN, T. U.; NAZ, I.; DIN, A.-u. Rock Phosphate Solubilization by Plant Growth-Promoting *Bacillus velezensis* and Its Impact on Wheat Growth and Yield. **Geomicrobiology Journal**, Nova Iorque, 2022.
- ASOMANING, S.K. Processes and factors affecting phosphorus sorption in soils. *In*: KYZAS, G.; LAZARIDIS, N. **Sorption in 2020s**. IntechOpen: London, 2020. p. 1–15.
- BALD, D. R.; RANGEL, C. P.; VARGAS, A.; GIRÃO, K. T.; PASSAGLIA, L. M. P. Microbiota do solo: A diversidade invisível e a sua importância. **Bio Diverso**, Rio Grande do Sul, v. 1, n. 1, p. 101–131, 2021.
- BASTOS, A. L.; COSTA, J. P. V.; SILVA, I. F.; RAPOSO, R. W. C.; SOUTO, J. S. Influência de doses de fósforo no fluxo difusivo em solos de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 12, n. 2, p. 136–142, 2008.
- BILLAH, M.; MATIULLAH, K.; BANO, A.; HASSAN, T. U.; MUNIR, A.; GURMANI, A. R. Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. **Geomicrobiology Journal**, Nova Iorque, v. 36, n. 10, p. 904–916, 2019.
- BORGES, B. M. M. N.; ABDALA, D. B.; SOUZA, M. F.; VIGLIO, L. M.; COELHO, M. J. A.; PAVINATO, P. S.; FRANCO, H. C. J. Organomineral phosphate fertilizer from sugarcane byproduct and its effects on soil phosphorus availability and sugarcane yield. **Geoderma**, Amsterdã, v. 339, p. 20–30, 2019.
- CAIONE, G.; PRADO, R. M.; CAMPOS, C. N. S.; MODA, L. R.; VASCONCELOS, R. L.; PIZAULO JÚNIOR, J. M. Response of sugarcane in a red ultisol to phosphorus rates, phosphorus sources, and filter cake. **The Scientific World Journal**, Nova Iorque, v. 2–3, p. 1–10, 2015.
- CHUNGOPAST, S.; THONGJOO, C.; ISLAM, A. K. M. M.; YEASMIN, S. Efficiency of phosphate-solubilizing bacteria to address phosphorus fixation in Takhli soil series: a case of sugarcane cultivation, Thailand. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 460, n. 1–2, p. 1–11, 2021.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-Açúcar**, Brasília, DF, v. 6, n. 1, p. 1–58, maio 2019. Safra 2019/20, Primeiro levantamento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar?start=10>. Acesso em: 09 dez. 2022.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-Açúcar**, Brasília, DF, v. 9, n. 2, p. 1–59, ago. 2022. Safra de 2022/23, Segundo levantamento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar?limitstart=0>. Acesso em: 09 dez. 2022.

COSTA, E. M.; LIMA, W.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; SOUZA, F. M. Phosphate-solubilizing bacteria enhance *Oryza sativa* growth and nutrient accumulation in an oxisol fertilized with rock phosphate. **Ecological Engineering**, Amsterdã, v. 83, p. 380–385, 2015.

DASH, N.; PAHARI, A.; DANGAR, T. K. Functionalities of Phosphate-Solubilizing Bacteria of Rice Rhizosphere: Techniques and Perspectives. *In*: SHUKLA, P. **Recent advances in Applied Microbiology**. Singapore: Springer, 2017. p. 151–163.

ESTRADA-BONILLA, G. A.; DURRER, A.; CARDOSO, E. J. B. N. Use of compost and phosphate-solubilizing bacteria affect sugarcane mineral nutrition, phosphorus availability, and the soil bacterial community. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 157, n. 103760, 2021.

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S.C. The importance of early season phosphorus nutrition. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 81, n. 2, p. 211–224, 2001.

HANYABUI, E.; APORI, S. O.; FRIMPONG, K. A.; ATIAH, K.; ABINDAW, T.; ALI, M.; ASIAMA, J. Y.; BYALEBEKA, J. 2020. Phosphorus sorption in tropical soils. **AIMS Agriculture and Food**, Springfield, v. 5, p. 599–616, 2020.

HASSAN, W.; BASHIR, S.; HANIF, S.; SHER, A.; SATTAR, A.; WASAYA, A.; ATIF, H.; HUSSAIN, M. Phosphorus solubilizing bacteria and growth and productivity of mung bean (*Vigna radiata*). **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 49, n. 3, p. 331–336, 2017.

JAISWAL, D.; DE SOUZA, A. P.; LARSEN, S.; LEBAUER, D. S.; MIGUEZ, F. E.; SPAROVEK, G.; BOLLERO, G.; BUCKERIDGE, M. S.; LONG, S. P. Brazilian sugarcane ethanol as an expandable green alternative to crude oil use. **Nature Climate Change**, Londres, v. 7, n. 11, p. 788–792, 2017.

KAUR, G.; REDDY, M. S. Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocal sites. **European Journal of Soil Biology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 61, p. 35–40, 2014.

KHAN, A. A.; JILANI, G.; AKHTAR, M. S.; NAQVI, S. M. S.; RASHEED, M. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Ma'an, v. 1, n. 1, p. 48–58, 2009.

KINGSTON, G. Mineral Nutrition of Sugarcane. *In*: MOORE, P. H.; BOTHA, F. C. (eds.). **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**. New York: Wiley Blackwell, 2014. p. 85–115.

KUMAR, A.; MAURYA, B. R.; RAGHUWANSHI, R.; MEENA, V. S.; ISLAM, M. T. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under Indo-Gangetic plain of India. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova Iorque, v. 36, n. 3, p. 608–617, 2017.

LUCCHESI, A. A. Cana-de-açúcar. *In*: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (eds.). **Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar, seringueira, coco, dendê e oliveira**. Piracicaba: Cosmópolis Stoller do Brasil, 2001. p. 13–45.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Elsevier, 2012.

MATOS, C. H. L.; MELO, V. F.; UCHÔA, S. C. P.; RIBEIRO NASCIMENTO, P. P. R.; PEREIRA, R. A. Phosphorus adsorption in soils under forest and savanna from Northern Amazon, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, PR, v. 38, n. 5, p. 2909–2920, 2017.

MEENA, R. S.; MEENA, V. S.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P. The needs of healthy soils for a healthy world. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdã, v. 102, p. 560–561, 2015.

MENG, X.; HUANG, Q.; XU, J.; GAO, H.; YAN, J. A review of phosphorus recovery from different thermal treatment products of sewage sludge. **Waste Disposal and Sustainable Energy**, Hangzhou, v. 1, p. 99–115, 2019.

MOORE, P. H.; PATERSON, A. H.; TEW, T. Sugarcane: The Crop, the Plant, and Domestication. *In*: MOORE, P. H.; BOTHA, F. C. (eds.). **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**. Oxford, UK: John Wiley & Sons, 2014. v.1, cap. 1, p. 1–15.

MUÑOZ, I.; FLURY, K.; JUNGBLUTH, N.; RIGARLSFORD, G.; CANALS, L.; KING, H. 2014. Life cycle assessment of bio-based ethanol produced from different agricultural feedstocks. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, Heidelberg, v. 19, n. 1, p. 109–119, 2014.

NASCIMENTO, C. A. C.; PAGLIARI, P. H.; FARIA, L. A.; VITTI, G. C. Phosphorus mobility and behavior in soils treated with calcium, ammonium, and magnesium phosphates. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 82, n. 3, p. 622–631, 2018.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. *In*: NOVAIS, R. F.; Alvarez, V. V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (eds.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 471–550.

PINJAI, P.; AYE, P. P.; TAWORNPRUEK, S. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on soil available phosphorus and growth and yield of sugarcane. **Walailak Journal of Science and Technology**, Nakhon Si Thammarat, v. 18, n. 12, p. 10754, 2021.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba, SP: International Plant Nutrition Institute, 2011.

RAIJ, B. van. Fósforo no solo e interação com outros elementos. *In*: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. (eds.). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba, SP: Potafos/Anda, 2004. cap. 3, p. 107–116.

RAIJ, B. van.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, SP: Instituto Agronômico de Campinas, 2001.

RHEINHEIMER, D. S.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema de plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 2, p. 576–586, 2008.

ROSA, P. A. L.; GALINDO, F. S.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; MORTINHO, E. S.; FERNANDES, G. C.; MAREGA, E. M. R.; BUZETTI, S.; TEXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with plant growth-promoting bacteria to reduce phosphate fertilization requirement and enhance technological quality and yield of sugarcane. **Microorganisms**, Basel, v. 10, n. 1, p. 192, 2022.

ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 8, n. 32, p. 1–18, 2020.

ROSSETTO, R. R.; DIAS, F. L. F.; VITTI, A. C.; PRADO JUNIOR, J. P. Q. Fósforo. *In*: DINARDO MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas, SP: Instituto Agronômico de Campinas, 2010. p. 271–288.

SÁ, J. C. M. Adubação fosfatada no sistema plantio direto. *In*: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. (eds.). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba, SP: Potafos/Anda, 2004. cap. 7, p. 201–222.

SAEID, A.; PROCHOWNIK, E.; DOBROWOLSKA-IWANEK, J. Phosphorus Solubilization by *Bacillus* Species. **Molecules**, Basel, v. 23, n. 11, p. 2897, 2018.

SANTOS, H. L.; SILVA, G. F.; CARNIETTO, M. R. A.; OLIVEIRA, L. C.; NOGUEIRA, C. H. C.; SILVA, M. A. *Bacillus velezensis* associated with organomineral fertilizer and reduced phosphate doses improves soil microbial-chemical properties and biomass of sugarcane. **Agronomy**, Basel, v. 12, n. 11, p. 2701, 2022.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springer Plus**, Heidelberg, v. 2, n. 587, p. 1–14, 2013.

SHEN, H.; HE, X.; LIU, Y.; CHEN, Y.; TANG, J.; GUO, T. A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit

(*Actinidia chinensis*) plantlets. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, n. 198, p. 841, 2016.

SILVA, A. M. S.; OLIVEIRA, E. C. A.; WILLADINO, L. G.; FREIRE, F. J.; ROCHA, A. T. Corrective phosphate application as a practice for reducing oxidative stress and increasing productivity in sugarcane. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, CE, v. 50, n. 2, p. 188–196, 2019.

SOBUCKI, L.; RAMOS, R. F.; MEIRELES, L. A.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Contribution of enzymes to soil quality and the evolution of research in Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 45, n. e0210109, p. 1–18, 2021.

SOLTANGHEISI, A.; WITHERS, P.; PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M. R.; ROSSETTO, R.; DO CARMO, J. B.; ROCHA, G. C.; MARTINELLI, L. A. Improving phosphorus sustainability of sugarcane production in Brazil. **Global Change Biology – Bioenergy**, Chichester, v. 11, n. 12, p. 1444–1455, 2019.

SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P. D.; OLIVEIRA, A. L. M. D.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 75, n. 1, p. 33–40, 2016.

TAHAT, M. M.; ALANANBEH, K. M.; OTHMAN, Y. A.; LESKOVAR, D. I. Soil health and sustainable agriculture. **Sustainability**, Basel, v. 12, n. 12, p. 4859, 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2017.

UYSSAL, A.; KANTAR, F. Effect of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* culture on the growth and yield of off-season potato (*Solanum tuberosum* L.). **Acta Agronômica**, Palmira, v. 69, n. 1, p. 26–31, 2020.

WITHERS, P. J. A.; RODRIGUES, M.; SOLTANGHEISI, A.; CARVALHO, T. S.; GUILHERME, L. R. G.; BENITES, V. M.; GATIBONI, L. C.; SOUSA, D. M. G.; NUNES, R. S.; ROSOLEM, C. A.; ANDREOTE, F. D.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.; COUTINHO, E. L. M.; PAVINATO, P. S. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, Londres, v. 8, n. 2537, p. 1–13, 2018.

ZHU, J.; LI, M.; WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review. **Science of the Total Environment**, Amsterdã, v. 612, p. 522–537, 2018.

ZOHAIB, A.; YOUSAF, S.; ANJUM, S. A.; TABASSUM, T.; ABBAS, T.; MUZAFFAR, W.; IKRAM, W. Growth, allometry and dry matter yield of soybean genotypes in response to seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, Islamabad, v. 32, n. 1, p. 102–109, 2019.

APÊNDICE A – Material suplementar do capítulo 1

Tabela S1 Equações de regressão da altura do colmo, diâmetro do colmo, número de perfilhos e área foliar da cana-de-açúcar sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP) ao longo das épocas de avaliação (30, 60, 90, 120, 150 e 180 DAP).

Tratamentos	Altura do colmo (cm)	Diâmetro do colmo (mm)
TA	$Y = -5,7 \times 10^{-5}x^3 + 1,903 \times 10^{-2}x^2 - 0,7291x + 22,88$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,61 \times 10^{-3}x^2 + 0,4538x - 5,872$ ($R^2 = 0,92$)
TC	$Y = -6,8 \times 10^{-5}x^3 + 2,295 \times 10^{-2}x^2 - 1,030x + 31,88$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,60 \times 10^{-3}x^2 + 0,4410x - 4,218$ ($R^2 = 0,93$)
Bv	$Y = -6,9 \times 10^{-5}x^3 + 2,282 \times 10^{-2}x^2 - 0,8952x + 22,46$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,87 \times 10^{-3}x^2 + 0,5153x - 7,757$ ($R^2 = 0,91$)
Bv+1/3 MAP	$Y = -7,3 \times 10^{-5}x^3 + 2,415 \times 10^{-2}x^2 - 1,098x + 29,94$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,62 \times 10^{-3}x^2 + 0,4533x - 4,964$ ($R^2 = 0,91$)
Bv+2/3 MAP	$Y = -7,1 \times 10^{-5}x^3 + 2,409 \times 10^{-2}x^2 - 1,195x + 37,10$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,63 \times 10^{-3}x^2 + 0,4439x - 3,663$ ($R^2 = 0,94$)
Bv+3/3 MAP	$Y = -7,1 \times 10^{-5}x^3 + 2,334 \times 10^{-2}x^2 - 1,001x + 29,93$ ($R^2 = 0,99$)	$Y = -1,75 \times 10^{-3}x^2 + 0,4767x - 5,109$ ($R^2 = 0,95$)
Tratamentos	Número de perfilhos	Área foliar (cm ²)
TA	$Y = -4,81 \times 10^{-4}x^2 + 0,1325x - 0,925$ ($R^2 = 0,79$)	$Y = -2,14 \times 10^{-1}x^2 + 66,13x - 1.861$ ($R^2 = 0,95$)
TC	$Y = -6,00 \times 10^{-4}x^2 + 0,1510x - 0,625$ ($R^2 = 0,80$)	$Y = -1,63 \times 10^{-1}x^2 + 57,72x - 1.454$ ($R^2 = 0,96$)
Bv	$Y = -5,65 \times 10^{-4}x^2 + 0,1449x - 2,000$ ($R^2 = 0,83$)	$Y = -1,95 \times 10^{-1}x^2 + 68,25x - 1.974$ ($R^2 = 0,95$)
Bv+1/3 MAP	$Y = -4,27 \times 10^{-4}x^2 + 0,1172x - 0,400$ ($R^2 = 0,83$)	$Y = -1,80 \times 10^{-1}x^2 + 61,43x - 1.656$ ($R^2 = 0,96$)
Bv+2/3 MAP	$Y = -6,10 \times 10^{-4}x^2 + 0,1481x - 0,025$ ($R^2 = 0,67$)	$Y = -1,54 \times 10^{-1}x^2 + 55,42x - 1.213$ ($R^2 = 0,99$)
Bv+3/3 MAP	$Y = -3,42 \times 10^{-4}x^2 + 0,0976x - 0,175$ ($R^2 = 0,67$)	$Y = -1,92 \times 10^{-1}x^2 + 64,32x - 1.568$ ($R^2 = 0,98$)

As equações de regressão contemplam o comportamento dos tratamentos ao longo dos períodos de avaliação ao nível de significância de 5%. TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

APÊNDICE B – Materiais suplementares do capítulo 2

Tabela S1 Equações de regressão para os teores de ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), boro (B) e cobre (Cu) nas folhas, bainhas, raízes e colmos da cana-de-açúcar após 180 dias de cultivo, sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP).

Folhas		Bainhas	
Fe	$Y = 7,62 \times 10^{-3}x^2 - 0,2937x + 132,6$ ($R^2 = 0,86$)	$Y = -2,44 \times 10^{-4}x^3 + 4,08 \times 10^{-2}x^2 - 1,482x + 135,8$ ($R^2 = 0,83$)	
Zn	$Y = 2,96 \times 10^{-4}x^2 - 0,0821x + 21,86$ ($R^2 = 0,88$)	$Y = -6,7 \times 10^{-5}x^3 + 9,88 \times 10^{-3}x^2 - 0,3266x + 20,64$ ($R^2 = 0,81$)	
Mn	$Y = 2,2 \times 10^{-4}x^3 + 3,55 \times 10^{-2}x^2 - 1,366x + 124,4$ ($R^2 = 0,75$)	–	
B	–	$Y = 0,0488x + 31,11$ ($R^2 = 0,85$)	
Raízes		Colmos	
Fe	$Y = -7,32 \times 10^{-4}x^3 + 0,1193x^2 - 4,697x + 700,7$ ($R^2 = 0,73$)	–	
Zn	–	$Y = -7 \times 10^{-6}x^3 + 1,07 \times 10^{-3}x^2 - 0,0188x + 11,97$ ($R^2 = 0,70$)	
Mn	–	$Y = 5,3 \times 10^{-3}x^2 - 0,4320x + 95,52$ ($R^2 = 0,70$)	
B	$Y = -1,71 \times 10^{-4}x^2 + 0,0495x + 36,39$ ($R^2 = 0,80$)	–	
Cu	$Y = 7,65 \times 10^{-4}x^2 - 0,0584x + 10,57$ ($R^2 = 0,72$)	–	

As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*). TA: testemunha absoluta; TC: testemunha comercial.

Tabela S2 Equações de regressão para a absorção de macro e micronutrientes por comprimento radicular da cana-de-açúcar cultivada sob tratamentos com e sem inoculação de *B. velezensis* UFV 3918 (Bv) e doses de fosfato monoamônico (MAP), aos 180 dias após o plantio.

Absorção de nutrientes por comprimento radicular	
K	$Y = -9,89 \times 10^{-4}x^2 + 0,1382x + 12,84$ ($R^2 = 0,73$)
N	$Y = -5 \times 10^{-4}x^2 + 0,0737x + 7,18$ ($R^2 = 0,71$)
Ca	$Y = 9 \times 10^{-6}x^3 - 1,63 \times 10^{-3}x^2 + 0,0783x + 3,11$ ($R^2 = 0,94$)
Mg	$Y = -7,40 \times 10^{-5}x^2 + 0,0124x + 1,33$ ($R^2 = 0,90$)
P	$Y = -8,90 \times 10^{-5}x^2 + 0,0126x + 1,22$ ($R^2 = 0,77$)
S	$Y = -5,30 \times 10^{-5}x^2 + 0,0073x + 0,69$ ($R^2 = 0,70$)
Fe	$Y = -7,35 \times 10^{-3}x^2 + 1,4780x + 143,70$ ($R^2 = 0,96$)
Zn	$Y = -1,37 \times 10^{-3}x^2 + 0,1795x + 17,60$ ($R^2 = 0,89$)
Mn	$Y = -4,62 \times 10^{-3}x^2 + 0,8730x + 115,70$ ($R^2 = 0,86$)
B	$Y = -2,87 \times 10^{-3}x^2 + 0,4058x + 32,58$ ($R^2 = 0,88$)
Cu	$Y = -2,69 \times 10^{-4}x^2 + 0,0583x + 7,77$ ($R^2 = 0,93$)

As equações de regressão e o R^2 referem-se à associação entre *B. velezensis* UFV 3918 e doses de MAP ao nível de significância de 5% (*).