

MELINA RODRIGUES ALVES CARNIETTO

**AUMENTO DA TOLERÂNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR À DEFICIÊNCIA HÍDRICA
POR MEIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL**

Botucatu

2022

MELINA RODRIGUES ALVES CARNIETTO

**AUMENTO DA TOLERÂNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR À DEFICIÊNCIA HÍDRICA
POR MEIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL**

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

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva

Botucatu

2022

C289a Carnietto, Melina Rodrigues Alves
Aumento da tolerância da cana-de-açúcar à deficiência hídrica por meio de bactérias promotoras de crescimento vegetal / Melina Rodrigues Alves Carnietto. -- Botucatu, 2022
122 p. : il., tabs., fotos

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

1. Saccharum spp.. 2. Déficit hídrico. 3. Inoculação de micro-organismos. 4. Tipos de solo. 5. Estresse. 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: AUMENTO DA TOLERÂNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR À DEFICIÊNCIA HÍDRICA POR MEIO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

AUTORA: MELINA RODRIGUES ALVES CARNIETTO

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 Virtual)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu UNESP


Profa. Dra. ELIZABETH ORIKA ONO (Participação Virtual)
Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. PAULO ALEXANDRE MONTEIRO DE FIGUEIREDO (Participação Virtual)
Diretoria Geral da FCAT / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Botucatu, 24 de fevereiro de 2022

Aos meus amados pais Renata e Eduardo,

por todo amor e dedicação que me deram

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo infinito e incondicional amor, que me sustentou com saúde e amparou minhas angústias.

Aos meus queridos pais, Eduardo Aparecido Carnietto e Renata Aparecida Rodrigues Alves Carnietto pela base que me deram, pelo amor, apoio e incentivo incondicional em toda minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva, por ter confiado em meu potencial, por todos ensinamentos, paciência, companheirismo em todos estes anos.

À Faculdade de Ciências Agronômicas, e ao Departamento de Produção Vegetal por ter me acolhido durante a minha formação e pela oportunidade de realizar o Mestrado.

A todo suporte recebido pelos funcionários do Departamento de Produção Vegetal.

Aos companheiros e amigos da pós graduação, em especial, Hariane Luiz Santos, Karolyne Silva, Gabriel Germino, Vicente Silva e Carol Ruv, os quais foram essenciais em todas as etapas do meu trabalho e por terem tornado tudo mais leve. Toda gratidão pelos ensinamentos, ajuda, amizade e por me amparem nos momentos mais difíceis.

Aos estagiários do Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura (LECA), em especial, Davi Sartori, Laura Galvão, Laura Sciencia, Bruno Berto e Isabeli Bottura, os quais me ajudaram muito em diversas etapas da realização do trabalho.

À minha irmã Maria Eduarda, por toda ajuda e por sempre tentar me animar.

Ao Daniel Menegon, pela amizade incontestável, apoio e por me socorrer em momentos que eu precisei.

Às minhas amigas Carol, Nathália, Nayara e Giovana por se fazerem presentes mesmo quando estive ausente.

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

Agradecimento à CHR Hansen Holding A/S pelo financiamento da pesquisa.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para minha formação pessoal e acadêmica.

RESUMO

Dentre os fatores que asseguram o bom desempenho para a cana-de-açúcar, está a absorção de umidade do solo, sendo que um dos principais problemas que afetam a cultura é o déficit hídrico na fase inicial do desenvolvimento. Atualmente o estudo do uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem apresentado bons resultados a fim de contornar esse problema, conferindo tolerância a estresses bióticos e abióticos, entre outros benefícios. Esse estudo se propôs a investigar os efeitos da deficiência hídrica em cana-de-açúcar discriminando as diferentes respostas biométricas, fisiológicas e bioquímicas da planta aos tratamentos sem e com inoculação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*. Foi conduzido um experimento em casa de vegetação utilizando a variedade RB855536, em dois tipos de solos, argiloso e arenoso, e dois regimes hídricos (com e sem déficit hídrico), e com e sem BPCV, com seis repetições, num delineamento fatorial em blocos inteiramente casualizados. As BPCV foram aplicadas nas gemas no momento do plantio e o déficit hídrico foi implementado dos 120 aos 135 dias após o plantio (DAP), seguido de reidratação. As avaliações biométricas, fisiológicas e coletas para análises bioquímicas foram realizadas em cinco épocas, dos 118 aos 147 DAP. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$). As BPCV influenciaram nas trocas gasosas e na densidade estomática, houve redução do conteúdo de pigmentos fotossintéticos e potencial hídrico foliar e ao final das avaliações o teor relativo de água foi superior em tratamentos inoculados. Houve ativação do sistema antioxidante aumentando a atividade da superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, enquanto o conteúdo de prolina foi menor em tratamentos inoculados. As BPCV aumentaram as médias de parâmetros biométricos, como altura das plantas, diâmetro dos perfilhos, comprimento e largura das folhas +1 e +3, número de folhas e área foliar. A inoculação aumentou também, a massa de matéria seca da raiz (MSR) e a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA). Observou-se também, redução da razão MSPA/MSR, incrementando o desenvolvimento do sistema radicular em relação a parte aérea. Os efeitos da inoculação foram benéficos em ambos os tipos de solo. A inoculação com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* aumentou a tolerância da cana-de-açúcar à deficiência hídrica por diversos mecanismos.

Palavras-chave: *Saccharum* spp.; déficit hídrico; inoculação de micro-organismos; tipos de solo

ABSTRACT

Among the factors that ensure a good performance for sugarcane is the absorption of soil moisture, and one of the main problems that affect the culture is the water deficit in the initial phase of development. Currently, the study of the use of plant growth-promoting bacteria (PGPB) has shown good results in order to circumvent this problem, conferring tolerance to biotic and abiotic stresses, among other benefits. This study aimed to investigate the effects of water deficit in sugarcane, discriminating the different biometric, physiological and biochemical responses of the plant to treatments without and with inoculation of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. An experiment was carried out in a greenhouse using the variety RB855536, in two types of soils, clayey and sandy, and two water regimes (with and without water deficit), and with and without PGPB, with six replications, in a block factorial design. entirely randomized. The PGPB were applied to the buds at the time of planting, the water deficit was implemented from 120 to 135 days after planting (DAP), followed by rehydration. Biometric and physiological assessments and collections for biochemical analyzes were performed at five times, from 118 to 147 DAP. Data were submitted to analysis of variance and means were compared by Tukey's test ($P < 0.05$). The PGPB influenced gas exchange and stomatal density, there was a reduction in the content of photosynthetic pigments and leaf water potential, at the end of the evaluations the relative water content was higher in inoculated treatments. There was activation of the antioxidant system increasing the activity of superoxid dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX), the proline content was lower in inoculated treatments. The PGPB increased the averages of biometric parameters, such as plant height, tiller diameter, length and width of leaves +1 and +3, number of leaves and leaf area, inoculation increased the dry matter of roots (DMR) and dry matter of aerial part (DMAP), there was a decrease in the DMAP/DMR ratio, increasing the development of the root system in relation to the shoot. The inoculation effects were beneficial in both soil types. Inoculation with *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* increased the tolerance of sugarcane under water deficit by several mechanisms.

Keywords: *Saccharum* spp.; water deficit; inoculation of micro-organisms; soil types

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Temperatura máxima, média e mínima e umidade relativa do ar (%).....	39
Figura 2 - Disposição das gemas e aplicação das bactérias promotoras de crescimento vegetal no plantio	42
Figura 3 - Medidor portátil ProCheck.....	43
Figura 4 - Aspecto visual da densidade estomática da face abaxial das folhas de cana-de-açúcar cultivadas em solo argiloso, visualizados em microscópio, nas diferentes avaliações (118; 126; 140; 147 DAP). Sem inoculação e sem déficit hídrico (A); sem inoculação e com déficit hídrico (B); com inoculação e sem déficit hídrico (C) e com inoculação e com déficit hídrico (D)	64
Figura 5 - Aspecto visual da parte aérea da cana-de-açúcar em solo argiloso aos 147 DAP, comparando os tratamentos, em que: , T1: tratamento sem inoculação de Bacillus sp. e sem déficit hídrico; T2: tratamento sem inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico; T3: tratamento com inoculação de Bacillus sp. e sem déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico.....	85
Figura 6 - Aspecto visual da parte aérea da cana-de-açúcar em solo argiloso aos 147 DAP, comparando os tratamentos, em que: T2: tratamento sem inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico	86
Figura 7 - Comparação entre a matéria seca do sistema radicular da cana-de-açúcar em solo argiloso (A) e solo arenoso (B), em que, T1: tratamento sem inoculação de Bacillus sp. e sem déficit hídrico; T2: tratamento sem inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico; T3: tratamento com inoculação de Bacillus sp. e sem déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de Bacillus sp. e com déficit hídrico.....	87
Figura 8 - Mapa comparativo mostrando cada variável avaliada com relação a ação hipotética dos isolados bacterianos em relação ao tratamento controle. Cores distintas representam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). Cor vermelha: menor ou igual o tratamento controle, sem inoculação, independentemente ao regime hídrico e tipo de solo. Cor verde: maior ou igual o tratamento inoculado, independentemente do regime hídrico e tipo de solo. Cor branca: não apresentou diferença significativa para o fator inoculação de Bacillus sp., mas pode ter apresentado interação entre regime hídrico e tipos de solo; X: não foi avaliado no ponto.	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise física do solo.....	41
Tabela 2 - Análise química básica do solo	41
Tabela 3 - Análise de micronutrientes	41
Tabela 4 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> (sem e com bactéria) e regime hídrico (sem e com déficit hídrico (DH)) e aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo (argiloso e arenoso) das médias referentes a taxa de assimilação de CO ₂ (A) em cana de açúcar (126 e 133 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo para A (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo e desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para A (140 DAP)	51
Tabela 5 - Desdobramento da interação entre aplicação de micro-organismos e tipos de solo para resultados referentes a transpiração em cana de açúcar (126, 140 e 147 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo (solo argiloso e solo arenoso) para as médias referentes a taxa de transpiração (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp e regime hídrico; desdobramento para interação entre tipos de solo e regime hídrico para a taxa de transpiração (147 DAP)	53
Tabela 6 - Desdobramento da interação entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo para dados referentes a concentração interna de CO ₂ (C _i) em cana de açúcar (118, 126 e 133 DAP); Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo para C _i (126, 133 e 140 DAP); para C _i (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico para a C _i (140 DAP)	54
Tabela 7 - Desdobramento da interação entre os tratamentos com e sem aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e regime hídrico para a condutância estomática (g _s) em cana de açúcar (126, 133 e 147 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo para g _s (126 e 147 DAP)desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para g _s (133 e 147 DAP)	56
Tabela 8 - Desdobramento da interação entre tipos de solo e regime hídrico para os teores de clorofila a (118; 126 DAP); interação entre aplicação <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico; regime hídrico e tipos de solo (133 DAP); regime hídrico e tipos de solo (140 DAP); interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo (147 DAP)	58
Tabela 9 - Desdobramento das interações entre regime hídrico e tipos de solo (126 DAP); aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico (133 DAP), regime hídrico e tipos de solo (140 DAP); interação entre inoculação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo, e regime hídrico e tipos de solo (147 DAP) para clorofila <i>b</i>	59
Tabela 10 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo (126 DAP); interação entre regime hídrico e aplicação de <i>Bacillus</i> sp., aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo (133 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo (140 DAP) e interação entre regime hídrico e <i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo (147 DAP) para teores de carotenoides.....	60
Tabela 11 - Desdobramento da interação entre inoculação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo para o índice SPAD em cana de açúcar (126 e 133 DAP); desdobramento das	

interações com e sem aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico (com e sem DH) para o índice SPAD (133 DAP) e desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para as médias de Índice SPAD (133 e 140 DAP)	61
Tabela 12 - Desdobramento da interação entre aplicação <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico referente as médias de densidade estomática na face abaxial da folha de cana de açúcar (118, 126, 140 e 147 DAP); desdobramento da interação entre aplicação <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo e desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo, referente as médias de densidade estomática na face abaxial da folha (147 DAP)	62
Tabela 13 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e regime hídrico (126 e 140 DAP); inoculação de micro-organismos e tipos de solo para potencial hídrico foliar em cana de açúcar(126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação entre tipos de solo e regime hídrico para potencial hídrico foliar (133 e 140 DAP)	66
Tabela 14 - Desdobramento da interação entre regime hídrico (sem e com déficit hídrico) e tipos de solo (solo argiloso e solo arenoso) para teor relativo de água foliar (126, 133 e 140 DAP)	67
Tabela 15 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo para atividade da superóxido dismutase (SOD) em cana de açúcar (126 e 140 DAP); desdobramentos das interações entre todos os fatores referentes a atividade da SOD aos (133 DAP); desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para atividade da SOD (140 DAP)	69
Tabela 16 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e tipos de solo para a atividade da catalase (CAT) em cana de açúcar (126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação regime hídrico (sem e com DH) e tipos de solo para a atividade da CAT (126 e 140 DAP); desdobramento das interações entre inoculação de <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico para a atividade da CAT (133 DAP)	71
Tabela 17 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e regime hídrico (sem e com DH) para atividade da ascorbato peroxidase (APX) em cana de açúcar (126 DAP); aplicação de micro-organismos e tipos de solo para atividade da APX (126, 133 e 140 DAP).....	73
Tabela 18 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo para teor de prolina em cana de açúcar (126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para prolina (126 e 133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e regime hídrico (133 DAP)	74
Tabela 19 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para número de perfilhos em cana de açúcar (133, 140 e 147 DAP); .	76
Tabela 20 - Desdobramento da interação entre inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e regime hídrico para altura dos perfilhos em cana-de-açúcar (140 DAP)	77

Tabela 21 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e regime hídrico referentes as médias do diâmetro de perfilhos de cana-de-açúcar (126 DAP).....	77
Tabela 22 - Desdobramento da interação entre inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e tipos de solo para comprimento da folha +1 de cana-de-açúcar (147 DAP).....	79
Tabela 23 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para largura da folha +1, (133 e 140 DAP).....	80
Tabela 24 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para comprimento da folha +3 para cana-de-açúcar (147 DAP)	81
Tabela 25 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo e, interação entre regime hídrico e tipos de solo para largura da folha +3 em cana-de-açúcar (133 DAP).....	81
Tabela 26 - Desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para área foliar de cana-de-açúcar (126 DAP) e desdobramento da interação entre inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e tipos de solo para área foliar (133 DAP).....	83
Tabela 27 - Desdobramento da interação entre inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i> e tipos de solo para comprimento dos perfilhos em cana-de-açúcar (147 DAP).....	84
Tabela 28 - Desdobramento da interação entre aplicação de <i>Bacillus</i> sp. e tipos de solo na variável MSPA de cana-de-açúcar (147 DAP).....	85
Tabela 29 - Desdobramento da interação entre aplicação de micro-organismos e regime hídrico para a razão MSPA/MSR em cana-de-açúcar.....	87

LISTA APÊNDICES

- APÊNDICE 1** – Análise de variância de parâmetros fisiológicos: taxa de assimilação de CO₂ (*A*), concentração interna de CO₂ (*C_i*), taxa de transpiração (*E*) e condutância estomática (*g_s*) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP...111
- APÊNDICE 2** – Análise de variância dos pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), carotenoides (Carot.) e índice SPAD em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.....112
- APÊNDICE 3** – Análise de variância da densidade estomática abaxial (ABA) e adaxial (ADA) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.....113
- APÊNDICE 4** – Análise de variância do potencial hídrico foliar e do teor relativo de água na folha de cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso, aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.....114
- APÊNDICE 5** – Análise de variância de parâmetros bioquímicos, enzima ascorbato peroxidase (APX); catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e osmoprotetor prolina em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não

inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP)115

APÊNDICE 6 – Análise de variância de parâmetros biométricos: número de hastes (Nº de hastes); altura dos perfilhos (Alt. dos perfilhos); diâmetro dos perfilhos; número de folhas (Nº de folhas); área foliar em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.....116

APÊNDICE 7 – Análise de variância dos parâmetros biométricos: comprimento da folha +1 (Comp. Folha +1); largura da folha +1 (Larg. Folha +1); comprimento da folha +3 (Comp. Folha +3); largura da folha +3 (Larg. Folha +3); comprimento das hastes (Comp. Das hastes) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.....117

APÊNDICE 8 – Análise de variância da massa de matéria seca da raiz (MSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e razão MSPA/MSR em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. aos 147 DAP.....118

APÊNDICE 9 – Aspecto visual do experimento com cana-de-açúcar no início do ciclo, cerca de 30 dias após o plantio, Botucatu-SP, 2019.....119

APÊNDICE 10 – Vista parcial do experimento em casa de vegetação, Botucatu-SP, 2019.....119

APÊNDICE 11 – Avaliação biométrica com fita métrica (A); avaliação biométrica da variável diâmetro da haste, com auxílio do paquímetro digital (B); Avaliação fisiológica utilizando o equipamento IRGA (C); Coleta da folha +1 para análises bioquímicas, utilizando embalagens de papel alumínio e acondicionando a folha em nitrogênio líquido, Botucatu-SP, 2019.....120

APÊNDICE 12 – Avaliação do potencial hídrico foliar (A); pesagem dos discos foliares em balança analítica para obtenção do teor relativo de água (B); análises da densidade estomática em microscópio (C); aspecto visual da câmara do microscópio para quantificação da densidade estomática (D), Botucatu-SP, 2019.....121

APÊNDICE 13 – 100 mg de folha +1 em cadinho de porcelana para preparo de soluções para posteriores análises bioquímicas (A); folha sendo macerada para preparo do extrato que será feita leitura de enzimas (B); preparo do extrato; diferença visual entre um extrato de uma folha hidratada e uma folha sob pico de estresse hídrico (D); curva padrão de prolina (E); preparo de extratos de prolina (F); curva padrão da proteína (G); atividade em laboratório, confecção de extratos para análises bioquímicas (H).....122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
O ₂	Oxigênio	
ABA	Abaxial, referente a densidade estomática	
ADA	Adaxial, referente a densidade estomática	
APX	Ascorbato peroxidase	U mg proteína ⁻¹
ATP	Adenosina trifosfato	
BPCV	Bactérias promotoras do crescimento vegetal	
CC	Capacidade de campo	
cm	centímetros	
C4	Metabolismo fotossintético que tem como primeiro produto estável da fotossíntese, um composto de 4 carbonos	
CAT	Catalase	
Ci	Concentração intracelular de CO ₂	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
CO ₂	Dióxido de carbono	
CTC	Capacidade de troca catiônica	
DAP	Dias após o plantio	
E	Transpiração	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético	
ERO	Espécie reativa de oxigênio	
FV	Fontes de variação	
gs	Condutância estomática	$\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio	
IRGA	Infrared gas analyzer – analisador de gás por infravermelho	
IRS	Indução da resistência sistêmica	
m	Metros	
mm	Milímetros	
M.O.	Matéria orgânica	
MPa	Mega Pascal	
MSPA	Massa de matéria seca da parte aérea	g
MSR	Massa de matéria seca da raiz	g
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato	
O ₂ ^{o-}	Íon superóxido	

OH [•]	Radical hidroxila	
P	Fósforo	
P5C	Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato	
PSII	Fotossistema II	
PVPP	Polivinilpolipirrolidona	
SOD	Superóxido dismutase	U mg proteína ⁻¹
SPAD	Soil Plant Analysis Development, indica o índice relativo de clorofila	
TRA	Teor relativo de água	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1 A cultura da cana-de-açúcar	29
2.3 Déficit hídrico na cana-de-açúcar.....	31
2.4 Mecanismos fisiológicos, bioquímicos e biométricos	32
2.4.1 Pigmentos fotossintéticos	32
2.4.2 Densidade e condutância estomática	33
2.4.3 Potencial hídrico foliar	33
2.4.4 Teor relativo de água na folha	33
2.4.5 Atividade de enzimas antioxidantes e teor prolina sob déficit hídrico	33
2.4.6 Bactérias promotoras do crescimento vegetal	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Caracterização do local do experimento	39
3.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos	39
3.3 Tratamentos de regimes hídricos.....	42
3.4 Variáveis fisiológicas.....	43
3.4.1 Trocas gasosas	43
3.4.2 Pigmentos fotossintéticos	44
3.4.3 Índice SPAD.....	44
3.4.4 Densidade estomática	44
3.4.5 Potencial hídrico	45
3.4.6 Teor relativo de água	45
3.5 Variáveis bioquímicas	46
3.6 Variáveis biométricas	48
3.7 Variáveis de produção de massa de matéria seca.....	48
3.8 Análise estatística.....	49
4 RESULTADOS	50
4.1 Trocas gasosas.....	50
4.2 Pigmentos fotossintéticos e Índice SPAD	57
4.3 Densidade estomática	61
4.4 Potencial hídrico foliar e teor relativo de água.....	64
4.5 Variáveis bioquímicas	67
4.6 Variáveis biométricas	75
4 Variáveis de produção de biomassa	84
5 DISCUSSÃO	88
5.1 Considerações finais	94
6 CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS	97
APÊNDICES	111

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) do mundo (CONAB, 2021) e essa cultura gera diversos empregos diretos e indiretos, contribuindo de forma significativa para a macroeconomia nacional, com centenas de subprodutos, sendo que se destaca como uma ótima fonte de energia renovável nas formas de energia da biomassa e cogeração de energia elétrica.

Além da produção de açúcar, energia, biogás, biofertilizante, plástico, produtos utilizados na indústria automobilística, alimentícia, farmacêutica e de cosméticos, a cana-de-açúcar é uma excelente opção à produção de combustíveis renováveis, direcionando a substituição e redução do consumo de combustíveis fósseis, mais sustentável e menos agressivo ao ambiente (RODRIGUES et al., 2018).

Há necessidade de aumentar a produtividade da cana-de-açúcar, o que é possível quando se conhece o ciclo fenológico da cultura e a interação dos fatores ambientais atuando na fisiologia na planta e possibilitando realizar um manejo adequado.

Um dos principais problemas que impactam a cultura é o déficit hídrico na fase inicial do desenvolvimento da planta, sendo responsável por reduzir o crescimento e a produção vegetal, o que afeta diretamente a geração de produtos e empregos (SANTOS; CARLESSO, 1998).

A condição de déficit hídrico é um fator de estresse abiótico muito comum, que promove a alteração de vários aspectos fisiológicos, bioquímicos e biométricos nas plantas (GRAÇA et al., 2010; PINCELLI; SILVA, 2012; BOARETTO et al., 2014). A capacidade de superar as condições de estresse é determinante na sobrevivência das plantas e na produtividade da cultura (LARCHER; 2006).

A evolução da deficiência hídrica da cana-de-açúcar está relacionada com o desenvolvimento do sistema radicular, uma planta com sistema radicular bem desenvolvido se destaca na absorção de umidade do solo. Atualmente, o estudo com o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem apresentado bons resultados a fim de contornar esse problema, conferindo tolerância a estresses bióticos e abióticos, modulando a resposta das plantas aos hormônios vegetais, atuando na solubilização de fosfato, aumentando a atividade do sistema antioxidante, entre outros benefícios (AHEMAD; KIBRET, 2013; BACKER et al., 2018; MUSTAFA et al., 2019).

A finalidade inicial do uso das bactérias é controlar e prevenir doenças de plantas causadas por outros micro-organismos, principalmente nematoides, sendo que a espécie mais utilizada para esse fim é a *Bacillus subtilis* (NEIPP; BECKER, 1999; SAHARAN, 2011; ARAÚJO et al., 2012). Além da capacidade nematicida, a bactéria também atua como promotora do crescimento vegetal, sendo seu uso, uma boa estratégia a favor da agricultura sustentável (ICHIWAKI, 2012).

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar por meio de respostas fisiológicas, bioquímicas e biométricas se plantas de cana-de-açúcar tem sua tolerância ao déficit hídrico aumentada após inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal em dois tipos de solos, argiloso e arenoso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) tem origem nas regiões tropicais do Sul e Sudeste da Ásia, mais especificamente Nova Guiné e Indonésia, e é conhecida desde 6.000 a.C.. Sua produção se estendeu pelo mundo por meio de sua disseminação pelas rotas de imigração humana para o sudeste da Ásia, Índia e Pacífico (RODRIGUES et al., 2018).

A cana-de-açúcar é uma planta alógama, da classe monocotiledônea, família *Poaceae*, tribo *Andropogonae*, pertencente ao gênero *Saccharum*, possui metabolismo do tipo C4. É altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química, sob condições tropicais, tem elevado ponto de compensação luminosa, necessitando menores concentrações de gás carbônico já que a planta consegue concentrar CO₂ nas células do mesófilo e nas células da bainha do feixe vascular. Assim, pode manter os estômatos fechados nos períodos com maior temperatura, o que, necessariamente implica em menores perdas de água (CASTRO et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2013). Com isso, pode-se dizer que as plantas C4 apresentam maior eficiência de uso de água, além da compartimentação de enzimas e às características anatômicas das folhas, tendo como consequência taxa de fotorrespiração baixa ou ausente (TAIZ et al., 2017). A cana-de-açúcar é conhecida como uma cultura muito eficiente para a produção de biomassa, de açúcar e biocombustível (SILVA et al., 2014).

Estudos indicam que a anatomia e morfologia da cana-de-açúcar apoiam a capacidade da planta em acumular sacarose (RAE et al., 2014). Os entrenós contêm células especializadas para a transferência e armazenagem de sacarose (ALEXANDER et al., 1973). A parte superior da planta é formada por entrenós e folhas geradas por um meristema vegetativo apical. A dominância da gema apical é validada pela pausa do desenvolvimento das gemas laterais, que permanecem dormentes, sem a gema apical, as gemas laterais podem se desenvolver e produzir brotos (MAGRO et al., 2011).

Apesar de ser uma planta de reprodução sexuada, quando cultivada comercialmente é comum ser multiplicada assexuadamente por propagação vegetativa das gemas laterais do colmo cortado em pedaços, conhecido como toletes (RAMAIAH et al., 1977). Também se faz o uso de mudas pré-brotadas (MPB), que

consiste basicamente da produção de uma muda de cana advinda de um mini tolete, caracterizado pela parte de um colmo com apenas uma gema com frações laterais de entrenó (LANDELL et al., 2012; MAY; RAMOS, 2019).

A cana-de-açúcar apresenta quatro estádios em sua fenologia conhecidos por: brotação e emergência dos brotos (colmos primários), perfilhamento e estabelecimento da cultura (da brotação das gemas ao final do perfilhamento), período de grande crescimento (do perfilhamento final ao início da acumulação da sacarose) e maturação (intensa acumulação de sacarose nos colmos) (GASCHO; SHIH, 1983; RODRIGUES et al., 2018).

Os fatores abióticos que afetam de maneira mais marcante a bioconversão de energia na cana-de-açúcar são: luz, concentração de CO₂, disponibilidade de água e nutrientes e temperatura (WALDRON et al., 1967). Os números atuais de produção e exportação de cana-de-açúcar refletem o bom momento vivido pelo setor, sendo o Brasil, o maior produtor mundial. A produção brasileira da safra 2020/21 foi 654,527 milhões de toneladas com uma área plantada de aproximadamente 8.616,1 mil hectares, distribuídas em todos os estados produtores conforme suas características climáticas. A estimativa de produção para a safra 2021/2022 é de aproximadamente 628 milhões de toneladas. O estado de São Paulo é o maior produtor com 4.444,2 mil hectares de área plantada, seguido por Goiás com 971,6, Minas Gerais com 854,2, Mato Grosso do Sul, 637,2, Paraná com 518,8, Alagoas, 298,5 e Pernambuco, 233,0 mil ha. Ademais, a produtividade média da safra 2020/21 foi de 75.965 kg ha⁻¹ (CONAB, 2021).

A cana-de-açúcar é adaptável a diversas condições climáticas, porém o potencial de produção pode ser afetado pela variedade e solo. Para obter boas produtividades é necessário um manejo adequado da fertilidade do solo. Se não houver condições ideais de manejo, a planta pode sofrer com deficiência de nutrientes, acarretando em desenvolvimento não satisfatório (ORTOLANI FILHO, 1983).

Visto que, o rendimento desta cultura está relacionada com o teor de sacarose da cana, os programas de melhoramento genético da cultura vêm buscando melhorar este teor com o objetivo de aumentar o teor de sacarose do colmo. Fato este que, limita o conhecimento de estratégias para tolerância da cultura em regiões semiáridas ou em períodos de estiagem e veranicos (VIOLANTE, 2012).

A cultura é de grande importância socioeconômica e ambiental para o país. Para se obter sucesso na atividade canieira, é necessário o conhecimento do ciclo da cultura, tal como a importância da interação dos fatores planta, ambiente de produção e manejo da cultura (SIQUEIRA, 2009).

2.3 Déficit hídrico na cana-de-açúcar

Segundo Taiz e Zeiger (2004), o termo estresse hídrico geralmente é definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta, podendo ocorrer tanto por falta quanto por excesso de água (PINCELLI, 2010). O déficit pode ser definido como todo o conteúdo de água de um tecido ou célula que está abaixo do conteúdo de água existente. Os efeitos podem variar de acordo com a duração e a intensidade do déficit hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2013; GUAN et al., 2015; MAIA JÚNIOR, 2017).

Alguns fatores são limitantes para o cultivo da cana-de-açúcar, destacando-se a deficiência hídrica, que pode impactar na produtividade, ou seja, a deficiência tem se tornado um fator limitante. Assim, é essencial o entendimento das respostas das plantas sob condições de deficiência hídrica (SILVA et al., 2011).

A condição de déficit hídrico é um fator de estresse abiótico comum, que promove a alteração de vários aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos nas plantas. A capacidade de superar as condições de déficit é determinante na sobrevivência das plantas e na produtividade da cultura (LARCHER, 2006; SILVA et al., 2008; BOARETTO et al., 2014).

Na cana-de-açúcar, o déficit pode influenciar nas características biométricas, como número de hastes, altura e diâmetro das hastes, número de folhas, comprimento e largura foliar, variações fisiológicas no índice SPAD, teor relativo de água, potencial hídrico foliar, eficiência fotoquímica, eficiência no fotossistema II (PSII), transporte de elétrons, pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas. Além disso, bioquimicamente, a deficiência hídrica ativa o sistema antioxidante através das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e aumenta o teor de prolina na planta, protegendo os pigmentos fotossintéticos e membranas celulares (SILVA et al., 2008; GILL; TUJELA, 2010; ANJUM et al., 2011, CARVALHO et al., 2014; SILVA et al., 2014; MAIA JÚNIOR, 2017).

A tolerância à seca é um mecanismo que permite a planta manter o metabolismo através da ativação do sistema antioxidante e acúmulo de osmoprotetores, atuando como uma resposta bioquímica-fisiológica capaz de suportar maior período de estresse (MAIA JÚNIOR, 2017).

Os principais efeitos do estresse hídrico são o aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO), redução da absorção de CO₂, danos oxidativos aos cloroplastos, aumento da peroxidação de lipídeos, redução da taxa de transporte de elétrons, redução da eficiência do PSII, aumento da fotoinibição e, conseqüentemente, redução do rendimento final (REDDY; CHAITANYA; VIVEKANANDAN, 2004; GARA et al., 2010).

As espécies reativas de oxigênio são formas reduzidas de oxigênio que podem levar a oxidação de componentes celulares causando estresse oxidativo (GILL; TUTEJA, 2010). A excitação das clorofilas atinge o estado *triplet* (3 Chl*) e quando essa energia não é dissipada forma o oxigênio singlete (¹O₂^{*}) pela reação da 3 Chl* com oxigênio molecular. O PSII fica muito excitado e é inativado formando radicais hidroxila (OH[·]), superóxidos (O₂⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que promovem peroxidação lipídica, pode causar inativação de enzimas e danos nas membranas (SCANDALIOS, 2005; MAIA JÚNIOR, 2017).

2.4 Mecanismos fisiológicos, bioquímicos e biométricos

2.4.1 Pigmentos fotossintéticos

As clorofilas *a* e *b*, e os carotenoides estão envolvidos na fotossíntese, são responsáveis pela captação da energia luminosa para conversão em energia química (TAIZ; ZEIGER, 2013). Na fotossíntese, a clorofila *a* realiza a etapa fotoquímica, enquanto os carotenoides auxiliam na absorção de luz e na transferência de energia radiante para os centros de reação (STREIT et al., 2005).

A energia química produzida pelas plantas, na forma de ATP e NADPH, com a liberação de O₂ aliado à fotossíntese é decorrente da eficiência de captação luminosa das clorofilas. Assim, as clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente com seu crescimento e adaptabilidade as diferentes condições ambientais (SILVA et al., 2011; 2014).

2.4.2 Densidade e condutância estomática

Os estômatos estão associados diretamente com a capacidade fotossintética, e, uma alteração na sua quantidade afeta diretamente a condutância estomática, ou seja, quanto maior a densidade estomática, maior a absorção de CO₂ (ABRANS et al., 1992; EVANS, 1999). O tamanho, a posição e o controle de abertura dos estômatos também irão afetar na absorção de CO₂ (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003).

2.4.3 Potencial hídrico foliar

O potencial hídrico foliar é muito utilizado em estudos das relações hídricas das plantas, embora ocorram variações ao longo do dia, mesmo em plantas hidratadas, esse parâmetro é relevante pois descreve o estado hídrico e energético da planta, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000).

Todos os processos celulares da planta são afetados quando há queda do potencial hídrico foliar. Inicialmente, há perda de turgescência celular, seguido pela redução na divisão e expansão celular, síntese de proteínas, condutância estomática e fotossíntese. Como reflexo dessas interferências, o crescimento e o rendimento produtivo das plantas diminuem efetivamente (TAIZ; ZEIGER, 2013).

2.4.4 Teor relativo de água na folha

O teor relativo de água (TRA) na folha é definido como a quantidade de água de um tecido comparada com a quantidade máxima que ele poderá reter em um dado momento (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A manutenção do TRA é um indicador do grau de hidratação das células e do tecido foliar, sendo um fator crucial para o ótimo funcionamento fisiológico da planta como o controle estomático (GORAI; HACHEF; NEFFATI, 2010). O TRA foi um bom indicativo de tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar, o qual foi mantido nas cultivares mais tolerantes quando estressadas (SILVA et al., 2013).

2.4.5 Atividade de enzimas antioxidantes e teor prolina sob déficit hídrico

A tolerância ao déficit hídrico está associada ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes para manutenção de níveis baixos de ERRO, reduzindo a peroxidação de lipídeos e mantendo a concentração de pigmentos fotossintéticos,

resultando em menor inibição do PSII nas cultivares mais tolerantes ao estresse hídrico (MAIA JÚNIOR, 2017).

A superóxido dismutase (SOD) é uma das enzimas antioxidativas, está presente nos cloroplastos, e é a primeira na linha de defesa contra as ERO nas células vegetais. Essa enzima atua na dismutação de dois $O_2^{\circ-}$ (íon superóxido) para O_2 e H_2O_2 , controlando a concentração de $O_2^{\circ-}$ e prevenindo a formação do radical hidroxila (OH°) (BOWLER, 1992). A SOD está presente em todos os compartimentos celulares sensíveis ao estresse oxidativo, já que os íons superóxido são sintetizados em compartimentos que apresentam transporte de elétrons (MITLLER, 2002).

A enzima ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima presente em todos os compartimentos celulares de síntese de ERO e age como um regulador de H_2O_2 em nível celular, convertendo-o em água (SHARMA et al., 2012). A APX tem o ácido ascórbico como redutor. A APX juntamente com a catalase (CAT) desempenham importantes funções na produção de ERO sob déficit hídrico. Sob estresse hídrico leve a moderado a remoção de H_2O_2 é realizada preferencialmente pelo ascorbato, sob estresse severo a atividade da catalase é acionada (CRUZ DE CARVALHO, 2008).

A enzima CAT está localizada nos glioxissomas, peroxissomas e mitocôndrias, e é responsável pela remoção do excesso de ERO durante o estresse, atuando na conversão do H_2O_2 em água e oxigênio molecular, liberado durante a β -oxidação de ácidos graxos ou durante a fotorrespiração (MITTLER, 2002; GILL; TUTEJA, 2010). A CAT atua sem agente redutor, sendo eficiente para a remoção do H_2O_2 das plantas (SHARMA et al., 2012). Quanto mais severas as condições de estresse, maiores os níveis de H_2O_2 , conseqüentemente, maior a atividade da CAT (GILL; TUTEJA, 2010).

A prolina é um aminoácido resultante do aumento no fluxo de glutamato via P5C (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato), que é metabolizado pela enzima P5CS (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato sintetase) e P5CR (Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato redutase). Durante a síntese, a razão $NADP^+/NADPH$ torna-se mais estável, auxiliando na restauração do aceptor final da cadeia transportadora de elétrons, com isso, a síntese pode proteger contra fotoinibição sob estresse hídrico, regulando o potencial redox nas células (FICHMAN et al., 2015).

Com o avanço do estresse, o teor de prolina aumenta e se houver reidratação ocorre uma redução no teor, portanto, a prolina é uma molécula indicadora e protetora de plantas estressadas e ajuda a manter a turgescência celular sob estresse (YOSHIBA et al., 1997).

As plantas reidratadas expressam genes codificadores de proteínas que degradam a prolina, porém os genes que sintetizam a prolina são mantidos até que a planta se recupere, a prolina é importante na restauração dos cloroplastos após o estresse já que altas concentrações de prolina expressam o gene envolvido na síntese do mRNA do cloroplasto (MAIA JÚNIOR, 2017).

2.4.6 Bactérias promotoras do crescimento vegetal

As bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) chamaram atenção porque os resultados são promissores, não apenas associadas a ganhos em relação à adubação mineral, mas apresentando múltiplos benefícios, com diversos mecanismos de ação que beneficiam as plantas, conferindo maior tolerância ao estresse hídrico, resultando em melhor desenvolvimento e produtividade (GLICK, 2012; AHEMAD; KIBRET, 2013; TEWARI; ARORA, 2013).

A associação BPCV-hospedeiro é baseada em uma troca de benefícios. A planta fornece nutrientes orgânicos para a bactéria que, por sua vez, fornece proteção e outros nutrientes para a planta (BACKER et al., 2018). São inúmeros os mecanismos pelos quais uma BPCV beneficia seu hospedeiro. Esses mecanismos são classificados como diretos ou indiretos (RHO et al., 2018).

Os mecanismos diretos englobam a produção e a secreção de uma série de compostos que agem de modo a aumentar a disponibilidade de nutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P) e ferro (Fe), incluindo fitoestimulação, além de reduzir o potencial deletério de patógenos de solo (GRAY; SMITH, 2005; WEI et al., 2014; GLICK, 2015; SANTOYO et al., 2016).

Já os mecanismos indiretos envolvem um diálogo químico com a planta que, têm como resultado, o redirecionamento do metabolismo vegetal, sendo agentes de biocontrole que antagonizam o crescimento e a sobrevivência de fitopatógenos pela produção de substâncias antagonistas ou pela indução de resistência sistêmica (IRS) em toda a planta contra patógenos e inibindo o ataque subsequente por patógenos através da resistência sistêmica adquirida (SAR) (VAN LOON, 2007; LUGTENBERG; VURUKONDA et al., 2015; TIWARI et al., 2017; MUSTAFA et al., 2019).

Como consequência das alterações, a planta se torna mais tolerante ao estresse e as perdas em crescimento e produção são reduzidas, aliviando o efeito negativo do estresse hídrico, diminuindo os danos oxidativos (FERREIRA et al., 2018).

BPCV produzem várias substâncias antagônicas para sua defesa, como antibióticos, que são moléculas orgânicas de baixa massa molecular que atuam inibindo as atividades metabólicas de outros micro-organismos. Além disso, as bactérias promotoras de crescimento vegetal sintetizam várias enzimas hidrolíticas, por exemplo, protease, lipase, glucanase, quitinase e celulases para suprimir a taxa de crescimento de fitopatógenos (SINGH et al., 1999; FRANKOWSKI et al., 2001).

Os genes da citocinina são evidentemente expressos em muitas BPCV. As citocininas estimulam a divisão celular (citocinese) e também, o desenvolvimento de gemas laterais. Esses hormônios vegetais são produzidos nas raízes e transportados através do xilema para todas as partes da planta (KANG et al., 2010).

Algumas espécies de bactérias possuem a capacidade de reduzir ou bloquear a síntese de etileno pela ação da enzima ACC desaminase, que degrada a ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico), precursor imediato da síntese do etileno (O'DONNELL et al., 1996; SIDDIKEE et al., 2011; RASHID; CHARLES; GLICK, 2012; LIM; KIM, 2013; NARULA et al., 2013; COUTINHO et al., 2015; PANDYA; RAJPUT; RAJKUMAR, 2015; SAINI et al., 2015). As cepas de rizobactérias com atividade ACC desaminase são amplamente distribuídas entre diferentes gêneros, incluindo *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* e *Rhizobium* (SHAHAROONA et al., 2007; KANG et al., 2010). Essas bactérias convertem etileno em α -cetobutirato e amônia, promovendo indiretamente o crescimento dessas plantas. Pois, sistemas radiculares mais desenvolvidos significam maior área para obter água e nutrientes, além de estimular a tolerância e redução do estresse hídrico nas plantas (GLICK, 2012; AHMED; KIBRET, 2013).

A solubilização de fosfato por essas bactérias é um mecanismo importante para a promoção de crescimento da planta, por causar aumento da disponibilidade do nutriente (KHAN et al., 2010; MUSTAFA et al., 2019).

Geralmente, as bactérias adquirem ferro por secreção de quelantes de ferro de baixa massa molecular, como sideróforos que têm constantes de alta associação para ferro complexante. Além do ferro, os sideróforos podem quelar outros metais pesados e, portanto, permitir que as plantas enfrentem o estresse induzido pela toxicidade dos metais pesados (AHMED; KIBRET, 2014).

A relação planta-BPCV é iniciada pela exsudação radicular de compostos orgânicos. Ao atingir a rizosfera, a BPCV deve buscar um nicho para se fixar entre a comunidade microbiana já presente e estabelecer, então, um diálogo com a planta. O

primeiro evento que ocorre entre o hospedeiro e um micro-organismo benéfico é o reconhecimento mútuo (RUDRAPPA et al., 2008; COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, 2010; EL ZAHAR HAICHAR et al., 2014; OKU et al., 2014; STRINGLIS et al., 2018; LABANCA, 2019).

Os micro-organismos benéficos modulam vias hormonais de modo a permitir seu estabelecimento. Em resposta a este ajuste, a planta é levada a um estado de *priming*, onde pode ocorrer acúmulo de proteínas inativas e de mRNA de proteínas envolvidas em respostas de defesa (CAMEHL et al., 2010; PIETERSE, 2012; LABANCA, 2019). Ao se deparar com uma situação de estresse, a planta sob *priming* responde de forma mais rápida e resistente, tendo menos danos (BECKERS et al., 2009; SUBRAMANIAN et al., 2015; MAUCH-MANI et al., 2017). BPCV têm potencial para reprogramar, de forma eficaz, o metabolismo vegetal, facilitando a adaptação de plantas a condições prejudiciais (LABANCA, 2019).

Uma ampla gama de metabólitos secundários e compostos orgânicos voláteis produzidos por bactérias podem melhorar a tolerância ao estresse e/ou estimular o crescimento das plantas. Por exemplo, as poliaminas desempenham papéis fisiológicos e protetores importantes nas plantas, resultando em aumento da biomassa, alteração da arquitetura radicular e elevada capacidade fotossintética (BACKER et al., 2018).

Todo tipo de estresse causa desbalanço na produção/neutralização de espécies reativas de oxigênio (ERO) e pode ser letal para a planta (DEMIDCHIK, 2017). É comum a inoculação de BPCV, em situação de estresse, levar ao aumento na atividade do sistema antioxidante, com queda nas ERO e em subprodutos da peroxidação de lipídeos (MDA) (HOU et al., 2018). Assim, a determinação de concentração de ERO, MDA e atividade de enzimas antioxidantes se tornou quase um marcador em trabalhos de mitigação de estresse envolvendo BPCV (LABANCA, 2019). Além disso, Gusain (2015) e Labanca (2019) relataram que as BPCV aumentaram as atividades de enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT).

Microbiologistas vêm buscando, no microbioma vegetal, micro-organismos benéficos que possam ser utilizados como melhoradores vegetais, principalmente em condições de estresse (SANDHYA et al., 2010; VARDHARAJULA et al., 2011).

A eficiência de uma BPCV em promover crescimento ou mitigar o estresse está ligada à sua capacidade de se estabelecer em raízes. A colonização da rizosfera/endosfera pela BPCV depende de diversos fatores, entre os quais as

características das comunidades bacterianas nativas que lá se alojam. Tendo isso em mente e considerando que o solo é o maior fornecedor de micro-organismos formadores de comunidades rizosféricas/endosféricas, torna-se clara a necessidade de buscar respostas para sucessos e fracassos de BPCV nas suas relações com as comunidades nativas (AHEMAD; KIBRET, 2014).

A interação das bactérias promotoras de crescimento vegetal depende de variáveis, como por exemplo, o estágio de crescimento da planta, a saúde da planta, o estado nutricional da planta, o tipo de solo e sua condição (pH e umidade), a altitude e temperatura da região em questão (SANTOYO et al., 2016).

Muito trabalho foi realizado para descobrir diferentes atributos de BPCV e diferentes cepas mostraram resultados impressionantes na promoção do crescimento de diferentes plantas (ANGULO et al., 2014; MANOEL DA SILVA et al., 2015). A comercialização dessas cepas é uma necessidade muito importante atualmente, para a qual a conexão entre pesquisadores e indústrias é essencial (BRANDI et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

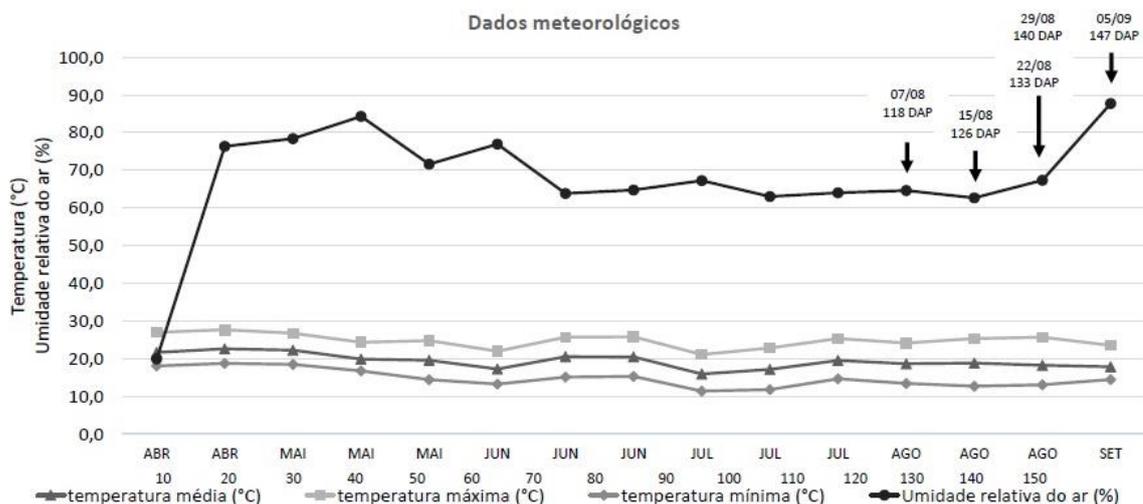
3.1 Caracterização do local do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação entre 11 de abril e 05 de setembro de 2019, na Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Botucatu, cujas coordenadas geográficas são 22° 51' 00.0"S e 48° 25'55.3"W, e 786 metros acima nível do mar, Estado de São Paulo, Brasil.

Segundo a classificação climática pelo método de Köppen (1936), o clima de Botucatu é Cfa, clima temperado quente (mesotérmico) úmido, e a temperatura média do mês mais quente é superior a 22 °C.

Foram coletados os dados das condições ambientais por uma estação meteorológica automática (Campbell Scientific Ltd. Inc., CR23X, Logan, UT, EUA) situada na FCA, cujas coordenadas são 22° 50' 48" S, 48° 26' 06" W, cerca de 600 metros da casa de vegetação, cujas as médias estão representadas na Figura 1, por decêndios.

Figura 1 - Temperatura máxima, média e mínima e umidade relativa do ar (%)



3.2 Delineamento experimental e descrição dos tratamentos

O delineamento utilizado foi blocos inteiramente casualizados, em arranjo fatorial (2x2x2), sendo dois regimes hídricos (sem e com déficit hídrico), duas

condições de inoculação, sem e com inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) e dois solos diferentes, argiloso e arenoso, com seis repetições, totalizando 48 parcelas (vasos).

As bactérias foram fornecidas utilizando o produto comercial Quartzo®, (*Bacillus subtilis* linhagem FMCH002 (Mín. de $1,0 \times 10^{11}$ UFC g^{-1}), cuja concentração é $200,0 g kg^{-1}$ e *Bacillus licheniformis* linhagem FMCH001 (Mín de $1,0 \times 10^{11}$ UFC g^{-1}), $200,0 g kg^{-1}$ de concentração, além de $600,0 g kg^{-1}$ de outros ingredientes que compõem o produto (FMC, 2020). A formulação do produto é em pó para preparação de pasta em água (WS).

Foram plantadas três gemas de cana-de-açúcar da variedade RB855536 por vaso plástico com dimensões de 31 cm de altura, 30 cm de diâmetro, correspondendo a um volume de aproximadamente 22 litros. As BPCV foram aplicadas nas gemas no momento do plantio na dose de $200 g p.c.ha^{-1}$ (Figura 2). A calda foi preparada em laboratório, seguindo a dose recomendada para a cultura da cana-de-açúcar, sendo acondicionada em tubos Falcon e, imediatamente, levada para casa de vegetação. A aplicação foi realizada no final da tarde, em condições de temperaturas mais baixas e umidade relativa do ar favorável.

As gemas foram mantidas no vaso até o final das avaliações. Cada colmo era identificado com fitas coloridas (azul, rosa e amarelo), de acordo com a análise que seria realizada (fisiológica, biométrica e bioquímica), portanto, dessa maneira, as análises foram feitas sempre na mesma planta de cada vaso/tratamento.

Os solos utilizados foram coletados na camada arável (0-20 cm). O solo argiloso foi proveniente da Fazenda Lageado da Faculdade de Ciências Agrônômicas e o solo arenoso foi coletado na Fazenda Experimental de São Manuel, São Manuel - SP, da FCA-UNESP, ambos classificados como latossolo vermelho distrófico (EMBRAPA, 2006). Desses solos foram enviadas amostras ao Laboratório de Análises do Departamento de Solos e Recursos Naturais da FCA – UNESP, onde foi realizada as análises de características físicas (Tabela 1) e químicas do solo (Tabelas 2 e 3).

Tabela 1 - Análise física do solo

Tipos de solo	Argila	Silte	Areia Total	Areia Grossa	Areia Fina
	<0,002mm	0,053- 0,002mm		2,00-0,210mm	0,210- 0,053mm
-----g kg ⁻¹ -----					
Argiloso	614	197	190	63	128
Arenoso	184	43	773	438	335

Tabela 2 - Análise química básica do solo

	pH	M.O.	P	K	Ca	Mg	H+Al	Al	Soma	CTC	Sat.	S	S
	CaCl ₂		resina						bases			Al	SO ₄ ⁻²
		g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹		-----mmolc.kg ⁻¹ -----						V%	m%	mg kg ⁻¹
Argiloso	5,4	24	15	6,7	36	14	32	0	57	89	64	0	6
Arenoso	4,1	7	3	0,4	5	1	24	9	7	31	21	0	14

M.O.: Matéria orgânica; CTC: capacidade de troca catiônica; Sat. V%: saturação de bases.

Tabela 3 - Análise de micronutrientes

	Cu	Fe	Zn	Mn	B
	-----DTPA-----				(água quente)
	-----mg.kg ⁻¹ -----				
Argiloso	6,4	26,7	1,8	22,9	0,2
Arenoso	0,8	7	0,1	1,6	0,19

A partir das análises químicas do solo, foram realizados os cálculos para calagem e adubação conforme recomendado pelo Boletim 100 (RAIJ et al., 1997).

Em ambos os tipos de solos, os tratamentos foram divididos em: Tratamento 1, sem inoculação e sem déficit hídrico; Tratamento 2, sem inoculação e com déficit hídrico; Tratamento 3, com inoculação de BPCV e sem déficit hídrico; Tratamento 4, com inoculação de BPCV e com déficit hídrico.

Figura 2 - Disposição das gemas e aplicação das bactérias promotoras de crescimento vegetal no plantio

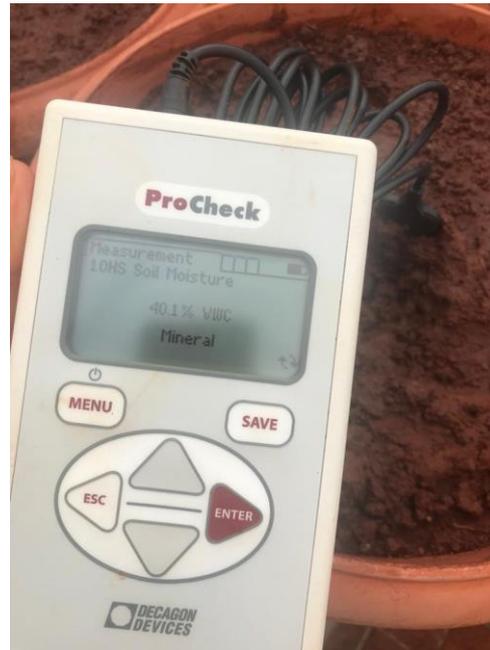


3.3 Tratamentos de regimes hídricos

Todos os tratamentos foram suplementados de água do plantio até o início das avaliações.

Os regimes hídricos foram aferidos através da coleta da umidade do solo utilizando um medidor de umidade portátil (5TM ProCheck, Decagon devices, Inc., Pullman, WA) (Figura 3). Inicialmente foi realizada a saturação de água nos vasos nos dois tipos de solos, e drenagem até atingir a capacidade de campo (CC), e mediu-se a umidade do solo com o medidor. A partir de então determinou-se os tratamentos de regimes hídricos, isto é, sem deficiência hídrica, 90% da CC e com deficiência hídrica, 40% da CC, aplicados dos 118 aos 133 dias após o plantio (DAP), com posterior reidratação por 15 dias, isto é, até 147 DAP. Dos 0 aos 118 DAP, todos os vasos foram conduzidos sem déficit hídrico.

Figura 3 - Medidor portátil ProCheck



As avaliações foram realizadas aos 118, 126, 133, 140, 147 DAP, nomeados como ponto 0, 1, 2, 3 e 4. As avaliações consistiram em análises fisiológicas, bioquímicas e biométricas.

3.4 Variáveis fisiológicas

Todas as avaliações fisiológicas foram realizadas na folha +1, segundo o sistema de numeração sugerida por Kuijper (VAN DILLEWIJN et al., 1952), no período da manhã, entre 09 e 12 horas, sob variação natural de umidade e temperatura ao longo do dia.

3.4.1 Trocas gasosas

As variáveis de trocas gasosas, taxa de assimilação líquida de CO_2 (A , $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração intercelular de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) foram obtidas utilizando um analisador de troca de gases por infravermelho, IRGA (LI-COR Biosciences Inc.,

LI-6400xt, Lincoln, NE, EUA). As medidas foram realizadas utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de $1500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, concentra\u00e7\u00e3o atmosf\u00e9rica de CO_2 , temperatura e umidade ambiente. Al\u00e9m disso, as trocas gasosas foram avaliadas no ter\u00e7o m\u00e9dio da folha +1.

3.4.2 Pigmentos fotossint\u00e9ticos

As determina\u00e7\u00f5es dos teores de clorofila em laborat\u00f3rio foram realizadas sempre na folha +1. Dois discos foliares ($0,56 \text{ cm}^2$ cada) foram amostrados da l\u00e2mina foliar com um furador, entre a borda e a nervura central da folha. A obten\u00e7\u00e3o dos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, e carotenoides foi determinado segundo metodologia de Lichtenthaler (1897), o m\u00e9todo se baseia na utiliza\u00e7\u00e3o de 1 mL do extrato de clorofila obtido \u00e0 partir da extra\u00e7\u00e3o por solvente dimetil-formamida. A solu\u00e7\u00e3o foi mantida protegida da luz durante 24 h para a completa extra\u00e7\u00e3o. Logo ap\u00f3s realizou-se a leitura de absorv\u00eancia em espectrofot\u00f4metro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Jap\u00e3o) nos comprimentos de onda de 470, 645 e 663 nm; a leitura foi realizada em 1 mL de extrato de clorofila dilu\u00eddo em 1 mL de \u00e1gua deionizada.

3.4.3 \u00cdndice SPAD

Para a quantifica\u00e7\u00e3o do \u00cdndice de clorofila foi utilizado o equipamento port\u00e1til SPAD-502 (Konica Minolta Corporation, Osaka, Jap\u00e3o), na folha +1. Para cada folha foram feitas 3 leituras em partes diferentes no ter\u00e7o m\u00e9dio da folha, excluindo-se a nervura central e o ter\u00e7o superior.

3.4.4 Densidade estom\u00e1tica

Para determina\u00e7\u00e3o da densidade estom\u00e1tica foi utilizada a t\u00e9cnica de impress\u00e3o da epiderme do ter\u00e7o m\u00e9dio nas folhas +1 de cana-de-a\u00e7\u00facar. Para tanto, utilizou-se esmalte incolor, fita adesiva transparente e l\u00e2minas para observa\u00e7\u00e3o em microsc\u00f3pio para obten\u00e7\u00e3o dos valores m\u00e9dios da densidade estom\u00e1tica. Passou-se o esmalte na face adaxial e na face abaxial, ap\u00f3s secagem, foi colocada a fita adesiva

por cima do esmalte já seco e retirada dessa amostra, colando-a na lâmina devidamente identificada. O número de estômatos foi obtido pela média da contagem de três impressões de cada face da superfície da folha, considerando uma área de 0,0744 mm² na objetiva de 40x de ampliação em microscópio biológico (Biovídeo, BEL Photonics, Monza, Itália). A partir das quantificações, a densidade estomática foi estimada pelo número de estômatos em mm² (MAJUMDAR; CHAKLADAR; MUKHERJEE, 1972).

3.4.5 Potencial hídrico

O potencial hídrico (Ψ_w) foliar foi analisado com a câmara de pressão, utilizando a técnica descrita por Scholander et al. (1965) (SoilMoisture Equipment, Santa Bárbara, CA, EUA). As leituras foram realizadas pela manhã, onde retirou-se o terço superior da folha +1 da cana-de-açúcar. A leitura foi determinada quando ocorreu a exsudação pelo corte feito no pecíolo da folha.

3.4.6 Teor relativo de água

Foi realizada a medida do teor relativo de água (TRA), onde foram extraídos dois discos foliares (diâmetro 0,6cm) da folha +1. Os discos foram mantidos em ambiente refrigerado, sendo pesados em balança analítica de precisão no laboratório (Shimadzu, BL-3200H, Piracicaba, SP, Brasil), imediatamente após a coleta. A massa do tecido túrgido foi obtida depois da reidratação dos respectivos discos em água deionizada por 24 horas. Para tanto, foi retirado o excesso de água com lenço de papel dos discos saturados para determinar a massa do tecido túrgido. A massa do tecido seco foi obtida depois que os discos forem secos por 48 h a 80°C em estufa de circulação de ar forçada. O TRA foi calculado por intermédio da seguinte fórmula, conforme a metodologia apresentada por Jamaux et al. (1997):

$$\text{TRA} = [(M_f - M_s) / (M_t - M_s)] \times 100$$

Em que: TRA é o teor relativo de água (%), M_f corresponde a massa do tecido fresco (g), M_s é a massa de matéria seca do tecido seco (g) e M_t a massa do tecido túrgido (g).

3.5 Variáveis bioquímicas

Foram determinadas as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e teor de prolina nas folhas +1, priorizando-se a parte mediana da folha. As folhas foram rapidamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -70°C , para posterior análises laboratoriais.

A atividade da SOD foi determinada de acordo com método descrito por Giannopolitis e Ries (1977) com algumas modificações. O extrato vegetal foi obtido a partir de 100 mg de tecido vegetal fresco, macerado em 2 mL do meio de extração. O meio de extração foi preparado com tampão fosfato de potássio (TFK) 100 mM pH 7,8; EDTA a 0,1 mM; DTTA 1 mM; β -mercaptoenol 10 mM; triton X 100 a 0,1%; polivinilpolipirrolidona (PVPP) a 30% (p/p), completando-se o volume com água deionizada. Após a centrifugação a 15000 g por 15 minuto a 4°C , foi retirada uma alíquota de 20 μL , a qual foi colocada no meio de reação. Sendo este preparado com TFK à 52,5 mM pH 7,8; EDTA à 0,0001 mM; cloreto de azul de nitroblutetrazólio (NBT) (Sigma Chemical Company) a 0,075 mM; metionina a 13 mM (Sigma Chemical company) e riboflavina à 0,002 mM, completando-se o volume com água deionizada. Os tubos contendo o meio de reação foram colocados em uma câmara escura com luz fluorescente a 15 watts por 10 minutos, para ocorrência da reação. Após esse período volume total foi transferido para a cubeta de 3,0 mL e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 560 nm, em triplicata. A determinação da atividade da SOD é dada pelo fato de a enzima inibir a fotorredução do NBT na presença de luz, em que uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima para inibir em 50% a fotorredução do NBT, e expressas em unidade mg^{-1} de proteína.

A atividade da CAT foi determinada segundo metodologia adotada por Havir (1987), com algumas modificações. O extrato foi obtido a partir de 100 mg de material foliar fresco, macerado em 2 mL do meio de extração e 300 mg de PVPP. O meio de reação foi preparado com tampão fosfato de potássio (0,3 mM, pH 7,5); 50 mM; EDTA a 2 mM; ascorbato de sódio a 20 mM; triton X 100 a 0,1%; PVPP a 30%, completando-se com água deionizada.

Após a centrifugação a 15.000 g, por 15 minutos, a 4°C , uma alíquota de 15 μL foi retirada e colocada no meio de reação, preparado da seguinte forma: TFK a 50 mM pH 7,5; H_2O_2 a 12,5 mM completando o volume com água deionizada para 2 mL.

Os reagentes do meio de reação foram colocados a 25 °C, em banho maria, e o extrato conservado em gelo durante a leitura.

A reação foi iniciada após a adição do extrato vegetal na cubeta de quartzo com o meio de reação. As leituras foram realizadas na absorvância de 240 nm, durante um minuto, observando-se o decréscimo da concentração de H₂O₂. Os valores foram expressos em unidade de CAT min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

A atividade da APX foi determinada segundo metodologia adotada por Nakano e Asada (1981), com modificações. O extrato foi obtido a partir 100 mg de material foliar fresco, macerado em 2 mL do meio de extração. O meio de reação foi preparado com TFK (0,3 mM, pH 7,5) 50 mM; EDTA a 2 mM; ascorbato de sódio a 20 mM; triton X 100 a 0,1%, e completou-se com água deionizada.

Após a centrifugação a 14.500 g durante 15 minutos, a 4 °C, foi retirada uma alíquota de 25 µL e colocada no meio de reação, preparado com TFK (0,3 mM, pH 7,5) a 50 mM; H₂O₂ a 0,1 mM; ascorbato de sódio a 0,5 mM, completou-se o volume com água deionizada para 2 mL. Os reagentes do meio de reação foram colocados a 25°C, em banho maria, exceto o extrato que ficou no gelo a 4 °C.

A reação iniciou-se após a adição do extrato vegetal na cubeta de quartzo com o meio de reação. As leituras foram realizadas na absorvância a 290 nm, por um minuto, observando-se o decréscimo na concentração do ascorbato. Foi utilizado coeficiente de extinção do ascorbato de 2,8 mM cm⁻¹ a 290 nm para realização dos cálculos e, posteriormente, os valores foram expressos em unidades APX min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

Para determinação dos teores de prolina, foram pesados 100 mg de material vegetal liofilizado com balança analítica (Shimadzu, BL-3200H, Piracicaba, SP, Brasil), macerado em almofariz com 8 mL de ácido sulfossalicílico a 3%, sendo a mistura deixada em repouso, com agitação a cada 15 minutos, por uma hora, sob temperatura ambiente (25°C). Após esse período foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos, em temperatura ambiente, sendo o precipitado descartado e o sobrenadante (extrato) usado para determinação de prolina livre pelo método descrito por Bates et al. (1973), através da reação com solução de ninhidrina ácida (na proporção de 1,25 g de ninhidrina, em 30 mL de ácido acético glacial, e 20 mL de ácido fosfórico 6M).

Para a reação, foram usados tubos de ensaio com tampas rosqueadas, nos quais foram adicionados 1 mL de cada extrato, 1 mL de ninhidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial, deixou-se a mistura em banho-maria à 100 °C por uma hora para

desenvolvimento da cor. Logo em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para cessar a reação. A extração do cromóforo foi feita pela adição de 2 mL de tolueno à mistura de reação, seguida de agitação vigorosa por 20 segundos. Após o repouso e formação da mistura bifásica, com uso de uma pipeta de Pasteur a fase superior foi retirada, para quantificação dos níveis de prolina. As leituras foram realizadas através de espectrofotômetro no comprimento de ondas de 520 nm. O tolueno foi usado como branco e a prolina pura foi utilizada como padrão. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ matéria seca (MS). Cada repetição (amostra) foi representada por um extrato simples dosado em triplicata.

3.6 Variáveis biométricas

A partir do ponto zero foram realizadas as seguintes avaliações de crescimento: número, altura e diâmetro de perfilhos, número de folhas, comprimento e largura das folhas +1 e +3, área foliar, comprimento das hastes.

O número de perfilhos e de folhas foi contado. A altura dos perfilhos e o comprimento das folhas +1 e +3 foram obtidos com o auxílio de fita métrica. O diâmetro do perfilho foi obtido com paquímetro digital (MeterMall, 150 mm e leitura de 0,1 mm, Marysville, OH, EUA), no terço médio da altura total do perfilho.

A área foliar foi calculada a partir da metodologia de Hermann e Câmara (1999):

$$AF = C * L * 0,75 * (N + 2)$$

Onde AF= área foliar (cm^2), C= comprimento da folha +3 (cm), L= largura da folha +3 (cm), 0,75 = fator de ajuste para a cultura e N= número de folhas verdes.

3.7 Variáveis de produção de massa de matéria seca

A massa de matéria seca da parte aérea e da raiz foi estimada após a limpeza das plantas, no dia da colheita, aos 147 DAP, período no qual foi realizada a avaliação destrutiva dos vasos. Para tanto, com o auxílio de um canivete, separou-se a parte aérea da planta, em seguida, o solo e o sistema radicular foram lavados em água corrente sob uma peneira grande, para que fosse feita a remoção de todo solo, deixando somente o sistema radicular.

A parte aérea foi acondicionada em sacos de papel e colocados em estufa de circulação forçada de ar a 65°C , por 72 horas, após esse período foi realizada a pesagem em balança digital.

As raízes foram identificadas de acordo com os tratamentos e deixadas dentro da casa de vegetação por 48 horas para que houvesse a secagem superficial da água, após esse período, o sistema radicular foi acondicionado em sacos de papel e colocados em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, por 72 horas. Após esse período foi realizada a pesagem em balança digital.

Com os valores da massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca da raiz (MSR) foi obtida a razão MSPA/MSR.

3.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e quando detectado efeito significativo, o teste de médias foi feito para os fatores isolados e para os desdobramentos das interações, utilizando-se o teste Tukey a $p < 0,05$, por meio dos softwares AGROESTAT (BARBOSA; MALDONADO, 2015).

4 RESULTADOS

4.1 Trocas gasosas

Verificou-se diversas interações significativas entre os tratamentos para as variáveis de trocas gasosas. As variáveis analisadas foram: taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), concentração interna de CO₂ (*C*), transpiração (*E*) e condutância estomática (*g_s*).

Não foi verificada significância para as médias de taxa de assimilação de CO₂ (*A*) aos 118 DAP, porém, aos 126 DAP a inoculação de microrganismos influenciou na taxa fotossintética, apresentando interação entre aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico, também foi verificada interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo, sendo que independentemente da inoculação com microrganismos, em solo do tipo arenoso, a taxa de assimilação de CO₂ foi menor (Tabela 4).

Verificou-se interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para taxa de assimilação de CO₂ aos 133 DAP, em solo argiloso, a média para tratamentos inoculados com *Bacillus* sp foi maior, 14,02 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, em tratamentos sem inoculação, 9,82 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹. Também foi verificada interação entre regime hídrico e tipos de solo, em ambos os tipos de solo, a condição de déficit hídrico (DH) reduziu a taxa de assimilação de CO₂ (Tabela 4).

Aos 140 DAP, houve efeito de aplicação de *Bacillus* sp., os tratamentos inoculados apresentaram taxa de assimilação de CO₂ maior em relação a tratamentos controle, os microrganismos ajudaram a cana-de-açúcar se recuperar do estresse, com maior taxa fotossintética na reidratação.

Verificou-se interação entre inoculação e tipos de solo, e também, regime hídrico e tipos de solo. A média para tratamentos inoculados foi 26,75 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, e em tratamentos controle, a média foi 18,14 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, ou seja, com a inoculação houve um acréscimo de aproximadamente 30% na taxa fotossintética em solo argiloso, em solo arenoso ocorreu o contrário, a média da taxa de assimilação de CO₂ reduziu em tratamentos inoculados. Com ou sem aplicação de microrganismos, e independentemente do regime hídrico, em solo arenoso, a taxa de assimilação de CO₂ foi inferior em relação ao solo argiloso (Tabela 4).

Aos 147 DAP, a taxa de assimilação de CO₂ foi significativamente superior em tratamentos inoculados com microrganismos, de acordo com a comparação de

médias dos fatores principais, o valor médio foi de 27,02 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em tratamentos sem aplicação de *Bacillus* sp., a média foi 20,61 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 20% de redução, ou seja, após as avaliações, a taxa fotossintética mostrou-se superior nos tratamentos inoculados.

Em solo argiloso, a inoculação com *Bacillus* sp. conferiu maior taxa de assimilação de CO_2 em relação aos tratamentos não inoculados, em todo período das avaliações, e, em solo arenoso, a inoculação aumentou a taxa de assimilação de CO_2 aos 133 DAP, momento em que as plantas que haviam sido submetidas ao DH estavam no pico de estresse.

Tabela 4 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* (sem e com bactéria) e regime hídrico (sem e com déficit hídrico (DH)) e aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo (argiloso e arenoso) das médias referentes a taxa de assimilação de CO_2 (A) em cana de açúcar (126 e 133 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo para A (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo e desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para A (140 DAP)

Fontes de variação	Taxa de assimilação líquida de CO_2	
	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico	126 DAP	
Sem déficit hídrico	13,60aA	11,51bB
Com déficit hídrico	14,75aA	15,43aA
Tipos de solo	133 DAP	
Solo argiloso	16,94aA	17,75aA
Solo arenoso	11,40bA	9,19bB
Tipos de solo	140 DAP	
Solo argiloso	9,82bB	14,02aA
Solo arenoso	11,78aA	13,19aA
Regime hídrico	Solo argiloso	Solo arenoso
Sem déficit hídrico	17,63aB	19,97aA
Com déficit hídrico	6,20bA	4,99bA
<i>Bacillus</i> sp.	Solo argiloso	Solo arenoso
Sem bactéria	18,14bA	16,00aB
Com bactéria	26,75aA	12,57bB
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	21,78aA	11,45bB
Com déficit hídrico	23,78aA	17,12aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Em todos os pontos das avaliações, a taxa de transpiração foi superior em tratamentos inoculados com *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis*, em ambos os tipos de solo e regimes hídricos quando houve interação.

Aos 118 DAP, a média referente a taxa de transpiração do tratamento com inoculação de bactérias foi significativamente maior, 2,18 mmol H₂O m⁻²s⁻¹ em comparação à média dos tratamentos sem bactérias, 1,75 mmol H₂O m⁻²s⁻¹, uma diferença de cerca de 20%.

De acordo com a comparação de médias, foi verificado que tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. apresentaram média nos valores de transpiração (1,30 mmol H₂O m⁻² s⁻¹) 35% superior em relação aos tratamentos não inoculados (0,84 mmol H₂O m⁻² s⁻¹), aos 126 DAP.

Também houve interação entre os fatores aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo. A taxa de transpiração foi menor em solo arenoso, em relação ao solo argiloso, também foi inferior em tratamentos sem aplicação de microrganismos, independentemente do tipo de solo (Tabela 5).

Foram observadas diferenças entre as médias do fator inoculação de *Bacillus* sp. para a taxa de transpiração aos 133 DAP, em tratamentos inoculados, a média foi de 1,30 mmol H₂O m⁻² s⁻¹, e tratamentos não inoculados, 1,13 mmol H₂O m⁻² s⁻¹, ou seja, em tratamentos inoculados a transpiração foi cerca de 14% maior do que em tratamentos não inoculados.

Ao comparar as fontes de variações para os valores referentes a taxa de transpiração aos 140 DAP, além da significância para os fatores principais referentes a inoculação ou não de microrganismos e tipos de solo, no desdobramento da interação, em tratamentos inoculados o tipo de solo influenciou, em solo argiloso, a média foi 40% superior em relação ao solo arenoso.

Observou-se a interação tripla entre os fatores para a taxa de transpiração aos 147 DAP. Os tratamentos que foram inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis* apresentaram médias superiores em ambos, sem DH e tipos de solo, em relação aos tratamentos sem DH e sem inoculação.

Em solo arenoso, o valor médio referente a taxa de transpiração aos 147 DAP foi maior em relação ao solo argiloso nos dois regimes hídricos (Tabela 5).

Tabela 5 - Desdobramento da interação entre aplicação de micro-organismos e tipos de solo para resultados referentes a transpiração em cana de açúcar (126, 140 e 147 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo (solo argiloso e solo arenoso) para as médias referentes a taxa de transpiração (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp e regime hídrico; desdobramento para interação entre tipos de solo e regime hídrico para a taxa de transpiração (147 DAP)

Fontes de variação	Transpiração	
	Solo argiloso	Solo arenoso
Aplicação de <i>Bacillus</i> sp.	126 DAP	
Sem bactéria	1,24bA	0,44bB
Com bactéria	1,55aA	1,04aB
	133 DAP	
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,201aB	2,279aA
Com déficit hídrico	0,668bA	0,709bA
	140 DAP	
Tipos de solo	Sem bactéria	Com bactéria
Solo argiloso	1,50aB	2,57aA
Solo arenoso	1,47aA	1,51bA
	147 DAP	
Regime hídrico	Sem bactéria	Com bactéria
Sem déficit hídrico	1,40aB	2,31bA
Com déficit hídrico	1,46aB	3,07aA
Tipos de solo		
Solo argiloso	1,38aB	2,05bA
Solo arenoso	1,48aB	3,34aA
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,67aB	2,04bA
Com déficit hídrico	1,75aB	2,78aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se interação entre os fatores regime hídrico e tipos de solo, referentes as médias da concentração interna de CO₂ (Ci) aos 118 DAP, porém aos 118 DAP ainda não haviam efeitos de déficit hídrico, e o tipo de solo pode ter influenciado nas trocas gasosas da planta.

Verificou-se efeito significativo para a interação entre inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo para a Ci aos 126 DAP. Em tratamentos com inoculação de microrganismos, a Ci foi inferior em ambos os tipos de solo, comparado ao tratamento sem inoculação. Também foi verificada interação entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo. As menores Ci foram observadas em solo arenoso tanto com, quanto sem condições de DH, em relação ao solo argiloso (Tabela 6).

Aos 133 DAP, a concentração interna de CO₂ teve influência do fator tipo de solo, apresentando diferença significativa entre o solo argiloso e arenoso em tratamentos não inoculados, sendo que em solo arenoso a concentração interna de CO₂ foi maior, 120,179 μmol CO₂ mol⁻¹, quando comparado ao solo argiloso sem inoculação, 108,935 μmol CO₂ mol⁻¹. Não se verificou diferença significativa entre tratamentos sem e com aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* em ambos os tipos de solo (Tabela 6).

Houve interação entre todos os fatores para *Ci* aos 140 DAP, resultado da resposta diferencial dos tratamentos (inoculados e não inoculados) às variações de regimes hídricos e tipos de solo. Como exposto na Tabela 6, verificou-se aumento na concentração interna de CO₂ com a inoculação de micro-organismos, tanto com, quanto sem DH.

A partir da comparação de médias dos efeitos principais, foi observado que o regime hídrico influenciou na concentração interna de CO₂ aos 147 DAP. Tratamentos sem DH apresentaram valor médio de 339,28 μmol CO₂ mol⁻¹, e tratamentos com DH, a média foi 306,43 μmol CO₂ mol⁻¹, reduzindo cerca de 10% a *Ci*.

Tabela 6 - Desdobramento da interação entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo para dados referentes a concentração interna de CO₂ (*Ci*) em cana de açúcar (118, 126 e 133 DAP); Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para *Ci* (126, 133 e 140 DAP); para *Ci* (133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico para a *Ci* (140 DAP)

Fontes de variação	Concentração interna de CO ₂	
Regime hídrico	Solo argiloso	Solo arenoso
118 DAP		
Sem déficit hídrico	335,65aA	287,13aB
Com déficit hídrico	285,21bA	301,26aA
126 DAP		
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	μmol CO ₂ mol ⁻¹	
Sem bactéria	240,11aA	173,67aB
Com bactéria	222,27bA	134,97bB
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	236,11aA	138,55bB
Com déficit hídrico	226,27aA	170,10aB
133 DAP		
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	μmol CO ₂ mol ⁻¹	
Sem bactéria	108,935aB	120,179aA
Com bactéria	116,697aA	112,290aA
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	173,632aA	161,363aB
Com déficit hídrico	52,000bB	71,106bA
140 DAP		

	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	108,11bB	161,69bA
Com déficit hídrico	154,16aB	178,53aA
Tipos de solo		
Solo argiloso	131,92aB	197,18aA
Solo arenoso	130,35aA	143,03bA
Tipos de solo		
	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	176,02aA	93,79bB
Com déficit hídrico	153,10bB	179,59aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 126 DAP, verificou-se interação entre os fatores com ou sem aplicação de *Bacillus* sp. sob os diferentes regimes hídricos e tipos de solos em relação a condutância estomática (g_s). Com aplicação de *Bacillus* sp. ($0,037 \text{ mmol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) foi observada redução de 27% na condutância estomática em plantas submetidas ao déficit hídrico quando comparada ao tratamento sem DH ($0,027 \text{ mmol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) (Tabela 7).

Com base no desdobramento da interação observado na Tabela 7, também foi observada interação entre os fatores inoculação de bactéria e tipos de solo para condutância estomática aos 126 DAP. Houve redução na média dos teores de condutância estomática em solo arenoso.

Houve interação entre a aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico para condutância estomática aos 133 DAP. Tratamentos com inoculação de *Bacillus* sp. sob DH, a condutância foi $0,028 \text{ mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$. Já em tratamentos sem inoculação sob estresse, a média foi $0,015 \text{ mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$. O efeito dos micro-organismos aumentou cerca de 45% a condutância estomática em condições de DH. No auge do estresse, durante as avaliações, quando as plantas se encontravam extremamente estressadas, as bactérias tentaram regular as trocas gasosas, a fim de aliviar os efeitos do estresse.

Em tratamentos não inoculados, as plantas submetidas ao DH tiveram redução superior a 70% na g_s , comparado com as plantas sem condições de DH. Em plantas inoculadas essa mesma redução foi de cerca de 50%.

Verificou-se interação entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo para a g_s . Com déficit hídrico, a condutância estomática foi significativamente inferior em ambos os tipos de solo, reduzindo cerca de 60% quando comparada ao tratamento sem déficit hídrico aos 147 DAP (Tabela 7).

Aos 147 DAP, em solo arenoso, a condutância estomática reduziu no tratamento inoculado com a bactéria, ($0,048 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em relação ao tratamento não inoculado, ($0,054 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Desdobramento da interação entre os tratamentos com e sem aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico para a condutância estomática (g_s) em cana de açúcar (126, 133 e 147 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para g_s (126 e 147 DAP) desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para g_s (133 e 147 DAP)

Fontes de variação	Condutância estomática	
	Sem bactéria	Com bactéria
126 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,041bA	0,037aA
Com déficit hídrico	0,056aA	0,027bB
Tipos de solo		
Solo argiloso	0,056aA	0,053aA
Solo arenoso	0,041bA	0,011bB
133 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
Sem bactéria	0,054bA	0,015bB
Com bactéria	0,058aA	0,028aB
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,061aA	0,051aB
Com déficit hídrico	0,022bA	0,020bA
147 DAP		
Fontes de variação	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,045bA	0,048aA
Com déficit hídrico	0,053aA	0,049aA
Tipos de solo		
Solo argiloso	0,045bB	0,049aA
Solo arenoso	0,054aA	0,048aB
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,049aA	0,045bB
Com déficit hídrico	0,044bB	0,057aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Pigmentos fotossintéticos e Índice SPAD

Aos 118 DAP, verificou-se interação entre regime hídrico e tipos de solo, porém no ponto zero ainda não haviam efeitos de estresse, mesmo no tratamento com déficit hídrico.

Aos 126 DAP, a média dos teores de clorofila a entre os fatores principais foi maior no tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. Houve interação entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo, sendo que em solo arenoso, a maior média foi no tratamento que não foi submetido ao déficit hídrico.

Aos 133 DAP, verificou-se que o teor de clorofila a foi superior em tratamentos inoculados em ambos os regimes hídricos, também houve interação entre inoculação de microrganismos e regime hídrico, sendo que a média de tratamentos sem condições de estresse foi superior em relação aos tratamentos submetidos ao estresse hídrico, tanto com, quanto sem inoculação.

Aos 140 DAP, foi observado valores médios de Chl a superiores em tratamentos não submetidos ao estresse em ambos os tipos de solo, e, com estresse hídrico, a média foi maior em tratamentos de solo do tipo argiloso.

O conteúdo de Chl a foi maior em tratamentos inoculados em solo arenoso aos 147 DAP, em relação ao tratamento não inoculado (Tabela 8).

Tabela 8 - Desdobramento da interação entre tipos de solo e regime hídrico para os teores de clorofila *a* (118; 126 DAP); interação entre aplicação *Bacillus* sp. e regime hídrico; regime hídrico e tipos de solo (133 DAP); regime hídrico e tipos de solo (140 DAP); interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo (147 DAP)

Clorofila <i>a</i>		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico	118 DAP ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	
Sem déficit hídrico	38,60bA	37,48aA
Com déficit hídrico	44,00aA	37,98aB
	126 DAP	
Sem déficit hídrico	26,54aB	30,77aA
Com déficit hídrico	25,51aA	15,41bB
	133 DAP	
<i>Bacillus</i> sp.	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
Sem bactéria	28,04bA	16,38bB
Com bactéria	31,15aA	23,82aB
	Solo argiloso	Solo arenoso
Sem déficit hídrico	34,35aA	24,85aB
Com déficit hídrico	27,07bA	13,13bB
	140 DAP	
Sem déficit hídrico	28,90aA	27,41aA
Com déficit hídrico	27,37aA	14,98bB
	147 DAP	
Sem bactéria	27,95aA	18,91bB
Com bactéria	28,16aA	22,76aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve interação para os teores de Chl *b* aos 118 DAP.

Aos 126 DAP, houve interação entre regime hídrico e tipos de solo, sendo que a menor média foi em solo arenoso, em tratamentos submetidos ao DH.

Na interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e regimes hídricos, as médias superiores para teores de clorofila *b* foram obtidas em tratamentos sem DH (independentemente do regime hídrico) e em tratamentos com déficit hídrico, a maior média foi referente ao tratamento com aplicação de microrganismos aos 133 DAP (Tabela 9).

Foi verificada interação entre os fatores aos 140 DAP, entre regime hídrico e tipos de solo, sendo que sob déficit hídrico, a maior média do teor de Chl *b* foi referente ao solo argiloso.

Aos 147 DAP, o conteúdo de clorofila *b* foi maior com a inoculação de *Bacillus* sp. em solo arenoso, em solo argiloso não houve diferença significativa com a

inoculação, também foi verificada interação entre regime hídrico e tipos de solo (Tabela 9).

Tabela 9 - Desdobramento das interações entre regime hídrico e tipos de solo (126 DAP); aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico (133 DAP), regime hídrico e tipos de solo (140 DAP); interação entre inoculação de *Bacillus* sp. e tipos de solo, e regime hídrico e tipos de solo (147 DAP) para clorofila *b*

Clorofila <i>b</i>		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
126 DAP ($\mu\text{g cm}^{-2}$)		
Sem déficit hídrico	9,40aB	9,93aA
Com déficit hídrico	9,25aA	5,50bB
Sem déficit hídrico		
Com déficit hídrico		
<i>Bacillus</i> sp.		
133 DAP		
Sem bactéria	9,37aA	6,11bB
Com bactéria	10,15aA	8,60aB
Solo argiloso		
Solo arenoso		
Regime hídrico		
140 DAP		
Sem déficit hídrico	9,62aA	9,17aA
Com déficit hídrico	9,40aA	5,50bB
<i>Bacillus</i> sp.		
147 DAP		
Sem bactéria	9,31aA	6,5bB
Com bactéria	9,2aA	7,68aB
Sem déficit hídrico	9,47aA	8,01aB
Com déficit hídrico	9,03aA	6,18bB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 118 DAP, solos do tipo argiloso apresentaram média superior em relação aos tratamentos de solo arenoso.

Aos 126 DAP, as menores médias foram obtidas para tratamentos com aplicação de *Bacillus* sp. em ambos regimes hídricos.

Aos 133 DAP, as menores médias foram obtidas em tratamentos sem DH em ambos tratamentos, inoculados ou não inoculados com *Bacillus* sp.. Além disso, as médias dos teores de carotenoides foram menores em tratamentos inoculados em ambos os tipos de solos. (Tabela 10).

Houve interação entre os tratamentos: regime hídrico e tipos de solo para teores de carotenoides aos 133 DAP, as médias foram inferiores para tratamentos sem DH em ambos tipos de solo (Tabela 10).

O teor de carotenoides foi inferior em tratamentos com inoculação de *Bacillus* sp. em tratamentos sem déficit hídrico, sem inoculação não mostraram efeitos significativos independentemente do regime hídrico (Tabela 10).

Tabela 10 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo (126 DAP); interação entre regime hídrico e aplicação de *Bacillus* sp., aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo (133 DAP); interação entre regime hídrico e tipos de solo (140 DAP) e interação entre regime hídrico e *Bacillus* sp., *Bacillus* sp. e tipos de solo (147 DAP) para teores de carotenoides

Carotenoides		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
126 DAP		
Sem bactéria	6,82bB	9,36aA
Com bactéria	7,96aA	7,83bA
133 DAP		
Regime hídrico	Sem bactéria	Com bactéria
Sem déficit hídrico	8,29aA	8,59aA
Com déficit hídrico	5,78bB	9,39aA
Solo argiloso		
Sem bactéria	8,87bA	5,19bB
Com bactéria	10,04aA	7,93aB
140 DAP		
Sem déficit hídrico	8,23aA	7,17aB
Com déficit hídrico	8,20aA	4,97bB
147 DAP		
Sem bactéria		
Sem déficit hídrico	7,48aA	6,18bB
Com déficit hídrico	6,41bB	10,00aA
Solo argiloso		
Sem bactéria	7,68aA	6,21bB
Com bactéria	7,46aB	8,74aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha e maiúscula na coluna, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade;

O índice SPAD não diferiu aos 118 DAP.

Houve interação significativa para o tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. com os diferentes tipos de solo, sendo que em solo argiloso o índice SPAD foi 13,23% maior, quando comparado ao solo arenoso. Os tratamentos inoculados apresentaram médias inferiores em ambos os tipos de solo aos 126 DAP (Tabela 11).

Obteve-se interação tripla entre os fatores para índice SPAD aos 133 DAP (Tabela 11). As médias foram inferiores para os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis* comparado aos tratamentos sem inoculação, entre as condições de regime hídrico e tipos de solo.

Aos 133 DAP as médias do índice SPAD foram menores em solo arenoso, tanto com, quanto sem aplicação de micro-organismos e, também, nos dois regimes hídricos (Tabela 11).

Verificou-se interação significativa entre regime hídrico e tipos de solo para o índice SPAD aos 140 DAP. Em solo arenoso em ambos regimes hídricos, o índice SPAD foi menor, cerca de 15% entre o solo argiloso e arenoso (Tabela 11).

Aos 147 DAP, o valor médio para tratamentos sem inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* foi de 40,62, e com inoculação, o valor médio foi de 28,07. Tratamentos que foram submetidos ao período de DH apresentaram médias superiores em relação ao tratamento sem DH. Além disso, o índice SPAD foi maior

Tabela 11 - Desdobramento da interação entre inoculação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para o índice SPAD em cana de açúcar (126 e 133 DAP); desdobramento das interações com e sem aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico (com e sem DH) para o índice SPAD (133 DAP) e desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para as médias de Índice SPAD (133 e 140 DAP)

Fontes de variação	Índice SPAD	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp. 126 DAP		
Sem bactéria	52,70aA	45,73bA
Com bactéria	40,80aB	39,87aB
<i>Bacillus</i> sp. 133 DAP		
Regime hídrico		Com bactéria
Sem déficit hídrico	38,73aB	28,79bA
Com déficit hídrico	45,00aA	28,43bA
Tipos de solo		
Solo argiloso	47,75aA	39,61bA
Solo arenoso	35,98aB	17,62bB
Tipos de solo		Solo arenoso
Sem déficit hídrico	43,76aA	23,77bB
Com déficit hídrico	43,60aA	29,83bA
Regime hídrico 140 DAP		
Sem déficit hídrico	37,89aA	30,15bB
Com déficit hídrico	38,50aA	34,24abA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha e maiúscula na coluna, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade;

4.3 Densidade estomática

Constatou-se diferenças entre os tratamentos nas médias de densidade estomática da face abaxial em todos os pontos das avaliações (Figura 4).

Aos 118 DAP, o tratamento sem inoculação de bactéria apresentou maior média de densidade estomática na face abaxial da folha, com 238,36 estômatos mm⁻², enquanto o tratamento com inoculação, a média foi de 173,33 estômatos mm⁻²

(Tabela 12). Vale ressaltar que no ponto zero, que foi a primeira avaliação realizada, as plantas ainda não haviam sido submetidas ao DH, portanto, estavam todas sob mesmas condições de hidratação aos 118 DAP.

Houve interação significativa entre aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico aos 126 DAP para número de estômatos mm⁻² na face abaxial. A densidade estomática foi menor cerca de 25% em ambos regimes hídricos nas plantas submetidas à aplicação de BPCV (Tabela 12).

Não foi realizada a avaliação de quantificação da densidade estomática abaxial e adaxial aos 133 DAP, pois as folhas estavam enroladas devido ao pico de DH.

Verificou-se a interação significativa entre inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico, cujo desdobramento é apresentado na Tabela 16. A densidade estomática da face abaxial aos 140 DAP foi inferior em tratamentos com a inoculação de *Bacillus* sp. nas duas condições de regime hídrico. Observou-se uma diferença aproximada de 20% a menos entre tratamentos com aplicação de *Bacillus* sp. em ambos regimes hídricos (Tabela 12).

Aos 147 DAP, a densidade estomática da face abaxial foi menor cerca de 33% com a aplicação de *Bacillus* sp. em ambos os tipos de solo e regime hídrico (Tabela 12).

Tabela 12 - Desdobramento da interação entre aplicação *Bacillus* sp. e regime hídrico referente as médias de densidade estomática na face abaxial da folha de cana de açúcar (118, 126, 140 e 147 DAP); desdobramento da interação entre aplicação *Bacillus* sp. e tipos de solo e desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo, referente as médias de densidade estomática na face abaxial da folha (147 DAP)

Fontes de variação	Densidade estomática na face abaxial	
	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
<i>Bacillus</i> sp.	118 DAP	
Sem bactéria	221,37aB	238,36aA
Com bactéria	187,80bA	173,33bB
	126 DAP	
<i>Bacillus</i> sp.	126 DAP	
Sem bactéria	221,02aB	245,29aA
Com bactéria	173,08bA	177,34bA
	140 DAP	
<i>Bacillus</i> sp.	140 DAP	
Sem bactéria	225,50aB	250,32aA
Com bactéria	185,54bA	185,71bA
	147 DAP	
<i>Bacillus</i> sp.	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico		

Sem déficit hídrico	246,78bA	173,14aB
Com déficit hídrico	263,88aA	167,17aB
Tipos de solo		
Solo argiloso	238,88bA	168,85aB
Solo arenoso	272,17aA	171,46aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

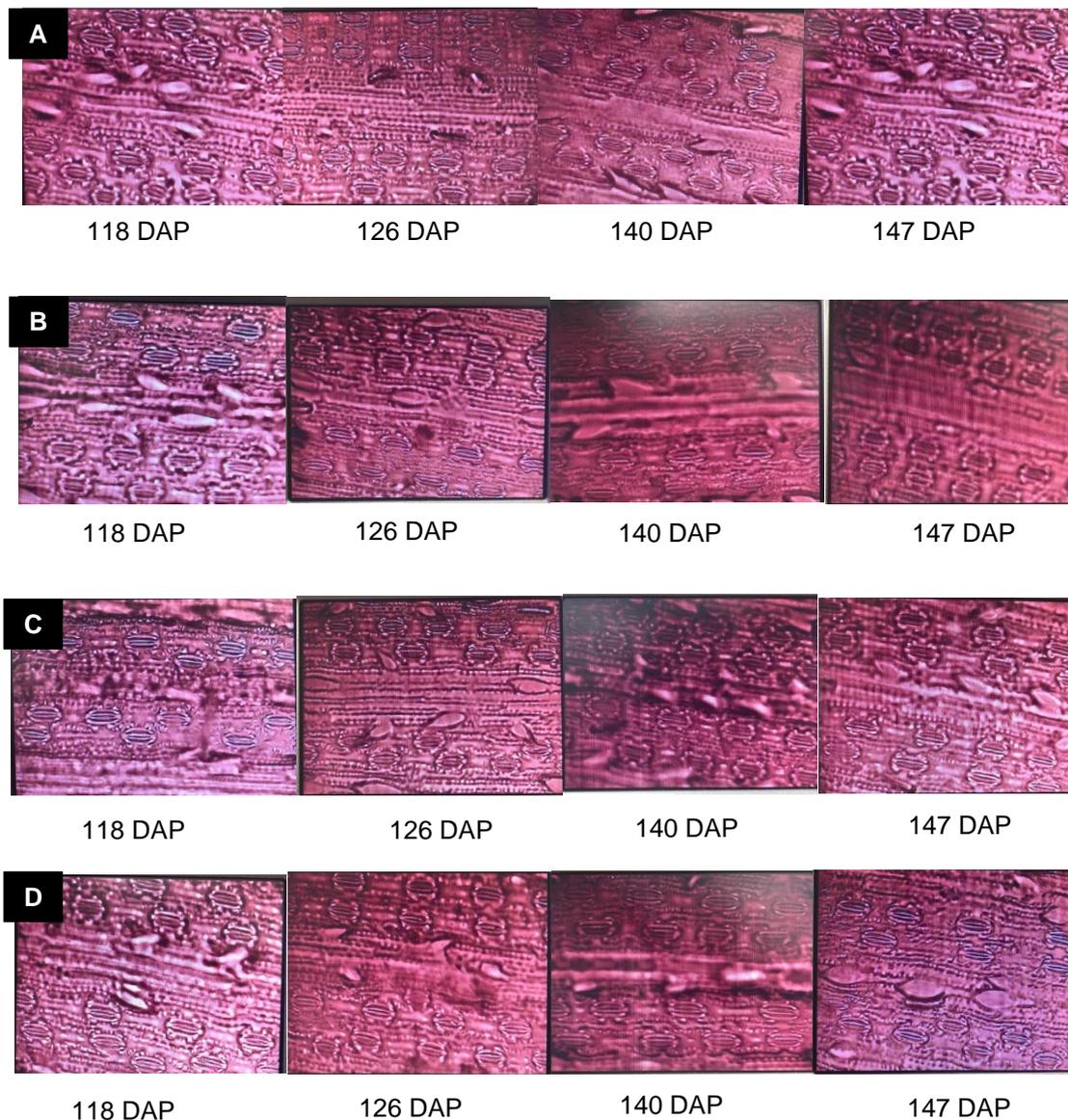
Não foi identificada interação entre os tratamentos para densidade adaxial aos 118 DAP; a média para os tratamentos sem aplicação de *Bacillus* sp. foi maior, com 175,60 estômatos mm⁻², comparativamente aos tratamentos com aplicação de bactérias, 120,87 estômatos mm⁻².

Não foram verificadas interações significativas entre os tratamentos para a densidade estomática da face adaxial das folhas aos 126 DAP. Constatou-se diferença significativa entre as médias dos tratamentos sem (173,32 estômatos mm⁻²) e com (122,65 estômatos mm⁻²) aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, representando diferença de aproximada de 30%.

Aos 140 DAP, o efeito da inoculação de *Bacillus* sp. em cana-de-açúcar influenciou na densidade estomática na face adaxial de folhas de cana-de-açúcar. A aplicação de micro-organismos reduziu em 27% a quantidade de estômatos mm⁻² na face adaxial. A média de tratamentos não inoculados foi 123,74 estômatos mm⁻² e para tratamentos inoculados a média foi 169,60 estômatos mm⁻².

Em tratamentos inoculados a média da densidade estomática na face adaxial foi de 121,05 estômatos mm⁻², 27,70% menor em relação a tratamentos não inoculados, cuja média foi 167,45 estômatos mm⁻².

Figura 4 - Aspecto visual da densidade estomática da face abaxial das folhas de cana-de-açúcar cultivadas em solo argiloso, visualizados em microscópio, nas diferentes avaliações (118; 126; 140; 147 DAP). Sem inoculação e sem déficit hídrico (A); sem inoculação e com déficit hídrico (B); com inoculação e sem déficit hídrico (C) e com inoculação e com déficit hídrico (D)



4.4 Potencial hídrico foliar e teor relativo de água

De acordo com os resultados obtidos, aos 118 DAP, não houve efeitos significativos dos tratamentos sobre o potencial hídrico foliar e ao teor de água na folha.

Aos 126 DAP, verificou-se interação entre os tratamentos com ou sem inoculação de *Bacillus* sp. sob os diferentes regimes hídricos e tipos de solos. Com

déficit hídrico, o potencial hídrico foi 29,57% menor com a inoculação de *Bacillus* sp., quando comparado com o tratamento com DH e sem a inoculação de *Bacillus* sp.

Constatou-se que para os tratamentos sem aplicação de *Bacillus* sp., houve diferença significativa entre o regime hídrico, a média do potencial hídrico foliar foi -1,12 MPa sem déficit hídrico e, -0,81 MPa com DH, ou seja, o DH reduziu 27,68% da tensão de água na folha.

A inoculação com *B. subtilis* e *B. licheniformis* também apresentou interação significativo com os tipos de solo. Tanto com a inoculação das bactérias, o potencial hídrico foi menor em solo arenoso. Sem a inoculação, em solo arenoso, a média foi -1,34 MPa, potencial hídrico 56% menor quando comparado ao solo argiloso, cuja média foi -0,59 MPa. Essa redução foi intensificada com a inoculação de *Bacillus* sp. em solo argiloso, a média do potencial hídrico foliar (126 DAP) foi de -0,54 MPa, cerca de 70% superior à média do solo arenoso, que foi -1,85 MPa (Tabela 13).

Foi possível identificar diferenças entre os tipos de solo, tanto com, quanto sem inoculação de micro-organismos em relação ao potencial hídrico foliar aos 133 DAP.

Com a inoculação de *Bacillus* sp., a média para o solo do tipo argiloso, -0,84 MPa, foi aproximadamente 50% superior à média do potencial hídrico para o solo arenoso, -1,63 MPa (Tabela 13).

Foi verificada interação significativa entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo para o potencial hídrico foliar aos 133 DAP. Solo do tipo arenoso apresentou as menores médias em relação ao solo do tipo argiloso em ambas condições de regime hídrico.

Sob regime adequado de hidratação, em solo arenoso, o potencial hídrico foi significativamente menor, -1,75 MPa, do que em tratamento com DH, -1,46 MPa (Tabela 13).

O potencial hídrico foliar foi menor em tratamentos inoculados independentemente do tipo de solo, sendo que a média referente ao tratamento inoculado sem condição de déficit hídrico foi menor do que a média do tratamento inoculado e com déficit hídrico. A interação da aplicação de *Bacillus* sp. com o tipo de solo mostrou o menor valor de potencial hídrico aos 140 DAP, resultante de tratamento inoculado e solo arenoso (média de -1,84 MPa), comparando ao solo argiloso (-0,70 MPa) e, também a condição de tratamento não inoculado em solo arenoso (-0,58 MPa). Independentemente do regime hídrico, em solo arenoso as médias de potencial hídrico foliar foram inferiores aos 140 DAP (Tabela 13).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação ao potencial hídrico foliar aos 147 DAP.

Tabela 13 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico (126 e 140 DAP); inoculação de micro-organismos e tipos de solo para potencial hídrico foliar em cana de açúcar(126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação entre tipos de solo e regime hídrico para potencial hídrico foliar (133 e 140 DAP)

Potencial hídrico foliar		
Fontes de variação	Sem bactéria	Com bactéria
126 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	-1,12aB	-1,23aA
Com déficit hídrico	-0,81aA	-1,15bA
Tipos de solo		
Solo argiloso	-0,59aA	-0,54aA
Solo arenoso	-1,34aB	-1,85bB
133 DAP		
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	-0,47aA	-1,58bA
Com bactéria	-0,84aB	-1,63bA
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	-0,65aA	-1,75bB
Com déficit hídrico	-0,66aA	-1,46bA
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Regime hídrico	Sem bactéria	Com bactéria
Sem déficit hídrico	-0,56aA	-1,48bB
Com déficit hídrico	-0,60aA	-1,06bA
Tipos de solo		
Solo argiloso	-0,58aA	-0,70aA
Solo arenoso	-0,58aA	-1,84bB
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	-0,63aA	-1,42bB
Com déficit hídrico	-0,65aA	-1,00aB

*Médias não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha e maiúscula na coluna, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 118 DAP não foi possível observar diferenças significativas entre os tratamentos para o teor relativo de água na folha.

Verificou-se interação significativa entre os fatores: regime hídrico e tipo de solo para a porcentagem de teor relativo de água (TRA) (126 DAP). O TRA foi 18,6% inferior em solo arenoso em comparação ao solo argiloso, sem a condição de estresse

hídrico. Sob a condição de DH, o TRA foi 12,11% menor no solo arenoso, comparativamente ao solo argiloso (Tabela 14).

O teor relativo de água foi afetado pelo tipo de solo aos 133 DAP, em solo arenoso as médias foram inferiores quando comparadas com solo argiloso, nos dois regimes hídricos (Tabela 14).

Em solo argiloso o teor relativo de água não apresentou diferenças, em solo arenoso. O TRA foi menor em tratamento sem condições de DH, com a média de 82,71%, cerca de 6% a menos em relação ao TRA de tratamentos que tiveram condições de DH (140 DAP) (Tabela 14).

O teor relativo de água foi superior em tratamentos inoculados com microrganismos aos 147 DAP, cuja média foi 89,7% em tratamentos inoculados e 88,56 em tratamentos não inoculados com *Bacillus* sp..

Tabela 14 - Desdobramento da interação entre regime hídrico (sem e com déficit hídrico) e tipos de solo (solo argiloso e solo arenoso) para teor relativo de água foliar (126, 133 e 140 DAP)

Teor relativo de água		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
126 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	89,15aA	72,56bB
Com déficit hídrico	89,25aA	78,44aB
133 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	89,60aA	70,63bB
Com déficit hídrico	89,97aA	79,64aB
140 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	89,20aA	82,71bB
Com déficit hídrico	90,08aA	88,18aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.5 Variáveis bioquímicas

Para manter o nível adequado de ERO as plantas fazem uso de antioxidantes, como as enzimas SOD, CAT e APX. Em todas as avaliações realizadas, a inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* influenciou em todas as variáveis analisadas. As atividades das enzimas e o teor de prolina se mantiveram constantes durante todo período.

O aumento da atividade da SOD, CAT e APX são amplamente estudados, pois essas enzimas estão diretamente relacionadas com a redução das ERO, resultados que podem ser confirmados no presente estudo.

Aos 118 DAP, a atividade da enzima SOD foi 98% superior em tratamentos inoculados em relação a tratamentos não inoculados.

A inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* aumentou em cerca de 98% a atividade da SOD em solo argiloso e em solo arenoso aos 126 DAP. Em solo argiloso e sem inoculação de micro-organismos, o valor médio da concentração de prolina foi 0,042 unit mg⁻¹ proteína e no mesmo tipo de solo, em tratamentos inoculados a média foi 4,11 unit mg⁻¹ proteína. Em comparação entre os solos e a presença de micro-organismos, em solo arenoso verificou-se diferença significativa para a atividade da SOD aos 126 DAP, sendo que a média foi cerca de 14% superior do que em solo argiloso (Tabela 15).

A atividade da SOD foi influenciada por todos os fatores aos 133 DAP (Tabela 15). Em ambos os regimes hídricos, os valores médios foram superiores em tratamentos inoculados, com uma diferença superior de cerca de 98%. E essa diferença também foi observada nos tipos de solo, tanto em solo argiloso quanto arenoso. O valor médio da atividade da enzima SOD foi muito superior em tratamentos inoculados em relação a tratamentos não inoculados.

Nos tratamentos inoculados, em solo argiloso a média foi 3,866 unit mg⁻¹ proteína, e em solo arenoso a média foi 5,949 unit mg⁻¹ proteína, portanto, em solo arenoso a atividade enzimática da SOD foi 35% superior em relação ao solo argiloso (Tabela 15).

Aos 140 DAP, a atividade da enzima SOD foi inferior em tratamentos não inoculados tanto em solo argiloso quanto em solo arenoso. A média para tratamentos inoculados em solo argiloso foi de 3,69 unit mg⁻¹ proteína e em solo arenoso foi superior, 4,41 unit mg⁻¹ proteína (Tabela 15).

Também verificou-se interação significativa entre regimes hídricos e tipos de solo, sendo a menor média observada no tratamento sem déficit hídrico em solo do tipo argiloso (Tabela 15).

Aos 147 DAP, a atividade da SOD permaneceu superior em tratamentos inoculados, 3,69 unit mg⁻¹ proteína, e em tratamentos não inoculados a média foi de 0,034 unit mg⁻¹ proteína.

Tabela 15 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para atividade da superóxido dismutase (SOD) em cana de açúcar (126 e 140 DAP); desdobramentos das interações entre todos os fatores referentes a atividade da SOD aos (133 DAP); desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para atividade da SOD (140 DAP)

Superóxido dismutase		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
126 DAP		
Sem bactéria	0,042aA	0,055aB
Com bactéria	4,11bB	4,79aA
133 DAP		
<i>Bacillus</i> sp	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,050bA	4,37aB
Com déficit hídrico	0,053bA	5,44aA
Tipos de solo		
Solo argiloso	0,045bA	3,866aB
Solo arenoso	0,059bA	5,949aA
Tipos de solo		
Solo argiloso		
Solo arenoso		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	2,033aA	2,38aB
Com déficit hídrico	1,88bA	3,61aA
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	0,036aB	0,044aB
Com bactéria	3,69bA	4,41aA
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,72bA	2,34aA
Com déficit hídrico	2,00aA	2,11aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na linha e maiúscula na coluna, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade;

Aos 118 DAP não verificou-se interação entre os fatores para atividade da CAT, porém a inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* apresentou efeito significativo. Em tratamentos inoculados o valor médio foi de 0,082 unidades CAT min⁻¹ mg⁻¹ proteína, e tratamentos não inoculados a média foi de 0,039 unidades CAT min⁻¹ mg⁻¹ proteína, diferença superior a 50%.

Aos 126 DAP, foi verificado aumento da atividade da CAT em tratamentos inoculados com micro-organismos e, em solo argiloso, sendo esse aumento de 50% e em solo arenoso, com a inoculação aumentou cerca de 55%. Através da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo, pode-se relatar que em solo arenoso a atividade da CAT foi maior, 0,105 unidades CAT min⁻¹ mg⁻¹ proteína, do que em solo argiloso, 0,080 unidades CAT min⁻¹ mg⁻¹ proteína (Tabela 16).

Também houve interação entre regime hídrico e tipos de solo aos 126 DAP, as menores atividades da CAT foram obtidas em solo argiloso em ambos regimes

hídricos, com e sem estresse. Em solo arenoso, plantas de cana-de-açúcar que não foram submetidas ao estresse hídrico apresentaram menor atividade da enzima em relação às plantas que estavam sob condições de estresse (Tabela 16).

A atividade da catalase aos 133 DAP foi influenciada pela aplicação de microrganismos, verificando-se interação entre a aplicação de bactérias com o regime hídrico e também com os tipos de solo.

Tanto sem condições de estresse hídrico quanto sob estresse, a atividade da CAT aumentou em tratamentos inoculados. Em tratamentos sem estresse e sem bactéria a média foi de 0,047 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, e em tratamentos sem estresse com aplicação de *Bacillus* sp. o valor médio foi de 0,111 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, com a inoculação ocorreu um aumento de 57,65%. Sob condições de DH, o tratamento que não recebeu aplicação de microrganismos teve o valor médio de 0,052 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína e com inoculação a média foi de 0,094 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, portanto, tratamentos que foram inoculados aumentaram a atividade da enzima CAT em cerca de 45% aos 133 DAP.

Em relação a interação da aplicação de *Bacillus* sp. e o tipo de solo, foi observado que em ambos os tipos de solo, em tratamentos inoculados o valor médio da atividade da catalase aumentou significativamente. Em solo argiloso o aumento foi de 43,4% e em solo arenoso 56,59%, sendo que em solo arenoso a atividade dessa enzima foi superior tanto com como sem inoculação de microrganismos (Tabela 16).

Foi observada interação entre o regime hídrico e tipo de solo, em solo arenoso e com déficit hídrico foi observada menor atividade da CAT, em relação aos tratamentos sem condições de deficiência hídrica em solo arenoso.

Em tratamentos sem estresse, o menor valor foi em solo argiloso, 0,054 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, já em solo arenoso a média foi de 0,071 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, cerca de 24% de diferença entre os tipos de solo (Tabela 16).

Houve efeito significativo para atividade da CAT aos 147 DAP entre as médias referentes a inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis*. Em tratamentos inoculados com micro-organismos a média foi de 0,070 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína e em tratamentos que não foram inoculados o valor médio foi de 0,032 unidades CAT $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, ou seja, em tratamentos inoculados a média da atividade da CAT foi cerca de 54% superior em relação aos tratamentos não inoculados.

Tabela 16 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo para a atividade da catalase (CAT) em cana de açúcar (126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação regime hídrico (sem e com DH) e tipos de solo para a atividade da CAT (126 e 140 DAP); desdobramento das interações entre inoculação de *Bacillus* sp. e regime hídrico para a atividade da CAT (133 DAP)

		Catalase	
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso	
126 DAP			
Sem bactéria	0,040bA	0,047bA	
Com bactéria	0,080aB	0,105aA	
Regime hídrico			
Sem déficit hídrico	0,060aB	0,069bA	
Com déficit hídrico	0,060aB	0,082aA	
133 DAP			
<i>Bacillus</i> sp.	Sem bactéria	Com bactéria	
Regime hídrico			
Sem déficit hídrico	0,047aB	0,111aA	
Com déficit hídrico	0,052aB	0,094bA	
Tipos de solo			
Solo argiloso	0,043bB	0,076bA	
Solo arenoso	0,056aB	0,129aA	
140 DAP			
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso	
<i>Bacillus</i> sp.			
Sem bactéria	0,039bA	0,039bA	
Com bactéria	0,068aB	0,091aA	
Regime hídrico			
Sem déficit hídrico	0,054aB	0,071aA	
Com déficit hídrico	0,054aA	0,059bA	

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A atividade da catalase permaneceu superior em tratamentos inoculados aos 140 DAP em solo argiloso e arenoso. Tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis* apresentaram as maiores médias em ambos os tipos de solo, argiloso e arenoso (Tabela 17).

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) foi 68,3% superior aos 118 DAP, em tratamentos que tiveram aplicação de micro-organismos, cujo valor médio foi de 2,65 unidades APX min⁻¹ mg⁻¹ proteína, em relação aos tratamentos que não tiveram aplicação, 0,84 unidades APX min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

A inoculação de micro-organismos teve interação significativa entre os fatores: regime hídrico e tipos de solo aos 126 DAP para a atividade da enzima APX. Foi

observado que em ambos os fatores, tanto regime hídrico, quanto tipo de solo, com a inoculação de *Bacillus* sp. houve aumento da atividade da APX.

A atividade da APX aumentou em mais de 70% tanto com, quanto sem déficit hídrico, porém sob estresse hídrico e inoculação a atividade foi maior do que em tratamentos sem déficit hídrico (Tabela 17).

Houve interação entre os fatores, inoculação com *Bacillus* sp. e tipos de solo. Em ambos os tipos de solo, a atividade da APX foi superior em tratamentos inoculados em relação aos tratamentos não inoculados aos 133 DAP.

Em solo argiloso, sem aplicação de micro-organismos a média foi de 0,81 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína e em tratamentos inoculados a média foi de 2,66 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, tratamentos inoculados aumentaram a atividade da ascorbato peroxidase em cerca de 70%.

Em solo arenoso, em tratamentos sem inoculação a média foi de 0,87 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína e em tratamentos inoculados o valor médio da atividade da enzima foi de 3,30 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, diferença de 73,6% (Tabela 17).

As maiores atividades enzimáticas da APX aos 140 DAP foram observadas em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. em ambos os tipos de solo. Além disso, em solo arenoso, o valor médio de 2,90 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína foi superior em relação ao solo argiloso, 2,56 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. Em tratamentos não inoculados não houve diferenças entre os tipos de solo (Tabela 17).

Através da comparação de médias da atividade da APX foi relatado que em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., o valor médio foi 68,4% superior em relação aos tratamentos não inoculados, aos 147 DAP. A média de tratamentos inoculados foi 2,72 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína, e tratamentos não inoculados, 0,86 unidades APX $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Tabela 17 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico (sem e com DH) para atividade da ascorbato peroxidase (APX) em cana de açúcar (126 DAP); aplicação de micro-organismos e tipos de solo para atividade da APX (126, 133 e 140 DAP)

Ascorbato peroxidase		
Fontes de variação	Sem bactéria	Com bactéria
126 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	0,92aB	3,10bA
Com déficit hídrico	0,81aB	3,29aA
Tipos de solo		
Solo argiloso	0,80aB	2,85bA
Solo arenoso	0,92aB	3,53aA
133 DAP		
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	0,81bA	0,87bA
Com bactéria	2,66aB	3,30aA
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	0,78bA	0,84bA
Com bactéria	2,56aB	2,90aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 118 DAP, o conteúdo de prolina foi significativamente menor em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. (1,24 μmol de prolina g^{-1} MS) e em tratamentos não inoculados a média foi 2,51 μmol de prolina g^{-1} MS.

Foi verificada interação entre os fatores aos 126 DAP, assim, a concentração de prolina foi menor nos tratamentos inoculados nos dois tipos de solo, sendo que em solo argiloso a inoculação reduziu em cerca de 60% a concentração de prolina, e em solo arenoso, 41% (Tabela 18).

Através da interação entre regime hídrico e tipo de solo foi possível identificar que em solo argiloso a concentração de prolina foi inferior em comparação ao solo arenoso, tanto com quanto sem déficit hídrico. Em solo arenoso, o valor médio da concentração de prolina nos tratamentos sob condições de déficit hídrico foi 2,55 μmol de prolina g^{-1} MS, e em tratamentos sem DH, a média foi 2,22 μmol de prolina g^{-1} MS, ou seja, aumentou cerca de 13% na concentração de prolina em tratamentos sob DH em solo arenoso aos 126 DAP (Tabela 18).

Houve interação tripla entre os fatores para concentração do aminoácido prolina aos 133 DAP. O conteúdo de prolina foi inferior em plantas inoculadas independentemente do regime hídrico e do tipo de solo.

Em tratamentos sob condições de estresse hídrico, o valor médio foi maior em relação aos tratamentos sem condições de estresse. Além do conteúdo de prolina ser maior em tratamentos inoculados, em solo arenoso, o valor médio do conteúdo de prolina foi superior em relação ao solo argiloso, em ambos regimes hídricos (Tabela 18).

A concentração de prolina foi superior em tratamentos não inoculados em ambos os tipos de solo (140 DAP). Em comparação entre os tipos de solo, os maiores valores observados foram em solo arenoso, tanto em tratamentos inoculados quanto em tratamentos não inoculados (Tabela 18).

O conteúdo de prolina permaneceu superior em tratamentos não inoculados aos 147 DAP, com valor médio de 2,59 μmol de prolina g^{-1} MS, e em tratamentos inoculados, a média foi de 1,07 μmol de prolina g^{-1} MS.

Tabela 18 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para teor de prolina em cana de açúcar (126, 133 e 140 DAP); desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para prolina (126 e 133 DAP); desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e regime hídrico (133 DAP)

Fontes de variação	Prolina	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
126 DAP		
Sem bactéria	2,64aB	3,00aA
Com bactéria	1,04bB	1,77bA
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,82aB	2,22bA
Com déficit hídrico	1,86aB	2,55aA
133 DAP		
Fontes de variação	Sem bactéria	Com bactéria
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	2,78bA	1,34bB
Com déficit hídrico	2,94aA	2,08aB
Tipos de solo		
Solo argiloso	2,60bA	0,82bB
Solo arenoso	3,12aA	2,60aB
Solo argiloso		
Solo arenoso		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,74aB	2,38bA
Com déficit hídrico	1,69aB	3,34aA
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	2,61aB	2,82aA
Com bactéria	0,92bB	1,49bA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.6 Variáveis biométricas

No ponto zero das avaliações (118 DAP), as variáveis altura dos perfilhos, diâmetro dos perfilhos, número de folhas, comprimento da folha +1, largura da folha +1, comprimento da folha +3, largura da folha +3, área foliar e comprimento das hastes apresentaram diferenças significativas a partir da comparação de médias dos tratamentos. Para todas as variáveis a inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* apresentaram médias superiores em relação aos tratamentos não inoculados.

A única variável biométrica que não apresentou diferença aos 118 DAP foi o número de hastes por planta.

Não houve diferença significativa em relação ao número de hastes aos 118 DAP.

Aos 126 DAP, o número de hastes não apresentou diferença significativa.

Aos 133 DAP, houve interação entre aplicação de micro-organismos e tipo de solo. Foi verificada redução no número de perfilhos por planta em tratamentos inoculados em solo argiloso, em relação ao tratamento não inoculado. Porém, no tratamento não inoculado, o valor médio mais alto foi em solo argiloso, comparando ao solo arenoso, resultando em uma diferença de cerca de 23% (Tabela 19).

O número de perfilhos, aos 140 DAP apresentou diferença significativa para aplicação de micro-organismos. Em tratamentos não inoculados, o número de hastes foi maior, 5,04 perfilhos planta⁻¹, e em tratamentos inoculados, o valor médio foi 3,62 perfilhos planta⁻¹.

Observou-se interação significativa entre aplicação de microrganismos e tipos de solo. Sem inoculação o número de perfilhos foi maior, aproximadamente 5,66 perfilhos planta⁻¹, e em tratamentos inoculados, 3,33 hastes planta⁻¹.

Sem inoculação de micro-organismos, em solo argiloso a quantidade de perfilhos foi maior do que em solo arenoso (Tabela 19).

Aos 147 DAP, a quantidade média de perfilhos planta⁻¹ foi maior em tratamentos não inoculados (5,37) e inoculados (3,62), e em solo argiloso (4,83) e arenoso (4,16) (Tabela 19).

Tabela 19 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para número de perfilhos em cana de açúcar (133, 140 e 147 DAP)

Fontes de variação	Número de perfilhos	
	Solo argiloso	Solo arenoso
133 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	4,66aA	3,58aB
Com bactéria	3,33bA	4,00aA
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	5,66aA	4,41aB
Com bactéria	3,33bA	3,91aA
147 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	6,25aA	4,50aB
Com bactéria	3,41bA	3,83aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Aos 118 DAP, em tratamentos inoculados, a altura dos perfilhos foi cerca de 50% superior, cujo valor médio foi de 37,34 centímetros, e em tratamentos não inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis*, a média foi de 18,62 centímetros.

A altura dos perfilhos reduziu em tratamentos inoculados aos 126 DAP, o valor médio para tratamentos inoculados foi 4,37 cm e em tratamentos não inoculados a média foi de 3,58 cm.

Aos 133 DAP, as médias de altura dos perfilhos apresentaram diferenças significativas. Em tratamentos inoculados (40,43 cm) foi 46% superior em relação aos tratamentos não inoculados (21,81 cm). A diferença também foi observada nas médias dos tipos de solo, em solo argiloso (32,03 cm), e solo arenoso (30,22 cm).

A altura dos perfilhos aos 140 DAP foi cerca de 45% maior em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. do que em tratamentos não inoculados. Houve interação entre aplicação de micro-organismos e regime hídrico, em ambas as condições de regime hídrico. Tratamentos não inoculados apresentaram menores médias referente a altura dos perfilhos (Tabela 20).

A altura dos perfilhos, foi influenciada pela aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, sem inoculação a média foi 24,3 cm e com inoculação, 41,14 cm, regime hídrico também influenciou na altura de perfilhos, sem DH 32 cm e com DH 33,44 cm, e também, tipo de solo, argiloso 33,34 cm, arenoso 31,08 cm aos 147 DAP.

Tabela 20 - Desdobramento da interação entre inoculação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e regime hídrico para altura dos perfilhos em cana-de-açúcar (140 DAP)

Fontes de variação	Altura dos perfilhos	
	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
	140 DAP	
<i>Bacillus</i> sp.	cm	
Sem bactéria	23,10bA	22,62bA
Com bactéria	40,32aB	43,24aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Foi verificada diferença significativa para o diâmetro dos perfilhos aos 118 DAP. Em tratamentos inoculados a média foi de 13,15 mm, e em tratamento sem aplicação de micro-organismos, 11,22 mm.

Aos 126 DAP, em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. verificou-se aumento significativo no diâmetro dos perfilhos independente do regime hídrico (Tabela 21).

Tabela 21 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e regime hídrico referentes as médias do diâmetro de perfilhos de cana-de-açúcar (126 DAP)

Fontes de variação	Diâmetro dos perfilhos	
	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
<i>Bacillus</i> sp.	mm	
Sem bactéria	10,51bA	9,88bA
Com bactéria	19,16aB	20,63aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Aos 133 DAP, em tratamentos inoculados, o valor médio do diâmetro do perfilho foi 14,18 mm, ou seja, aumentou significativamente em relação aos tratamentos não inoculados, cuja média foi de 13,12 mm. A média referente ao solo argiloso foi 14,73 mm e em solo arenoso, verificou-se diferença significativa e a média foi de 12,58 mm.

Aos 140 DAP, o diâmetro do perfilho diferiu entre os tipos de solo, sendo que em solo argiloso a média foi de 15 mm e em solo arenoso, 12,90 mm.

Aos 147 DAP, verificou-se diferença significativa do diâmetro do perfilho entre tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. (15,02 mm) e não inoculados (13,81), sem déficit hídrico (13,85 mm), com déficit hídrico (15 mm), solo argiloso (15,30 mm) e solo arenoso (13,52 mm).

Com a inoculação de micro-organismos a média do número de folhas foi de 7,70 folhas por planta e em tratamentos não inoculados, foi de 5,58 folhas aos 118 DAP.

Não houve interação entre os fatores em relação ao número de folhas aos 126 DAP, porém houve diferenças significativas entre as médias do tratamento inoculado, 14,40 folhas por planta e em tratamento não inoculado, 12,40 folhas por planta, diferença de cerca de 14%. O tipo de solo também influenciou significativamente no número de folhas, apresentando em solo argiloso 14,21 folhas, que foi superior em relação ao solo arenoso (12,58).

Em tratamentos inoculados, o número de folhas apresentou média significativamente superior (7,30) em relação a tratamentos não inoculados (6,75) aos 133 DAP.

O número de folhas foi influenciado pela aplicação de micro-organismos, regime hídrico e tipo de solo aos 140 DAP. Os maiores valores médios foram referentes aos tratamentos inoculados (8,04), em tratamentos sob condições de déficit hídrico (7,75) e em solo argiloso (8,20). Em tratamentos não inoculados a média foi 6,87, em tratamentos sem condição de déficit hídrico, 7,16, e em solo arenoso, 6,70.

No último dia de avaliação aos 147 DAP, a inoculação de micro-organismos foi superior, com média de 8,04 folhas por planta, e em tratamentos inoculados, a média foi de 6,62. Além disso, através da comparação de médias foi possível observar que em tratamentos que sofreram com os efeitos do déficit hídrico, o valor foi significativamente superior, 7,62 que em tratamentos sem déficit hídrico, 7,04 folhas por planta. Em solo argiloso, a média também foi superior, 7,75, e em solo arenoso, 6,92 folhas por planta.

Os valores médios do comprimento da folha +1 (118 DAP) apresentaram diferença significativa entre os tratamentos inoculados com bactérias aumentaram em aproximadamente 40% o comprimento da folha +1, 152,62 cm, em relação aos tratamentos sem aplicação de micro-organismos, 90,54 cm.

O comprimento foi influenciado pela inoculação de microrganismos aos 126 DAP, sendo que em tratamentos inoculados, o comprimento da folha +1 (82,50 cm) foi 38,66% superior em relação aos tratamentos não inoculados (75,83 cm).

Apenas a aplicação de *Bacillus* sp. (154,80 cm) foi superior em relação aos tratamentos sem aplicação (98,22 cm) para comprimento da folha +1 aos 133 DAP.

Em tratamentos inoculados, o valor médio do comprimento da folha +1 foi 151,93 cm, e em tratamentos não inoculados, 99,75 cm, diferença de 34,3%, aos 140 DAP.

Verificou-se interação significativa entre as aplicação de micro-organismos e tipos de solo. Tanto no solo argiloso, quanto no solo arenoso, tratamentos inoculados apresentaram as maiores médias para o comprimento da folha +1. Em solo argiloso, a diferença entre tratamentos inoculados e não inoculados foi de 33,65%, e em solo arenoso, 27,25%. Ademais, em tratamentos inoculados, o solo argiloso, 156,12 cm, foi superior em relação ao solo arenoso, 136,83 cm (Tabela 22).

Tabela 22 - Desdobramento da interação entre inoculação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo para comprimento da folha +1 de cana-de-açúcar (147 DAP)

Fontes de variação	Comprimento da folha +1	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	cm	
Sem bactéria	103,58bA	99,54bA
Com bactéria	156,12aA	136,83aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A largura da folha +1 foi influenciada pela inoculação de *Bacillus* sp. aos 118 DAP. Em tratamentos inoculados a média foi de 2,27 cm, e tratamentos não inoculados a média foi 1,64 cm.

A largura da folha +1 foi 8,12% maior em tratamentos inoculados (1,54 cm), em relação aos tratamentos não inoculados (0,95 cm), aos 126 DAP.

Aos 133 DAP, verificou-se influencia da aplicação de *Bacillus* sp e tipos de solo, independentemente da inoculação, a menor largura da folha +1 foi em solo arenoso. Além disso, em solo argiloso, a inoculação de micro-organismos promoveu aumento significativo, 2,42 cm, 20% maior em relação aos tratamentos sem aplicação de *Bacillus* sp., cujo valor médio foi 1,90 cm (Tabela 23).

O mesmo ocorreu para largura da folha +1, a média dos tratamentos inoculados foi superior em relação aos tratamentos não inoculados. Além disso, foi verificado que em solo argiloso o valor médio da largura da folha +1 foi maior do que em solo arenoso aos 140 DAP.

Foi observada interação entre aplicação de micro-organismos e tipos de solo. Em tratamentos inoculados a largura da folha +1 foi maior em relação a tratamentos

não inoculados, ainda, em tratamentos inoculados, em solo argiloso, o valor médio foi superior, 2,62 cm, do que em solo arenoso, 2,17 cm (Tabela 23).

A largura da folha +1, largura da folha +3 e área foliar foram maiores em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. aos 147 DAP. A largura da folha +1 em tratamentos inoculados foi 2,06 cm, e em tratamentos não inoculados 1,766 cm. Além disso, o tipo de solo também apresentou diferença significativa aos 147 DAP, em solo argiloso foi 2,166 cm, sendo a média superior (1,66 cm).

Tabela 23 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para largura da folha +1, (133 e 140 DAP)

Fontes de variação	Largura da folha +1	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
133 DAP		
Sem bactéria	1,90bA	1,62aB
Com bactéria	2,42aA	1,70aB
140 DAP		
<i>Bacillus</i> sp.		
cm		
Sem bactéria	1,73bA	1,70bA
Com bactéria	2,62aA	2,17aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O comprimento da folha +3 foi influenciado pelo tratamento com aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* aos 118 DAP. Tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. (116,68 cm) apresentaram média superior a 38,8% em relação aos tratamentos não inoculados (71,37 cm).

Aos 126 DAP, a inoculação de microrganismos aumentou em 34% o comprimento da folha +3 (121,25 cm) em relação aos tratamentos não inoculados (89 cm). O tipo de solo também apresentou influência significativa, em solo argiloso a média foi 101,09 cm e em solo arenoso, 93,13 cm.

Aos 133 DAP, o comprimento da folha +3 foi significativamente superior em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., cujo valor médio foi 122,60 cm e, em plantas não inoculadas, a média foi 83,08 cm.

O comprimento da folha +3 foi maior em tratamentos inoculados (126,87 cm) do que em tratamentos não inoculados (88,53 cm), aos 140 DAP.

Independentemente do tipo de solo, os valores médios do comprimento da folha +3 foram inferiores em tratamentos não inoculados. Em solo argiloso, essa diferença foi de 33%, e em solo arenoso, 38,5% superior em tratamentos inoculados (Tabela 24).

Tabela 24 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo para comprimento da folha +3 para cana-de-açúcar (147 DAP)

Fontes de variação	Comprimento da folha +3	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	cm	
Sem bactéria	92,70bA	92,00bA
Com bactéria	138,58aB	149,67aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Assim como o comprimento da folha +3, a largura da folha também foi influenciada pela aplicação de micro-organismos. O valor médio referente ao tratamento com aplicação de micro-organismos foi de 1,63 cm e em tratamentos não inoculados a média foi de 1,43 cm.

Verificou-se diferença significativa para os valores médios da largura da folha +3 aos 126 DAP. Tratamentos inoculados apresentaram média de 2,42 cm e em tratamentos não inoculados, 1,78 cm.

Em plantas submetidas ao estresse hídrico, a largura da folha +3 foi superior em relação as plantas sem estresse.

O valor médio da largura da folha +3 foi maior em solo argiloso, 1,67 cm, que em solo arenoso, 1,13 cm. Ainda no segundo ponto das avaliações, observou-se interação entre inoculação com microrganismos, tipos de solo e regime hídrico e tipos de solo.

Tanto sob condições de estresse hídrico, como sem os valores médios da largura da folha +3 foram superiores em solo argiloso em relação ao solo arenoso (Tabela 25).

Tabela 25 - Desdobramento da interação entre inoculação de micro-organismos e tipos de solo e, interação entre regime hídrico e tipos de solo para largura da folha +3 em cana-de-açúcar (133 DAP)

Fontes de variação	Largura da folha +1	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	cm	
Sem bactéria	1,52bA	1,31aB
Com bactéria	1,83aA	0,95bB
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1,65aA	0,98bB
Com déficit hídrico	1,70aA	1,28aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas em relação a largura da folha +3 aos 140 DAP. As maiores médias foram referentes a tratamentos inoculados (1,76 cm), sem aplicação de *Bacillus* sp. (1,43 cm) sob condições de DH (1,65 cm), sem DH (1,54 cm), em solo argiloso (1,72 cm) e, solo arenoso (1,47 cm).

Verificou-se diferença significativa para os valores médios da largura da folha +3 aos 147 DAP, tratamentos inoculados apresentaram média de 2,10 cm e em tratamentos não inoculados, 1,60 cm.

Tratamentos inoculados apresentaram média superior (1389,71 cm²) de área foliar em cerca de 58% em relação aos tratamentos não inoculados (586,52 cm²), aos 118 DAP.

De acordo com a comparação de médias dos tratamentos, a área foliar foi superior em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. aos 126 DAP, cujo valor médio foi 1520,70 cm², e em tratamentos não inoculados com bactérias, 825,41 cm². Além disso, houve interação entre regime hídrico e tipos de solo (Tabela 26).

Em tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis*, a média da área foliar foi maior, 1249,71 cm², aos 133 DAP e em tratamentos não inoculados, 788,86 cm².

Verificou-se interação entre os tratamentos com ou sem inoculação e o tipo de solo, em ambos os tratamentos, os valores médios superiores foram em solo argiloso. Ademais, em solo argiloso, a maior média foi referente a tratamentos que haviam sido inoculados com micro-organismos, 1778,86 cm², e sem inoculação, 972,36 cm², diferença de cerca de 45%. Em solo arenoso, não foi verificada significância entre tratamentos inoculados e não inoculados (Tabela 26).

A área foliar em tratamentos inoculados (1693,90 cm²), foi aproximadamente 50% maior do que em tratamentos não inoculados (860,86 cm²). Os valores médios foram maiores em tratamentos sob condições de déficit hídrico (1349,94 cm²), sem DH (1204,82 cm²), em solo argiloso (1470,84 cm²) e solo arenoso (1082,92 cm²), aos 140 DAP.

A área foliar foi superior em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. aos 147 DAP, cujo valor médio foi 2278,27 cm², e em tratamentos não inoculados com bactérias, 960,98 cm².

Tabela 26 - Desdobramento da interação entre regime hídrico e tipos de solo para área foliar de cana-de-açúcar (126 DAP) e desdobramento da interação entre inoculação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo para área foliar (133 DAP)

Área Foliar		
Fontes de variação	Solo argiloso	Solo arenoso
126 DAP		
Regime hídrico		
Sem déficit hídrico	1117,68bA	1092,52aA
Com déficit hídrico	1392,71aA	1089,32aB
133 DAP		
Tipos de solo	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	972,36bA	605,36aB
Com bactéria	1778,86aA	720,55aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo em relação ao comprimento dos perfilhos aos 118 DAP. Tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. apresentaram média de 118,32 cm e em tratamentos não inoculados a média foi de 80,37 cm, diferença de 68% devido a aplicação de micro-organismos.

Em síntese, aos 118 DAP, com exceção do número de hastes, todas as demais variáveis apresentaram médias superiores em tratamentos com aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* em relação ao tratamento sem inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis*. O que se pode relatar é que a inoculação aumentou o crescimento e desenvolvimento das plantas, seguindo a mesma constante das atividades das enzimas antioxidantes.

Houve efeito significativo em relação ao comprimento dos perfilhos aos 126 DAP com tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., apresentando média de 122,8 cm e em tratamentos não inoculados a média foi de 85,07 cm, diferença de 68% devido a aplicação de micro-organismos.

Em tratamentos com aplicação de microrganismos (128,52 cm) verificou-se aumento de 32% do comprimento dos perfilhos aos 133 DAP, em relação aos tratamentos não inoculados (87,62 cm).

Foi observado que o comprimento dos perfilhos foi maior em tratamentos inoculados (116,08 cm), sem inoculação (90,25 cm), em solo argiloso (113,72 cm), solo arenoso (92,72 cm), o regime hídrico não apresentou influência aos 140 DAP.

Aos 147 DAP, verificou-se interação entre aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo. Em tratamentos inoculados o comprimento dos perfilhos foi maior em ambos os tipos de solo (Tabela 27).

Tabela 27 - Desdobramento da interação entre inoculação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo para comprimento dos perfilhos em cana-de-açúcar (147 DAP)

Fontes de variação	Comprimento dos perfilhos	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	cm	
Sem bactéria	92,50bA	91,49bA
Com bactéria	143,54aA	101,43aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

4 Variáveis de produção de biomassa

A partir da comparação de médias entre os tratamentos, a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) foi 30,804 g em tratamentos inoculados e 21,984 g em tratamentos não inoculados. Com a inoculação houve aumento significativo de 28,63% na matéria seca da parte aérea, sendo superior também em solo argiloso. Verificou-se interação entre inoculação de micro-organismos e tipo de solo, sendo que em solo argiloso a média foi maior tanto com inoculação quanto sem inoculação (Tabela 28).

Houve interação entre inoculação de *Bacillus* sp. e tipos de solo para a massa de MSPA. Tanto em solo argiloso, como em solo arenoso a inoculação aumentou a MSPA, como visualizado na Figura 5. Em solo argiloso, a inoculação aumentou cerca de 28%, e em solo arenoso, cerca de 25% de aumento na MSPA em tratamentos inoculados. Na Figura 6 também pode se observar a comparação entre o tratamento sem inoculação sobre DH (T2) e o tratamento inoculado com DH (T4).

Verificou-se que os tratamentos diferiram em relação a massa de matéria seca da raiz (MSR), porém não houve interações. O valor médio da massa seca das raízes foi aproximadamente 70% superior em tratamentos com inoculação, 69,13 gramas, e em tratamentos não inoculados a média foi 21,52 gramas, como pode-se visualizar as diferenças na Figura 7.

Neste trabalho, houve diferença significativa para razão MSPA/MSR entre os dois regimes hídricos, tanto em plantas inoculadas como em plantas não inoculadas. Em tratamentos inoculados, verificou-se a redução da razão MSPA/MSR tanto sem

DH, quanto sob condições de DH, em relação às plantas que não receberam o inóculo (Tabela 29).

Tabela 28 - Desdobramento da interação entre aplicação de *Bacillus* sp. e tipos de solo na variável MSPA de cana-de-açúcar (147 DAP)

Fontes de variação	MSPA	
	Solo argiloso	Solo arenoso
<i>Bacillus</i> sp.	g	
Sem bactéria	25,666bA	18,302bB
Com bactéria	36,950aA	24,658aB

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 5 - Aspecto visual da parte aérea da cana-de-açúcar em solo argiloso aos 147 DAP, comparando os tratamentos, em que: , T1: tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. e sem déficit hídrico; T2: tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico; T3: tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. e sem déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico



Figura 6 - Aspecto visual da parte aérea da cana-de-açúcar em solo argiloso aos 147 DAP, comparando os tratamentos, em que: T2: tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico



Figura 7 - Comparação entre a matéria seca do sistema radicular da cana-de-açúcar em solo argiloso (A) e solo arenoso (B), em que, T1: tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. e sem déficit hídrico; T2: tratamento sem inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico; T3: tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. e sem déficit hídrico; T4: tratamento com inoculação de *Bacillus* sp. e com déficit hídrico



Tabela 29 - Desdobramento da interação entre aplicação de micro-organismos e regime hídrico para a razão MSPA/MSR em cana-de-açúcar

Fontes de variação	Razão MSPA/MSR	
	Sem déficit hídrico	Com déficit hídrico
<i>Bacillus</i> sp.		
Sem bactéria	1,198aA	0,975aB
Com bactéria	0,443bA	0,451bA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

5 DISCUSSÃO

Segundo Taiz e Zeiger (2013), plantas de metabolismo C4 apresentam taxa fotossintética entre 20 e 40 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, valor observado apenas em tratamentos inoculados com *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* e após a reidratação, ou seja, o aumento da taxa de assimilação de CO_2 pode ter sido promovido pela inoculação. Liu et al. (2017) demonstraram em dados de RNA-seq que uma linhagem de *Bacillus* sp. induziu a regulação positiva de genes relacionados à fotossíntese. Segundo De Sá (2019), o aumento da taxa fotossintética garante a sobrevivência da planta caso o estresse seja prolongado, já que o aumento da taxa fotossintética pode estar relacionado com o aumento da produção de fotoassimilados.

No presente estudo, a taxa de assimilação de CO_2 também foi influenciada pelo tipo de solo, corroborando com os resultados demonstrados por Simões et al. (2015), em que o solo arenoso interferiu negativamente nas trocas gasosas da cultura da cana-de-açúcar, uma vez que esse solo tem menor disponibilidade de água na camada mais superficial (0 a 20 cm) em comparação ao solo argiloso. Além disso, textura e estrutura do solo podem auxiliar na redução de perdas por evaporação (KLEIN; KLEIN, 2015).

Em todos os pontos das avaliações, a taxa de transpiração foi maior em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., além disso, em solo argiloso, as médias também foram superiores em relação as médias do solo arenoso na maioria das avaliações. Isso sugere que com a inoculação, a transpiração foi favorecida, uma vez ocorre o resfriamento das folhas, pois à medida que a transpiração aumenta, reduz a temperatura da folha devido à dissipação de energia na forma de calor latente, tornando-a menor que a temperatura do ar (SARAIVA; ANDRADE; SOUZA, 2014). Outro ponto que vale ser ressaltado é que foi observado que a área foliar foi maior em todos os tratamentos inoculados em ambos os tipos de solo, em todas as avaliações. Portanto, esse aumento da área foliar aumentou a superfície de contato da folha, aumentando a superfície de transpiração. Ao contrário, os resultados obtidos por Munns e Tester (2008) trabalhando com plantas sob estresse salino observaram redução da área foliar relacionada com o estresse, o que reduziu a transpiração das plantas.

O aumento da concentração interna de CO₂ ocorreu em tratamentos inoculados apenas no início da reidratação (140 DAP) e pode ser designado a algum fator não estomático de redução da fotossíntese à medida que o estresse se tornou mais severo. Com a falta de ATP e NADPH, provenientes do transporte de elétrons e assim, da redução do metabolismo de fixação do carbono (SALES et al., 2012; SILVA et al., 2014b). Assim como relatado por Costa e Marrenco (2007), a redução da concentração interna de CO₂ estimulou o aumento da taxa de transpiração e redução da condutância estomática na maioria das avaliações desse estudo. A inoculação de *Bacillus* sp. pode ter tornado as plantas mais sensíveis, assim como relatado por Silva et al. (2013) e Guan et al. (2015), a condutância estomática reduz em cultivares mais sensíveis à seca.

Ao final das avaliações, a taxa fotossintética e a taxa de transpiração se foram superiores em tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis*. A concentração interna de CO₂ foi inferior em tratamentos que foram submetidos ao DH e em tratamentos inoculados não houve efeito da inoculação aos 133 DAP, seguido de aumento aos 140 DAP. A condutância estomática reduziu em tratamentos inoculados em ambos os tipos de solo, exceto aos 133 DAP, quando os tratamentos com déficit hídrico estavam sob máximo estresse. A medida em que o solo estava mais seco, a condutância estomática apresentava maior sensibilidade, assim como relatado em Smit e Singels (2006). Em condições de estresse hídrico, plantas mais sensíveis à seca, fecham os estômatos numa tentativa de restringir a perda de água pela transpiração (MEDEIROS et al., 2013).

O aumento nos teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides de plantas inoculadas pode estar associado à melhor condição de água nas folhas de plantas inoculadas, que pode ter sido promovido pelas bactérias. Aos 126, 133 e 140 DAP foi observado que os índices de clorofila *a*, *b* foram superiores em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., o que pode estar associado a uma sensibilidade maior durante e depois do DH, com a inoculação de BPCV. A inoculação de *Bacillus* sp. aumentou o conteúdo de carotenoides a partir e durante o momento em que os tratamentos foram submetidos ao déficit hídrico, e em solo arenoso, após a reidratação também houve acréscimo com a inoculação.

Os teores de clorofila e os carotenoides em folhas de cana-de-açúcar tiveram comportamentos semelhantes entre tratamentos inoculados, porém, os carotenoides mostraram-se mais sensíveis com a inoculação com *Bacillus* sp., a planta possui um

mecanismo de defesa antioxidante produzindo metabólitos secundários que agem como sequestradores de radicais livres, e o conteúdo de carotenoides está envolvido nessa ação (Barbosa et al., 2014), portanto, nesse caso, o conteúdo de carotenoides pode estar relacionado a maior proteção antioxidante da planta, realizando a limpeza de radicais livres pelos carotenoides, agindo como protetor do fotossistema I e fotossistema II contra os danos oxidativos causados pelo estresse hídrico.

A inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* promoveu diferença significativa em todos os pontos das avaliações para as variáveis densidade estomática abaxial e densidade estomática adaxial.

Quando a água do solo é menos abundante, os estômatos abrirão menos ou permanecerão fechados em uma manhã ensolarada, mantendo seus estômatos fechados sob condições de seca a planta evita a desidratação (TAIZ et al., 2017; PACHECO et al., 2021).

O ácido abscísico (ABA) tem diversas funções nos vegetais, sabe-se de sua importância particular como hormônio regulador do funcionamento dos estômatos, nas situações de estresse hídrico (DURING; ALLEWELDT, 1973). Sua acumulação nas células guarda induz ao fechamento progressivo dos estômatos, reduzindo assim, as perdas de água por transpiração e permitindo as plantas suportar situações de déficit hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2013). Vários trabalhos têm demonstrado que o ABA atua também como emissor de sinais radiculares, transmitindo à parte aérea as primeiras evidências de falta de água captadas pelas raízes das plantas, (TARDIEU et al., 1993; GOWING; JONES; DAVIES, 1993), permitindo às plantas responder às mudanças das condições de extração da água do solo, e encontram-se estreitamente relacionados com a redução da abertura dos estômatos e da atividade fotossintética das folhas de plantas submetidas ao déficit hídrico (AGUIAR, 2012). Muitos microrganismos do solo, como *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, produzem hormônios vegetais e também são conhecidos por modular o nível endógeno de hormônios vegetais nas plantas, modulando assim o equilíbrio hormonal geral da planta e sua resposta ao estresse (TIWARI et al., 2017; KUNDAN et al., 2015).

Assim como relatado por Medina (1999), a redução do potencial hídrico foliar pode ter ocorrido em função do aumento da taxa de transpiração sem que houvesse reposição correspondente da água. No presente estudo, foi verificado que houve redução do potencial hídrico em tratamentos inoculados com *Bacillus* sp., em todas

as avaliações e, também, houve influência do tipo de solo, já que a queda foi relativamente superior em tratamentos com solo arenoso.

O teor relativo de água apresentou diferenças significativas com a aplicação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* apenas aos 147 DAP, momento em que os tratamentos submetidos ao DH já haviam sido reidratados. E aos 147 DAP também foi observada redução na concentração interna de CO₂, ou seja, esses parâmetros podem ter se relacionado positivamente, conferindo maior eficiência do uso da água, assim como relatado por De Lima et al. (2019) em trabalho com *Bacillus subtilis*. em feijão e milho e por Silva (2019) inoculando *Bacillus amyloliquefaciens* em soja.

As atividades das enzimas SOD, CAT e APX foram superiores em tratamentos com aplicação de *Bacillus* sp., e o teor de prolina foi inferior em tratamentos inoculados, inclusive aos 118 DAP, momento que os tratamentos independiam do regime hídrico, pois as plantas ainda não haviam sido submetidos ao déficit hídrico. Notadamente, as plantas não inoculadas mostraram estar mais vulneráveis no início das avaliações, já que qualquer tipo de estresse ambiental pode acumular osmorreguladores, como é o caso da prolina.

O conteúdo de prolina foi menor com a inoculação com *B. subtilis* e *B. licheniformis* em todas as avaliações, o que pode ter sido decorrente de menor vulnerabilidade ao estresse em plantas inoculadas, ocorrendo um redirecionamento do metabolismo vegetal, produzindo substâncias antagonistas, que tornou a planta mais tolerante ao estresse. O mesmo resultado foi observado por Nadeem et al. (2010) em estudo com bactérias promotoras de crescimento vegetal em trigo sob estresse salino, e por Ferreira et al. (2018) em estudo com *Bacillus subtilis* em milho sob estresse salino. Em ambos os trabalhos houve redução na concentração de prolina em tratamentos inoculados com micro-organismos.

A maioria das interações resultantes das análises bioquímicas foram entre os fatores inoculação de *B. subtilis* e *B. licheniformis* e tipos de solo. Como o sucesso de uma BPCV depende do seu estabelecimento, a explicação para a inconstância de resultados disponíveis na literatura pode estar ligado ao fato de que há diferenças na estrutura das comunidades encontradas nos diferentes tipos de solos, e as interações aqui relatadas podem ser válidas como marcadoras do impacto que os solos têm juntamente com as BPCV tentando superar os efeitos de estresse hídrico na cana-de-açúcar no início do seu ciclo.

O aumento das atividades das enzimas SOD, CAT e APX com o fato de que os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis* proporcionaram maior crescimento e produção de biomassa, pode estar atrelado a limpeza das ERO, o que pode ter auxiliado as plantas a se adaptarem ao estresse.

O termo antioxidantes está relacionado à capacidade de eliminar as ERO sem que elas se transformem em radicais nocivos para a planta. As enzimas, portanto, são catalisadoras de reações e estão envolvidas na limpeza das ERO, reparando os eventuais danos oxidativos. Com a inoculação de *Bacillus* sp. essa limpeza foi intensificada, diminuindo a oxidação no sistema vegetal (ANJUM et al., 2017).

Com base nos resultados referentes as avaliações dos parâmetros biométricos, o estudo ganha atenção nos aspectos que envolvem a integração da genética bioquímica e o melhoramento de plantas. A inoculação de microrganismos colabora para o entendimento do aumento da atividade do sistema antioxidante aliado ao crescimento e desenvolvimento da planta.

Além disso, pode-se relatar que há diferença na interação entre aplicação de microrganismos e tipos de solo. O que já era esperado, uma vez que solos arenosos apresentam menor porção de argila e silte, e menores teores de matéria orgânica, o que o tornam mais permeáveis, retendo menos água e com uma menor adsorção de íons (CENTENO et al., 2017; KLEIN, 2015). Frente a isso se faz necessário uma gestão do uso e manejo adequado para estes solos, aumentando sua aptidão agrícola. A aplicação de *Bacillus* sp. aumentou a média das variáveis em solo arenoso, em comparação ao solo argiloso sem inoculação.

É pertinente ressaltar que, segundo Donagemma et al. (2016), solos arenosos são mais propensos a degradação e à perda da capacidade produtiva quando comparados aos solos argilosos, em condições ambientais similares; este fato aumenta a sustentação em relação aos dogmas criados para com os solos arenosos. Porém, esta concepção vem mudando atualmente, em função dos avanços nos sistemas de produção e manejo, tornando viáveis as atividades agrícolas nesses solos (CENTENO et al., 2017). Aliado à isso, é benéfica a aplicação de BPCV em solos arenosos visando aumentar a produção de biomassa, aliados a parâmetros fisiológicos e bioquímicos, além dos biométricos.

Variáveis biométricas como: altura das plantas, número e diâmetro dos colmos, número de folhas e área foliar compõem a produtividade da cana-de-açúcar e se destacam entre os principais componentes produtivos da cana-de-açúcar (SILVA et

al., 2008). Todos esses componentes foram promovidos em tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis* em todas as avaliações em ambos os tipos de solo.

Verificamos que sob condições de estresse hídrico, a inoculação de isolados de BPCV influenciou a produção de biomassa dependendo não só do isolado, mas também do tipo de solo. Mesmo que em ambos os solos foram dadas as condições ideais para o desenvolvimento da cultura.

O processo de colonização do solo deve ser bem regulado a fim de que a planta se beneficie do microbioma selecionado (YAN et al., 2017). O processo de colonização representa gasto energético para a planta e, somado a submissão do déficit hídrico, esse custo energético pode ter sido maior em solo arenoso.

De Souza et al. (2016) e Campos (2010) observaram aumento na massa de matéria seca em cana-de-açúcar inoculada com *Bacillus* sp., semelhantemente aos resultados obtidos neste estudo, em que houve redução da razão MSPA/MSR em tratamentos inoculados com *B. subtilis* e *B. licheniformis*, ou seja, a inoculação fez com que a planta investisse mais no desenvolvimento do sistema radicular em relação a parte aérea. Observou-se incremento de cerca de 70% na massa de matéria seca da raiz, porém, igualmente, houve incremento de cerca de 30% na massa de matéria seca da parte aérea em tratamentos inoculados (SILVEIRA, 2018; FREITAS-IORIO, 2016; FREITAS, 2011). Esses autores também verificaram promoção de crescimento, tanto em raízes como em parte aérea, em tratamentos inoculados com BPCV.

Há diversos fatores envolvidos na promoção do crescimento, como a produção e liberação de auxinas, uma vez que quase 80% das bactérias rizosféricas tem capacidade de produzir e liberar auxina como um metabólito secundário, promovendo mudanças na arquitetura e nas propriedades químicas da planta, como expansão, divisão e alongamento celular, ajudando no enraizamento, além de serem os únicos reguladores vegetais que aumentam a formação de primórdios radiculares (PATTEN; GLICK, 1996; MUSTAFA et al., 2019). Além da capacidade de reduzir ou bloquear a síntese do etileno, o gênero *Bacillus* sp. já foi descrito por estimular a redução no teor de etileno (GLICK, 2012; AHEMAD; KIBRET, 2013).

Independentemente da causa da promoção do crescimento radicular estimulada pelas BPCV em cana-de-açúcar, no caso do tipo de solo, o maior desenvolvimento de raízes deve ter conferido ganho adaptativo para os tratamentos inoculados em relação ao controle, permitindo o acesso a maior quantidade de nutrientes e de água.

A promoção do crescimento vegetal obtida pela inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* é importante para o favorecimento do desenvolvimento da cana-de-açúcar, conferindo maior tolerância aos efeitos do déficit hídrico e aumentando a produtividade da cultura.

5.1 Considerações finais

Os resultados obtidos neste trabalho são importantes para conhecer as possibilidades da inoculação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* como promotores de crescimento para a cultura da cana-de-açúcar, visando melhorar a condução da cultura e aumentar a produtividade. De acordo com os resultados aqui apresentados, em síntese na Figura 8, foi feita uma comparação entre os tratamentos inoculados e não inoculados, em solo argiloso e em solo arenoso. Em relação ao tratamento controle, isolando o regime hídrico, quando houve interações entre o fator inoculação de *Bacillus* sp. e tipos de solo, levou-se em consideração o aumento ou redução em cada tipo de solo, ademais, quando não houve interação, a comparação foi feita utilizando a comparação de médias dos tratamentos, nesse caso utilizando a comparação entre tratamentos inoculados ou não inoculados.

A eficiência de uma BPCV em promover crescimento ou mitigar o estresse hídrico está ligada à sua capacidade de se estabelecer em raízes. Tendo isso em mente e considerando que o solo é o maior fornecedor de micro-organismos formadores de comunidades rizosféricas/endosféricas, torna-se clara a necessidade de buscar respostas para sucessos e fracassos de BPCV. Assim, trabalhos da interação BPCV-planta devem incluir solos, com diferentes características, como uma fonte de variação para checar se os se os microrganismos agem mitigando os efeitos do estresse sob mesmas condições.

De acordo com os resultados, os efeitos foram satisfatórios em ambos os tipos de solo, promovendo a mitigação dos efeitos do estresse hídrico. Em solo argiloso, a inoculação agiu em maior potencial em relação ao solo arenoso, neste também promoveu efeitos significativos, porém de forma mais moderada.

As bactérias promotoras do crescimento vegetal oferecem enorme potencial para benefícios agrícolas, além de tornar os sistemas agrícolas resilientes às mudanças climáticas, ajudando a aliviar os efeitos de estresses.

6 CONCLUSÃO

A inoculação com *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* nas gemas no momento do plantio da cana-de-açúcar foi eficaz no aumento da tolerância a deficiência hídrica e na promoção do crescimento vegetal, mitigando os efeitos do estresse na fase inicial do ciclo da cultura, tanto no solo argiloso quanto no arenoso.

Os tratamentos inoculados responderam de modo rápido ao déficit hídrico, observou-se a redução da razão MSPA/MSR, houve ativação do sistema de defesa aumentando a atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT e com a redução do estresse houve aumento do crescimento das plantas.

Variáveis biométricas como: altura das plantas, diâmetro dos colmos, número de folhas e área foliar foram aumentadas, não foram prejudicadas, indicando maior tolerância ao estresse.

A inoculação com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* afetou na transpiração, taxa de assimilação de CO₂, concentração interna de CO₂, condutância estomática, pigmentos fotossintéticos e densidade estomática, esses mecanismos contribuíram durante o déficit e/ou após a reidratação, mitigando os efeitos do estresse e auxiliando a recuperação da planta.

REFERÊNCIAS

- ABRANS, M. C.; KLOEPPEL, B. D.; KUBISKE, M. E. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 10, p. 343-355, 1992.
- AGROLINK, **FMC apresenta portfólio inovador para cana-de-açúcar durante o Megacana Tech Show**. Campo Florido: AGROLINK & ASSESSORIA, 2019
Disponível em: < https://www.agrolink.com.br/noticias/fmc-apresenta-portfolio-inovador-para-cana-de-acucar-durante-o-megacana-tech-show_422731.html >
Acesso em: 14 jan 2022.
- AGUIAR, K. P. **Prospecção de bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a vermicompostos**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2012.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Recent trends in microbial biosorption of heavy metals: a review. **Biochemistry and Molecular Biology**, New York, v. 1, n. 1, p. 19-26, 2013.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.
- ALEXANDER, A. G. et al. **Sugarcane physiology, a comprehensive study of the Saccharum source-to-sink system**, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1973.
- ANGULO, C.V.; SANFUENTES, E.A.; RODRÍGUEZ, F.; SOSSA, K.E. Caracterización de rhizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. **Revista Argentina de Microbiología**, Buenos Aires, v.46, p.338-347, 2014.
- ANJUM, S. A.; XIE, X.; WAN, L. C.; SALEEM, M. F.; MAN, C.; LEI, W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research**, Ikeja, v. 6, n. 9, p. 2026-2032, 2011.
- ANJUM, S. A.; ASHRAF, U.; TANVEER, M.; KHAN, I.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; WANG, L. C. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontiers In Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 1-12, 2017.
- ARAÚJO, F.F.; BRAGANTE, R. J.; BRAGANTE, C. E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 52-60, 2012.
- BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SMITH, D. L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of bioestimulants for

sustainable agricultura. **Frontiers in Plant Science**. Lausanne, v. 9, p. 9-1473, Out, 2018.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. **Jaboticabal, FCAV/UNESP**. 396p, 2015.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. D. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, p. 453-460, 2014.

BATES L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, p. 205-207, 1973.

BECKERS, G. J. M.; JASKIEWICZ, M.; LIU, Y.; UNDERWOOD, W. R.; HE, S. Y.; ZHANG, S.; CONRATH, U. Mitogen-Activated Protein Kinases 3 and 6 Are Required for Full Priming of Stress Responses in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Cell**, Cary, v. 21, n. 3, p. 944–953, 2009.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1531-1540, 2000.

BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGIO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 74, p. 165-175, 2014.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparison of leaf morphology of tree species from three distinct successional stages of tropical rain forest (Atlantic Forest) in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, Heidelberg, v. 26, p. 61-72, 2003.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance, **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 83-116, 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDI, F.; HECK, D. W.; FERREIRA, T. C.; BETTIOL, W. Commercial formulations of *Bacillus spp.* for sugarcane pineapple disease control and growth promotion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v. 53, n. 12, p. 1311-1319, Dec, 2018. DOI: 10.1590/S0100-204X2018001200003. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2018001201311&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em: 14 jan 2022.

CAMEHL, I.; SHERAMETI, I.; VENUS, Y.; BETHKE, G.; VARMA, A.; LEE, J.; OELMÜLLER, R. Ethylene signalling and ethylene-targeted transcription factors are required to balance beneficial and nonbeneficial traits in the symbiosis between the

endophytic fungus *Piriformospora indica* and *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, Chichester, v. 185, n. 4, p. 1062–1073, 2010.

CAMPOS, J.T. DE. (2010). **Rizobactérias promotoras do crescimento de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado). Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, SP, Brasil, 2010.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Ed.) **Ecofisiologia de culturas extrativas. Cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Stoller do Brasil. p. 138., 2001.

CRUZ DE CARVALHO, M. H. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v.3, n. 3, p. 156-165, 2008.

CARVALHO, F. E. L.; RIBEIRO, C. W.; MARTINS, M. O.; BONIFACIO, A.; STAATS, C. C.; ANDRADE, C. M.; SILVEIRA, J. A. Cytosolic APX knockdown rice plants sustain photosynthesis by regulation of protein expression related to photochemistry, Calvin cycle and photorespiration. **Physiologia Plantarum**, Blacksburg, v.150, n. 4, p. 632-645, 2014

CENTENO, L. N.; GUEVARA, M. D. F.; CECCONELLO, S. T.; DE SOUSA, R. O.; TIMM, L. C. Textura do solo: Conceitos e aplicações em solos arenosos. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 31-37, 2017.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, n. 5, p. 669–678, 2010.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da safra brasileira. Cana, v. 7 – Safra 2020/21, n. 4 - Quarto levantamento. Brasília, p. 1-57, Janeiro 2022.

CONN, K. L., LAZAROVITS, G., NOWAK, J. A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 9, p. 801-808, 1997.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 37, p. 229-234, 2007.

COUTINHO, B. G.; LICASTRO, D.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; CÂMARA, M.; VENTURI, V. Plant-influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 28, n. 1, p. 10-21, 2015

DE LIMA, B. C.; MORO, A. L.; SANTOS, A. C. P.; BONIFACIO, A.; ARAUJO, A. S. F.; DE ARAUJO, F. F. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean. **Journal of Plant Interactions**, Oxfordshire, v. 14, n. 1, p. 432-439, 2019.

DE SÁ, M. N. F.; DE SOUZA LIMA, J.; DE JESUS, F. N.; PEREZ, J. O.; GAVA, C. A. T. Efeito de *Bacillus* sp. e *Trichoderma* sp. no crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii*. **Acta Brasiliensis**, Campina Grande, v. 3, n. 2, p. 79-81, 2019.

DEMIDCHIK, V. Reactive oxygen species and their role in plant oxidative stress. In: Shabala, S. (Ed.). **Plant Stress Physiology**, Namakkal, Boston, v.2, p. 64-96, 2017.

DONAGEMMA, G. K.; FREITAS, P. L. D.; BALIEIRO, F. D. C.; FONTANA, A.; SPERA, S. T.; LUMBRERAS, J. F.; BORTOLON, L. Characterization, agricultural potential, and perspectives for the management of light soils in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, p. 1003-1020, 2016.

DURING, H.; ALLEWELDT, G. Der jahrengang abscisinsäure in vegetativen Organen von Reben. **Vitis**, Siebeldingen. v. 12, p. 26-32, 1973.

EL ZAHAR HAICHAR, F.; SANTAELLA, C.; HEULIN, T.; ACHOUAK, W. Root exudates mediated interactions belowground. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 77, p. 69-80, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação dos solos**. Brasília, DF: EMBRAPA. 2006.306 p.

EVANS, J. R. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO₂ between chloroplasts. **The New Phytologist**, Chichester, v. 143, n. 1, p. 93-104, 1999.

FERREIRA, N. C.; MAZZUCHELLI, R. D. C. L.; PACHECO, A. C.; ARAUJO, F. F. D.; ANTUNES, J. E. L.; ARAUJO, A. S. F. D. *Bacillus subtilis* improves maize tolerance to salinity. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 8, 2018.

FERREIRA, T. ***Bacillus* spp. como agentes de controle de Thielaviopsis paradoxa e Fusarium verticillioides e promotores de crescimento de cana-de-açúcar e milho**. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

FICHMAN, Y.; GERDES, S. Y.; KOVÁCS, H., SZABADOS, L., ZILBERSTEIN, A.; CSONKA, L. N. Evolution of proline biosynthesis: enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation. **Biological Reviews**, Chichester, v. 90, n. 4, p. 1065-1099, 2015.

FMC. **Quartzo: Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA sob nº 00317**. Campinas – SP. 2020.

FRANKOWSKI, J.; LORITO, M.; SCALA, F.; SCHMID, R.; BERG, G.; BAHL, H. Purification and properties of two chitinolytic enzymes of *Serratia plymuthica* HRO-C48. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 176, n. 6, p. 421-426, 2001.

FREITAS, R. P. **Bactérias diazotróficas endofíticas associadas à cana-de-açúcar**. 2011. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical. Área de concentração: Gestão de Recursos Agroambientais–Microbiologia do Solo) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas–SP, 2011.

FREITAS-IÓRIO, R. F. **Interação de bactérias endofíticas e cana-de-açúcar: Efeitos na planta e nas comunidades microbianas rizosférica e endofítica**. Tese. (Doutorado em Gestão de Recursos Ambientais) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2016.

DE GARA, L.; LOCATO, V.; DIPIERRO, S.; DE PINTO, M. C. Redox homeostasis in plants. The challenge of living with endogenous oxygen production. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, Victoria, v. 173, n. 31, p.13-19. 2010

DE SOUSA, C. C. M.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, M. M.; CAVALCANTE, U. M. T.; PEREIRA FILHO, J. V. Estresse hídrica e seus efeitos no desenvolvimento inicial e atividade bioquímica em cana-de-açúcar com a dupla inoculação de *Meloidogyne incognita* e fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 10, n. 4, p. 726, 2016.

GASCHO, G.J.; SHIH, S.F. Sugarcane. In: TEARE, I.D.; PEET, M.M. (Ed.) **Crop water relations**. New York: John Wiley, p.445-479, 1983.

GIANNOPOLITIS, C.N.; REIS, S.K. Superoxide dismutases. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.59, n. 2, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUJELA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, New York, v.18, e963401, 2012. doi: 10.6064/2012/963401.

GLICK, B. R. **Beneficial Plant-bacterial Interactions**. Heidelberg. Springer, 2015.

GRAÇA, J. P.; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. D.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ZINGARETTI, S. M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Heidelberg, v. 22, n.3, p.189-197, 2010.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

GOWING, D.J.G., JONES, H.G., DAVIES, W.J. Xylem-transported abscisic acid: the relative importance of its mass and its concentration in the control of stomatal aperture. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 1, n. 4, p. 453-459, 1993.

GORAI, M.; HACHEF A.; NEFFATI, M. Differential responses in growth and water relationship of *Medicago sativa* (L.) cv. Gabès and *Astragalus gombiformis* (Pom.) under water-limited conditions. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, Abu Dhabi-Al Ain, n. 22, v. 1, p. 01-12, 2010.

GONÇALVES, E.R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. D. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedade de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 4, p. 378-386, 2010.

GUAN, X. K.; SONG, L.; WANG, T. C.; TURNER, N. C.; LI, F. M. Effect of Drought on the Gas Exchange, Chlorophyll Fluorescence and Yield of Six Different-Era Spring Wheat Cultivars. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 201, n. 4, p. 253-266, 2015.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; OLIVEIRA, J. P. D.; RANGEL, P. H. N.; RODRIGUES, C. A. P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 41, n. 1, p. 126-134, 2011.

GUSAIN, Y. S.; SINGH, U. S.; SHARMA, A. K. Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 14, n. 9, p. 764-773, 2015.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar da cana-de-açúcar. **Revista STAB: açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n.1, p. 32-34, 1999.

HOU, X.; WANG, X. J.; SUN, Z. T.; ZHANG, Y.; YANG, M. T.; BAI, J. G. *Bacillus methylotrophicus* CSY-F1 alleviates drought stress in cucumber (*Cucumis sativus*) grown in soil with high ferulic acid levels. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 431, n.1, p. 89-105, 2018.

ICHIWAKI, S. **Efeitos da inoculação de *Enterobacter* sp. ICB481 sobre o crescimento e acúmulo de proteico em plântulas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) submetidas a fertilização orgânica e convencional.** Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

JAMAUX, I.; STEINMETZ, A.; BELHASSEN, E. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. **New Phytologist**, Chichester, v.137, n.1, p.117-127, 1997.

- KANG, B. G.; KIM, W. T.; YUN, H. S.; CHANG, S. C. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. **Plant Biotechnology Reports**, Tokyo, v. 4, n. 3, p. 179-183, 2010.
- KLEIN, C.; KLEIN, V. A. Estratégias para potencializar a retenção e disponibilidade de água no solo. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 19, n. 1, p. 21-29, 2015.
- KUNDAN, R., PANT, G., JADON, N., AND AGRAWAL, P. K. Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. **Journal of Fertilizers & Pesticides**, Brussels, v. 6, n. 2, p. 9, 2015.
- LABANCA, E. R. G. **Impacto de bactérias promotoras de crescimento de plantas no microbioma radicular e na fisiologia da cana-de-açúcar em solo com excesso de alumínio**. Campinas, 2019, Tese (Doutorado em Gestão de Recursos Agroambientais) - Instituto Agronômico Campinas, 2019.
- LANDELL, MG DE A.; CAMPANA, M. P.; FIGUEIREDO, P.; XAVIER, M. A.; ANJOS, I. D.; DINARDO-MIRANDA; L. L.; MIGUEL, P. E. M. Sistema de multiplicação de cana-de-açúcar com uso de mudas pré-brotadas (MPB), oriundas de gemas individualizadas. Ribeirão Preto: **Instituto Agronômico de Campinas**, v. 17, 2012.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora RIMA, p. 531. 2006.
- LAZAROVITZ, G. e NOWAK, J. Rhizobacterium for improvement of plant growth and establishment. **Hortscience**, Alexandria, v. 32, n. 2, p. 188-192. 1997.
- LIM, J. H.; KIM, S. D. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in Pepper. **The Plant Pathology Journal**. Daegu, v. 29. n. 2, p. 201-208, Mar, 2013. DOI: 10.5423/PPJ.SI.02.2013.0021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25288947/>> Acesso em: 14 jan 2022.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**, San Diego, v. 148, p. 331-382, 1997.
- LIU, S.; HAO, H.; LU, X.; ZHAO, X.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, R. Transcriptome profiling of genes involved in induced systemic salt tolerance conferred by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 in *Arabidopsis thaliana*. **Scientific Reports**, London, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.
- LUGTENBERG, B.; KAMILOVA, F. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. **Annual review of Microbiology**, Palo Alto, v.63, p.541–56, 2009.
- MAGRO, F.J.; TAKAO, G.; CAMARGO, P. E.; TAKAMATSU, S. Y. **Biometria em cana-de-açúcar**. USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2011.
- MAIA JÚNIOR, S. O. **Tolerância de cultivares de cana-de-açúcar ao déficit hídrico: relações hídricas, trocas gasosas, fluorescência da clorofila e**

metabolismo antioxidante. Tese (Doutorado em Agronomia). Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, p. 168. 2017.

MAJUMDAR, R. K.; CHAKLADAR, B. P.; MUKHERJEE, S. K. Selection and classification of mango root stocks in the nursery stage. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 24, p.101-106, 1972.

MANOEL DA S., J.; CARVALHO DOS S., T. M.; SANTOS DE A., L.; COENTRO M., Y.; UBALDO L. DE O., J.; MESQUITA DA S., S. G.; DA ROCHA O. TEIXEIRA, R. Potential of the endophytic bacteria ('Herbaspirillum'spp. and 'Bacillus' spp.) to promote sugarcane growth. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 9, n. 8, p. 754-760, 2015.

MAUCH-MANI, B.; BACCELLI, I.; LUNA, E.; FLORS, V. Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 68, p. 485–512, 2017.

MAY, A.; RAMOS, N. P. Uso de gemas individualizadas de cana-de-açúcar para a produção de mudas. Jaguariúna: **Embrapa**, 2019. (Circular técnica, n. 19).

MEDEIROS, D. B.; SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; TEIXEIRA, M. M.; BUCKERIDGE, M. S. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Heidelberg, v. 25, n. 3, p. 213-222, 2013.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. de M. de A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 651-681, 2008

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, p. 405-410, 2002.

NADEEM, S.M.; ZAHIR, Z. A.; NAVEED, M.; ASGHAR, H. N.; ARSHAD, M. Rhizobacteria capable of producing ACC-deaminase may mitigate salt stress in wheat. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v.74, p.533-542, 2010.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NARULA, S.; ANAND, R. C.; DUDEJA, S. S.; PATHAK, D. V. Molecular diversity of root and nodule endophytic bacteria from field pea (*Pisum Sativum* L.). **Legume Research: An International Journal**, Karnal, v. 36, n. 4, 2013.

NEIPP, P.W., BECKER, J.O. Evaluation of Biocontrol Activity of Rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii*. **Journal of Nematology**, Ohio, v.31, n.1, p.54-61, 1999.

- NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; BEZERRA NETO, E. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas à déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.13, n. 1, p.75-87, 2001.
- O'DONNELL, P. J.; CALVERT, C.; ATZORN, R.; WASTERNAK, C. H. M. O.; LEYSER, H. M. O.; BOWLES, D. J. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. **Science**, Washington, v. 274, n. 5294, p. 1914-1917, 1996.
- OKU, S.; KOMATSU, A.; NAKASHIMADA, Y.; TAJIMA, T.; KATO, J. Identification of *Pseudomonas fluorescens* chemotaxis sensory proteins for malate, succinate, and fumarate, and their involvement in root colonization. **Microbes and Environments**, Bunkyo-ku, v. 29, n. 4, p. 413-419, 2014.
- ORTOLANI FILHO, J. **Nutrição e adubação de cana-de-açúcar no Brasil**. Piracicaba: Instituto do Açúcar e Alcool/PLANALSUCAR, p. 389, 1983.
- PACHECO, F.; LAZZARINI, L. E.; ALVARENGA, I. Metabolismo relacionado com a fisiologia dos estômatos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiana, v. 18, n. 36, 2021.
- PANDYA, M.; RAJPUT, M.; RAJKUMAR, S. Exploring plant growth promoting potential of non rhizobial root nodules endophytes of *Vigna radiata*. **Microbiology**, London, v. 84, n. 1, p. 80-89, 2015
- PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 42, n. 3, p. 207-220, 1996.
- PAULI, G. *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* no controle de nematoides. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 15., 2017, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: Siconbiol, 2017. p. 85.
- PIETERSE, C. M. J. Hormonal Modulation of Plant Immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, Palo Alto, v. 28, p. 489–521, 2012.
- PINCELLI, R.P.; SILVA, M. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 4, p. 546-556, 2012.
- RAE, A. L.; MERTINELLI, A. P.; DORNELAS, M. C. Anatomy and Morphology, Chapter 2, p 19-34. In: MOORE e BOTHA, 2014. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**, New Delhi, v.1, 2014.
- RAIJ, B. VAN; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997.

RAMAIAH, B.; NARASIMHA R.A.O., G.; PRASAD, G. Elimination of internodes in sugarcane seed piece. **Proceedings of International Society for Sugar Cane Technologists**, Berlin, v.1, p. 509-1, 1977.

RASHID, S.; CHARLES, T. C.; GLICK, B. R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 61, p. 217-224, 2012.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 11, p. 1189-1202, 2004.

RHO, H.; HSIEH, M.; KANDEL, S. L.; CANTILLO, J.; DOTY, S. L.; KIM, S. H. Do Endophytes Promote Growth of Host Plants Under Stress? A Meta-Analysis on Plant Stress Mitigation by Endophytes. **Microbial Ecology**, New York, v. 75, p. 407–418, 2018.

RODRIGUES, J. D. et al. **Ecofisiologia da cana-de-açúcar**. 1ª Edição. São Paulo: Andrei, 2018. 177 p.

RUDRAPPA, T.; CZYMMEK, K. J.; PARE, P. W.; BAIS, H. P. Root-Secreted Malic Acid Recruits Beneficial Soil Bacteria. **Plant Physiology**, Rockville, v. 148, n. 3, p. 1547–1556, 2008.

SAHARAN, B. S.; RANGA, P. Enhanced decolourization of congo red dye under submerged fermentation (SMF) process by newly isolated *Bacillus subtilis* SPR42. **Journal of Applied and Natural Science**, Uttarkhand, v. 3, n. 1, p. 51-53, 2011.

SAINI, R.; DUDEJA, S. S.; GIRI, R.; KUMAR, V. Isolation, characterization, and evaluation of bacterial root and nodule endophytes from chickpea cultivated in Northern India. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v. 55, n. 1, p. 74-81, 2015.

SALES, C. R. G.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, R. S.; DOVIS, V. L.; LAGÔA, A. M. M. A. Trocas gasosas e balanço de carboidratos em plantas de cana-de-açúcar sob condições de estresses radiculares. **Bragantia**, Campinas, v.71, n. 3, p. 319-327, 2012.

SANDHYA, V. S. K. Z.; ALI, S. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; VENKATESWARLU, B. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 62, n. 1, p. 21-30, 2010.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**: Campina Grande, v. 2, n.3, p. 287-294, 1998.

SANTOYO, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; DEL CARMEN OROZCO-MOSQUEDA, M.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 183, p.92-99, 2016.

SARAIVA, G. F. R.; ANDRADE, R. S.; SOUZA, G. M. Termografia por infravermelho como ferramenta de diagnóstico precoce de estresse hídrico severo em soja. **Agrarian Academy**, Goiana, v. 1, n. 02, p.158-169, 2014.

SCANDALIOS, J. G., Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995–1014, 2005.

SCHOLANDER, P. F.; J HAMMEL, H.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Washington, v. 148, n. 3668, p. 339-46, 1965.

SHAHAROONA, B.; JAMRO, G. M.; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M.; MEMON, K. S. Effectiveness of various *Pseudomonas* spp. and *Burkholderia caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 17, n. 8, p. 1300-1307, 2007.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, Oxford, 1-26, 2012.

SIDDIKEE, M. A.; GLICK, B. R.; CHAUHAN, P. S.; JONG YIM, W.; SA, T. Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 49, n. 4, p. 427-434, 2011.

SILVA, L. D. A.; BRITO, M. E.; SÁ, F. V. D. S.; MOREIRA, R. C.; SOARES FILHO, W. D. S.; FERNANDES, P. D. Mecanismos fisiológicos em híbridos de citros sob estresse salino em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, p. 1-7, 2014b.

SILVA, M. A.; SOARES, R. A. B.; LANDELL, M. G. A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance os sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 656-661, 2008.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SHARMA, V.; DA SILVA, J. A.; CAPUTO, M. M.; DAMAJ, M. B.; FERRO, M. I. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, New Delhi, v.13, n. 3, p.191-197, 2011.

SILVA, M.A.; JIFON, J. L.; DA SILVA, J. A. G.; DOS SANTOS, C. M.; SHARMA, V. Relationships between physiological traits and productivity of sugarcane in response to water deficit. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 152, n.1, p. 104-118, 2013.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por

deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.

SILVA, M. C. de A. P. da et al. **Impacto da inoculação com cepas da bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* sobre os processos fisiológicos de soja exposta à seca**. 2019. Trabalho de conclusão de curso - Bacharelado em Ciências Biológicas, IF Goiano, Rio Verde. 2019. Disponível em: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/716/1/tcc_Maria%20Silva_Fernanda%20Farnese.pdf. Acesso em: 24 de maio de 2022.

SILVEIRA, A. P. D. Exploitation of new endophytic bacteria and their ability to promote sugarcane growth and nitrogen nutrition. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 112, n. 2, p. 283-295, 2018.

SIMÕES, W. L.; CALGARO, M.; COELHO, D. S.; SOUZA, M. A. D.; LIMA, J. A. Respostas de variáveis fisiológicas e tecnológicas da cana-de-açúcar a diferentes sistemas de irrigação¹. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, p. 11-20, 2015.

SINGH, P. P.; SHIN, Y. C.; PARK, C. S.; CHUNG, Y. R. Biological control of Fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, n. 1, p. 92-99, 1999.

SIQUEIRA, G. F. **Eficácia da mistura de glifosato a outros maturadores na cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2009.

SMIT, M.A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, South Africa, v. 98, n. 2-3, p. 91-97, 2006.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W. D.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

STRINGLIS, I. A.; YU, K.; FEUSSNER, K.; DE JONGE, R.; VAN BENTUM, S.; VAN VERK, M.; PIETERSE, C. M. MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.115, n. 22, p.5213-5222, 2018.

SUBRAMANIAN, P.; MAGESWARI, A.; KIM, K.; LEE, Y.; SA, T. Psychrotolerant Endophytic *Pseudomonas* sp. Strains OB155 and OS261 Induced Chilling Resistance in Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* Mill.) by Activation of Their Antioxidant Capacity. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 28, n. 10, p. 1073–1081, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p. 719, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 918, 2013.

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

TARDIEU, F., ZHANG, J., GOWING, D.J.G. (1993) Stomatal control by [ABA] in the xylem sap and leaf water status: a test of a model for droughted or ABA field-grown maize. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v. 16, n. 4, p. 413-420, 1993.

TEWARI, S.; ARORA, N. K. Transactions among microorganisms and plant in the composite Rhizosphere habitat. In: Naveen KA (ed) **Plant microbe symbiosis: fundamentals and advances**. Springer, New Delhi, p. 1–50, 2013.

TIWARI, S.; PRASAD, V.; CHAUHAN, P. S.; LATA, C. *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant response to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in Rice. **Frontiers in Plant Science**, Lucknow, v. 8, p. 327-347, Ago, 2017.

UFSCAR - Universidade Federal de São Carlos. Departamento de Biotecnologia Vegetal. Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar. **Variedades RB de cana-de-açúcar**. 1 ed. Araras: CCA/UFSCar, p. 30, 2008.

VAN DILLEWJIN, C. Botany of sugarcane. **Chronica Botanica**, Waltham, p. 371, 1952.

VAN LOON, L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. In: **New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research**. Springer, Dordrecht, 2007. p. 243-254.

VARDHARAJULA, S.; ZULFIKAR ALI, S.; GROVER, M.; REDDY, G.; BANDI, V. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: Effect on growth osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **Journal of Plant Interactions**, Oxfordshire, v. 6, n. 1, p. 1-14, 2011.

VIOLANTE, M. H. S. R. **Potencial de produção de cana-energia em áreas agrícolas marginais no Brasil**. 2012. Dissertação (Mestrado em Agroenergia) – Escola de Economia de São Paulo da Fundação Getúlio Vargas (FGV/EESP), São Paulo, 2012.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growthpromoting rhizobacteria. **Microbiological Research**. Muenchen, v. 184, p. 13-24, Dec, 2015.

WALDRON, J. C.; GLASZIOU, K. T.; BULL, T. A. The physiology of sugar cane.IX. Factors affecting photosynthesis and sugar storage. **Australian Journal of Biological Sciences**, Lismore, v. 20, n. 6, p. 1043-52, 1967.

WEI, C. Y.; LIN, L.; LUO, L. J.; XING, Y. X.; HU, C. J.; YANG, L. T.; AN, Q. Endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E promotes sugarcane growth. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.50, n. 4, p.657–666, 2014.

YANG, D.; CHEN, D.; WANG, P.; JIANG, D.; XU, H.; PANG, X.; LI, K. Aluminium-inhibited NO₃-uptake is related to Al-increased H₂O₂content and Al-decreased plasma membrane ATPase activity in the root tips of Al-sensitive black soybean. **Functional Plant Biology**, Clayton, v. 44, n. 2, p. 198–207, 2017.

YOSHIBA, Y.; KIYOSUE, T.; NAKASHIMA, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 1095-1102, 1997.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Análise de variância de parâmetros fisiológicos: taxa de assimilação de CO₂ (A), concentração interna de CO₂ (Ci), taxa de transpiração (E) e condutância estomática (gs) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.

FV	A	Ci	E	gs _s
-----F-----				
118 DAP				
Bactéria (A)	1,08NS	79,63**	20,35**	1,52NS
Regime hídrico (B)	1,70NS	2,61NS	0,20NS	4,49*
Tipo de solo (C)	0,34NS	2,09NS	3,21NS	0,40NS
Int. AxB	1,06NS	2,44NS	0,69NS	0,16NS
Int. AxC	1,62NS	0,01NS	1,04NS	0,00NS
Int. BxC	0,00NS	8,25**	0,29NS	0,03NS
Int. AxBxC	0,06NS	0,03NS	0,07NS	0,03NS
CV	12,98	12,87	16,95	12,75
126 DAP				
Bactéria (A)	1,79NS	34,70**	52,59**	59,16**
Regime hídrico (B)	23,29**	5,12*	31,16**	0,84NS
Tipo de solo (C)	179,70**	256,59**	107,09**	170,28**
Int. AxB	6,92*	1,82NS	1,53NS	32,07**
Int. AxC	8,26**	4,73*	5,06*	38,91**
Int. BxC	2,15NS	18,60**	3,35NS	0,37NS
Int. AxBxC	13,78**	9,36**	3,64NS	11,34**
CV	13,18	8,62	20,45	18,68
133 DAP				
Bactéria (A)	27,96**	0,00NS	9,30**	37,03**
Regime hídrico (B)	621,3**	1039,62**	357,83**	582,74**
Tipo de solo (C)	1,13NS	1,08NS	101,35**	17,49**
Int. AxB	0,27NS	0,58NS	0,17NS	8,15**
Int. AxC	6,96*	5,67*	3,31NS	0,10NS
Int. BxC	11,17**	22,79**	86,94**	8,82**
Int. AxBxC	0,51NS	0,01NS	6,47*	0,91NS
CV	15,03	9,94	15,86	12,84
140 DAP				
Bactéria (A)	23,79**	57,88*	49,91**	148,93**
Regime hídrico (B)	43,30**	37,65**	1,91NS	0,58NS
Tipo de solo (C)	235,81**	29,59**	47,81**	3,31NS
Int. AxB	3,03NS	8,12**	0,11NS	0,46NS
Int. AxC	128,28**	26,34**	42,00**	0,00NS
Int. BxC	16,72**	112,56**	0,33NS	0,13NS
Int. AxBxC	5,99*	36,37**	2,30NS	0,17NS
CV	10,02	11,78	15,44	8,87
147 DAP				
Bactéria (A)	104,91**	307,77**	126,32**	0,20NS
Regime hídrico (B)	1,08NS	10,05**	13,03**	10,02**
Tipo de solo (C)	3,47NS	0,00NS	38,87**	8,23**
Int. AxB	0,69NS	0,10NS	9,76**	5,19*

Int. AxC	0,06NS	2,99NS	27,86**	12,39**
Int. BxC	2,59NS	3,94NS	8,68**	40,44**
Int. AxBxC	0,67NS	1,25NS	8,86**	18,39**
CV	9,08	11,11	18,85	9,92

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente

APÊNDICE 2 - Análise de variância dos pigmentos fotossintéticos: clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), carotenoides (Carot.) e índice SPAD em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.

FV	Chl a	Chl b	Carot.	SPAD
	µg cm ⁻²			-
	----- F -----			
118 DAP				
Bactéria (A)	0,43NS	0,07NS	3,35NS	3,73NS
Regime hídrico (B)	6,98*	5,06*	3,53NS	0,10NS
Tipo de solo (C)	10,19**	7,00*	18,01**	0,25NS
Int. AxB	0,55NS	0,17NS	0,01NS	1,90NS
Int. AxC	2,47NS	1,10NS	0,88NS	0,01NS
Int. BxC	4,85*	3,50NS	0,16NS	0,09NS
Int. AxBxC	0,87NS	0,85NS	0,07NS	2,22NS
CV	9,80	11,31	12,78	5,32
126 DAP				
Bactéria (A)	14,50**	7,48**	7,15**	94,29**
Regime hídrico (B)	135,73**	54,40**	0,35NS	3,75NS
Tipo de solo (C)	17,47**	24,79**	13,35**	18,62**
Int. AxB	0,02NS	0,00NS	2,20NS	3,93NS
Int. AxC	1,59NS	1,58NS	0,02NS	10,91**
Int. BxC	103,98**	65,97**	16,40**	1,64NS
Int. AxBxC	0,03NS	0,05NS	0,42NS	0,92NS
CV	9,91	11,75	14,32	7,07
133 DAP				
Bactéria (A)	48,49**	23,66**	29,84**	192,49**
Regime hídrico (B)	157,12**	51,39**	5,68*	9,56**
Tipo de solo (C)	239,02**	152,12**	65,59**	312,18**
Int. AxB	8,13**	6,50*	21,33**	12,02**
Int. AxC	1,57NS	1,85NS	4,83*	28,64**
Int. BxC	8,58**	2,91NS	0,96NS	10,62**
Int. AxBxC	1,60NS	1,01NS	2,86NS	4,47*
CV	10,56	13,56	15,47	9,39
140 DAP				
Bactéria (A)	11,96**	5,42*	0,06NS	86,38**
Regime hídrico (B)	90,97**	45,59**	18,58**	9,14**
Tipo de solo (C)	89,85**	57,21**	69,39**	59,45**
Int. AxB	0,65NS	0,52NS	0,00NS	0,27NS
Int. AxC	2,55NS	1,83NS	0,00NS	0,46NS
Int. BxC	55,61**	36,01**	17,62**	4,98*
Int. AxBxC	0,75NS	1,12NS	0,18NS	0,76NS

CV	10,27	11,81	12,53	7,66
147 DAP				
Bactéria (A)	6,91*	4,37*	14,81**	231,40**
Regime hídrico (B)	30,81**	20,30**	21,11**	18,89**
Tipo de solo (C)	87,64**	73,09**	0,10NS	7,01*
Int. AxB	0,00NS	0,03NS	66,51**	0,23NS
Int. AxC	5,57*	6,45*	20,88**	1,65NS
Int. BxC	8,60**	7,52**	14,19**	0,45NS
Int. AxBxC	0,02NS	0,03NS	64,40**	1,75NS
CV	10,92	10,69	13,84	8,31

Em que: FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente

APÊNDICE 3 - Análise de variância da densidade estomática abaxial (ABA) e adaxial (ADA) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.

Fontes de variação	ABA	ADA
	est mm ⁻²	est mm ⁻²
-----F-----		
118 DAP		
Bactéria (A)	96,53**	168,07**
Regime hídrico (B)	0,06NS	0,10NS
Tipo de solo (C)	0,39NS	0,17NS
Int. AxB	9,83**	1,30NS
Int. AxC	0,56NS	0,08NS
Int. BxC	0,41NS	1,24NS
Int. AxBxC	0,00NS	0,08NS
CV	8,47	9,87
126 DAP		
Bactéria (A)	249,27**	105,63**
Regime hídrico (B)	15,11**	1,52NS
Tipo de solo (C)	0,97NS	0,03NS
Int. AxB	7,44**	0,86NS
Int. AxC	0,61NS	0,22NS
Int. BxC	0,47NS	0,34NS
Int. AxBxC	0,02NS	0,30NS
CV	6,22	11,54
140 DAP		
Bactéria (A)	350,93**	148,93**
Regime hídrico (B)	20,05**	0,58NS
Tipo de solo (C)	37,84**	3,31NS
Int. AxB	19,49**	0,46NS
Int. AxC	2,36NS	0,00NS
Int. BxC	0,64NS	0,13NS
Int. AxBxC	0,00NS	0,17NS
CV	4,56	8,87
147 DAP		
Bactéria (A)	351,39**	353,57**
Regime hídrico (B)	1,50NS	0,32NS
Tipo de solo (C)	15,95**	0,42NS

Int. AxB	6,45*	1,56NS
Int. AxC	11,69**	0,51NS
Int. BxC	0,27NS	0,32NS
Int. AxBxC	1,76NS	0,12NS
CV	7,39	5,92

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente

APÊNDICE 4 - Análise de variância do potencial hídrico foliar e do teor relativo de água na folha de cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP.

Fontes de variação	Potencial hídrico	Teor relativo de água
	-----F-----	
118 DAP		
Bactéria (A)	0,09NS	2,05NS
Regime hídrico (B)	0,35NS	0,01NS
Tipo de solo (C)	0,28NS	0,28NS
Int. AxB	0,15NS	0,19NS
Int. AxC	0,01NS	0,22NS
Int. BxC	0,26NS	0,00NS
Int. AxBxC	3,14NS	0,00NS
CV	-29,33	1,90
126 DAP		
Bactéria (A)	15,58**	0,13NS
Regime hídrico (B)	11,53**	9,83**
Tipo de solo (C)	320,12**	206,94**
Int. AxB	4,13*	0,12NS
Int. AxC	23,91**	2,17NS
Int. BxC	8,85**	9,22**
Int. AxBxC	0,05NS	0,06NS
CV	-18,40	4,00
133 DAP		
Bactéria (A)	13,37**	2,76NS
Regime hídrico (B)	5,86*	15,35**
Tipo de solo (C)	280,67**	149,99**
Int. AxB	0,67NS	0,20NS
Int. AxC	7,86**	0,06NS
Int. BxC	7,13*	13,03**
Int. AxBxC	0,32NS	0,12NS
CV	-17,39	5,02
140 DAP		
Bactéria (A)	78,59**	0,62NS
Regime hídrico (B)	6,17*	15,86**
Tipo de solo (C)	54,06**	27,58**
Int. AxB	8,67**	0,71NS
Int. AxC	54,53**	0,20NS
Int. BxC	7,87**	8,25**
Int. AxBxC	13,18**	2,27NS
CV	-28,97	3,16
147 DAP		
Bactéria (A)	0,69NS	4,44*
Regime hídrico (B)	0,01NS	2,71NS

Tipo de solo (C)	3,33NS	0,97NS
Int. AxB	0,00NS	0,21NS
Int. AxC	1,20NS	0,51NS
Int. BxC	0,58NS	1,53NS
Int. AxBxC	0,05NS	2,83NS
CV	-31,25	2,06

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente

APÊNDICE 5 - Análise de variância de parâmetros bioquímicos, enzima ascorbato peroxidase (APX); catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e osmoprotetor prolina em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP

Fontes de variação	APX unidades APX min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína	CAT unidades CAT min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína	SOD Unit.mg ⁻¹ prot	Prolina µmol de Prolina g ⁻¹ MS
-----F-----				
118 DAP				
Bactéria (A)	742,30**	876,03**	1744,46**	334,87**
Regime hídrico (B)	0,00NS	0,01NS	0,46NS	0,05NS
Tipo de solo (C)	2,76NS	1,22NS	1,83NS	0,01NS
Int. AxB	0,00NS	1,49NS	0,51NS	1,62NS
Int. AxC	1,58NS	0,14NS	1,83NS	0,47NS
Int. BxC	0,13NS	0,88NS	0,17NS	0,66NS
Int. AxBxC	0,79NS	1,78NS	0,18NS	0,72NS
CV	13,17	8,34	16,23	12,82
126 DAP				
Bactéria (A)	1804,89**	338,64**	844,75**	455,94**
Regime hídrico (B)	0,53NS	5,50*	0,23NS	7,85**
Tipo de solo (C)	53,80**	35,97**	5,26*	66,44**
Int. AxB	7,83**	0,00NS	0,22NS	1,30NS
Int. AxC	26,18**	11,89**	4,87*	7,46**
Int. BxC	1,79NS	5,35*	0,55NS	4,78*
Int. AxBxC	3,11NS	3,63NS	0,51NS	1,56NS
CV	9,34	13,45	23,32	10,84
133 DAP				
Bactéria (A)	992,62**	172,73**	582,35**	420,71**
Regime hídrico (B)	1,25NS	2,15NS	7,15*	66,15**
Tipo de solo (C)	26,39**	68,78**	27,09**	419,43**
Int. AxB	0,07NS	7,15*	7,08*	26,67**
Int. AxC	18,06**	25,05**	26,37**	127,75**
Int. BxC	0,00NS	1,86NS	11,79**	80,57**
Int. AxBxC	2,09NS	2,21NS	11,65**	42,43**
CV	12,32	18,11	28,10	8,46
140 DAP				
Bactéria (A)	1714,06**	386,89**	1571,44**	728,14**
Regime hídrico (B)	0,45NS	7,55**	0,05NS	12,45**
Tipo de solo (C)	17,79**	29,53**	12,87**	48,38**
Int. AxB	0,01NS	1,31NS	0,05NS	3,66NS
Int. AxC	8,41**	32,20**	12,34**	10,48**
Int. BxC	0,47NS	7,77**	6,14*	0,11NS
Int. AxBxC	0,11NS	0,21NS	5,97*	3,60NS

CV	9,08	12,01	17,13	9,86
147 DAP				
Bactéria (A)	709,07**	417,66**	622,37**	652,60**
Regime hídrico (B)	2,09NS	3,13NS	1,08NS	1,46NS
Tipo de solo (C)	1,29NS	2,53NS	0,03NS	0,32NS
Int. AxB	2,55NS	0,08NS	1,04NS	0,84NS
Int. AxC	0,36NS	0,55NS	0,04NS	0,77NS
Int. BxC	0,66NS	2,53NS	0,02NS	0,14NS
Int. AxBxC	0,15NS	0,14NS	0,02NS	2,04NS
CV	13,47	12,46	27,26	11,25

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente.

APÊNDICE 6 - Análise de variância de parâmetros biométricos: número de perfilhos (N° de perf.); altura dos perfilhos (Alt. dos perfilhos); diâmetro dos perfilhos; número de folhas (N° de folhas); área foliar em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP

FV	N° de perf.	Alt. dos perfilhos	Diâmetro dos perfilhos	N° de folhas	Área foliar
-----F-----					
118 DAP					
Bactéria (A)	1,85NS	412,14**	13,85**	100,81**	182,19**
Regime hídrico (B)	0,02NS	0,14NS	1,34NS	1,90NS	2,91NS
Tipo de solo (C)	0,57NS	0,11NS	0,25NS	0,97NS	0,83NS
Int. AxB	0,57NS	0,84NS	0,75NS	0,04NS	0,14NS
Int. AxC	1,12NS	0,57NS	1,13NS	0,97NS	0,00NS
Int. BxC	0,21NS	0,79NS	0,54NS	1,90NS	0,36NS
Int. AxBxC	0,02NS	0,67NS	0,04NS	0,35NS	0,13NS
CV	25,33	11,41	14,72	11,03	20,86
126 DAP					
Bactéria (A)	5,32*	540,94**	13,73**	6,96*	111,74**
Regime hídrico (B)	0,01NS	1,00NS	2,54NS	0,43NS	4,27*
Tipo de solo (C)	1,19NS	0,86NS	8,98**	1,74NS	6,24*
Int. AxB	0,37NS	6,29*	0,24NS	0,43NS	1,36NS
Int. AxC	0,13NS	3,24NS	0,03NS	1,74NS	1,05NS
Int. BxC	0,37NS	0,62NS	0,53NS	1,74NS	4,47*
Int. AxBxC	0,01NS	1,39NS	0,00NS	3,91NS	3,75NS
CV	29,86	9,59	14,00	11,06	19,42
133 DAP					
Bactéria (A)	2,30NS	520,33*	7,56**	4,67*	54,30**
Regime hídrico (B)	0,48NS	0,45NS	3,62NS	6,22*	8,47**
Tipo de solo (C)	0,48NS	4,98*	31,40**	71,85**	129,85**
Int. AxB	1,54NS	3,74NS	0,75NS	0,69NS	0,62NS
Int. AxC	8,38**	0,29NS	0,00NS	2,24NS	30,55**
Int. BxC	0,48NS	0,09NS	0,94NS	3,34NS	1,54NS
Int. AxBxC	1,54NS	0,42NS	0,00NS	2,24NS	0,52NS
CV	26,87	9,084	9,72	12,40	21,25
140 DAP					

Bactéria (A)	22,94**	569,25**	1,92NS	30,15**	169,72**
Regime hídrico (B)	0,00NS	2,39NS	2,06NS	7,54**	5,15*
Tipo de solo (C)	1,27NS	12,10**	18,29**	49,85**	36,61**
Int. AxB	0,71NS	4,60*	0,17NS	2,46NS	0,66NS
Int. AxC	9,60**	1,98NS	0,08NS	3,85NS	0,20NS
Int. BxC	0,32NS	0,72NS	0,07NS	2,46NS	0,02NS
Int. AxBxC	1,98NS	1,59NS	0,09NS	7,54**	0,96NS
CV	23,64	8,49	12,11	9,86	17,34

147 DAP

Bactéria (A)	33,92**	605,22**	7,54**	37,05**	180,79**
Regime hídrico (B)	0,69NS	4,40*	6,47*	6,28*	1,96NS
Tipo de solo (C)	4,92*	22,79**	16,26**	12,82**	1,49NS
Int. AxB	1,23NS	0,07NS	0,93NS	2,05NS	0,09NS
Int. AxC	13,00**	0,16NS	0,05NS	1,15NS	1,67NS
Int. BxC	0,08NS	1,55NS	0,22NS	1,15NS	0,00NS
Int. AxBxC	0,31NS	1,01NS	0,21NS	2,05NS	0,22NS
CV	23,13	7,25	10,59	10,99	20,95

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente

APÊNDICE 7 - Análise de variância dos parâmetros biométricos: comprimento da folha +1 (Comp. Folha +1); largura da folha +1 (Larg. Folha +1); comprimento da folha +3 (Comp. Folha +3); largura da folha +3 (Larg. Folha +3); comprimento dos perfilhos (Comp. dos perf.) em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. Aos 118, 126, 133, 140 e 147 DAP

FV	Comp. Folha +1	Larg. Folha +1	Comp. Folha +3	Larg. Folha +3	Comp. dos perf.
-----F-----					
118 DAP					
Bactéria (A)	465,29**	97,29**	329,90**	14,49**	105,12**
Regime hídrico (B)	0,30NS	1,20NS	2,71NS	0,99NS	0,22NS
Tipo de solo (C)	0,01NS	0,10NS	3,16NS	0,68NS	2,35NS
Int. AxB	0,65NS	2,60NS	0,00NS	0,03NS	0,01NS
Int. AxC	0,06NS	1,20NS	0,28NS	0,44NS	0,32NS
Int. BxC	0,12NS	0,50NS	0,00NS	0,03NS	1,77NS
Int. AxBxC	0,02NS	1,83NS	0,16NS	0,11NS	0,81NS
CV	8,20	11,42	9,19	11,37	12,90
126 DAP					
Bactéria (A)	336,40**	109,11**	193,63**	13,06**	96,97**
Regime hídrico (B)	0,09NS	0,55NS	2,35NS	1,84NS	0,86NS
Tipo de solo (C)	0,00NS	0,04NS	7,76**	0,57NS	1,58NS
Int. AxB	1,19NS	3,82NS	0,10NS	0,36NS	0,12NS
Int. AxC	0,30NS	1,31NS	1,44NS	0,82NS	0,00NS
Int. BxC	0,05NS	1,02NS	1,76NS	0,20NS	2,06NS
Int. AxBxC	0,03NS	0,00NS	0,20NS	0,82	0,28NS
CV	9,05	10,19	10,19	12,14	12,76
133 DAP					

Bactéria (A)	242,39**	17,61**	181,81**	0,18NS	152,55**
Regime hídrico (B)	0,23NS	0,12NS	0,11NS	8,82**	3,21NS
Tipo de solo (C)	0,86NS	48,91**	5,38*	84,50**	0,24NS
Int. AxB	0,01NS	2,30NS	0,02NS	0,18NS	2,22NS
Int. AxC	0,15NS	9,18**	0,53NS	33,62**	3,52NS
Int. BxC	0,05NS	0,34NS	0,10NS	4,50*	0,03NS
Int. AxBxC	0,01NS	0,34NS	0,16NS	0,98NS	1,54NS
CV	9,94	12,92	9,87	14,53	10,61
		165,08**			66,16**
Bactéria (A)	208,95**	100,21**	201,27**	39,82**	51,73**
Regime hídrico (B)	0,57NS	1,49NS	0,20NS	4,42*	0,23NS
Tipo de solo (C)	3,35NS	12,53**	0,21NS	23,56**	34,47**
Int. AxB	0,80NS	0,06NS	0,11NS	1,68NS	0,07NS
Int. AxC	1,00NS	9,31**	0,42NS	0,03NS	34,58**
Int. BxC	0,01NS	0,01NS	0,02NS	0,03NS	0,07NS
Int. AxBxC	0,01NS	0,13NS	0,12NS	0,42NS	0,04NS
CV	9,93	11,48	8,67	11,15	12,00
		147 DAP			
Bactéria (A)	165,08**	66,16**	315,96**	50,07**	85,58**
Regime hídrico (B)	1,66NS	0,26NS	0,08NS	0,50NS	4,76*
Tipo de solo (C)	11,14**	1,84NS	3,17NS	2,35NS	42,80**
Int. AxB	1,88NS	0,35NS	0,04NS	0,50NS	1,71NS
Int. AxC	4,76*	1,21NS	4,10*	1,68NS	38,77**
Int. BxC	0,26NS	0,18NS	0,00NS	0,01NS	0,02NS
Int. AxBxC	0,70NS	0,03NS	0,06NS	0,01NS	0,25NS
CV	9,76	15,05	8,53	13,23	10,65

FV: fontes de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente.

APÊNDICE 8 - Análise de variância da massa de matéria seca da raiz (MSR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e razão MSPA/MSR em cana-de-açúcar sob diferentes tratamentos hídricos: sem déficit hídrico e com déficit hídrico; inoculados ou não inoculados com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*; em dois tipos de solo, argiloso e arenoso. aos 147 DAP

Fontes de variação	MSR	MSPA	Razão
			MSPA/MSR
-----F-----			
Bactéria (A)	714,85**	83,11**	135,39**
Regime hídrico (B)	23,12**	20,93**	3,60NS
Tipo de solo (C)	50,99**	103,20**	0,31NS
Int. AxB	0,06NS	0,40NS	4,61*
Int. AxC	2,04NS	6,49*	3,82NS
Int. BxC	0,09NS	0,11NS	0,29NS
Int. AxBxC	2,87NS	1,03NS	1,25NS
CV	13,61	12,69	24,95

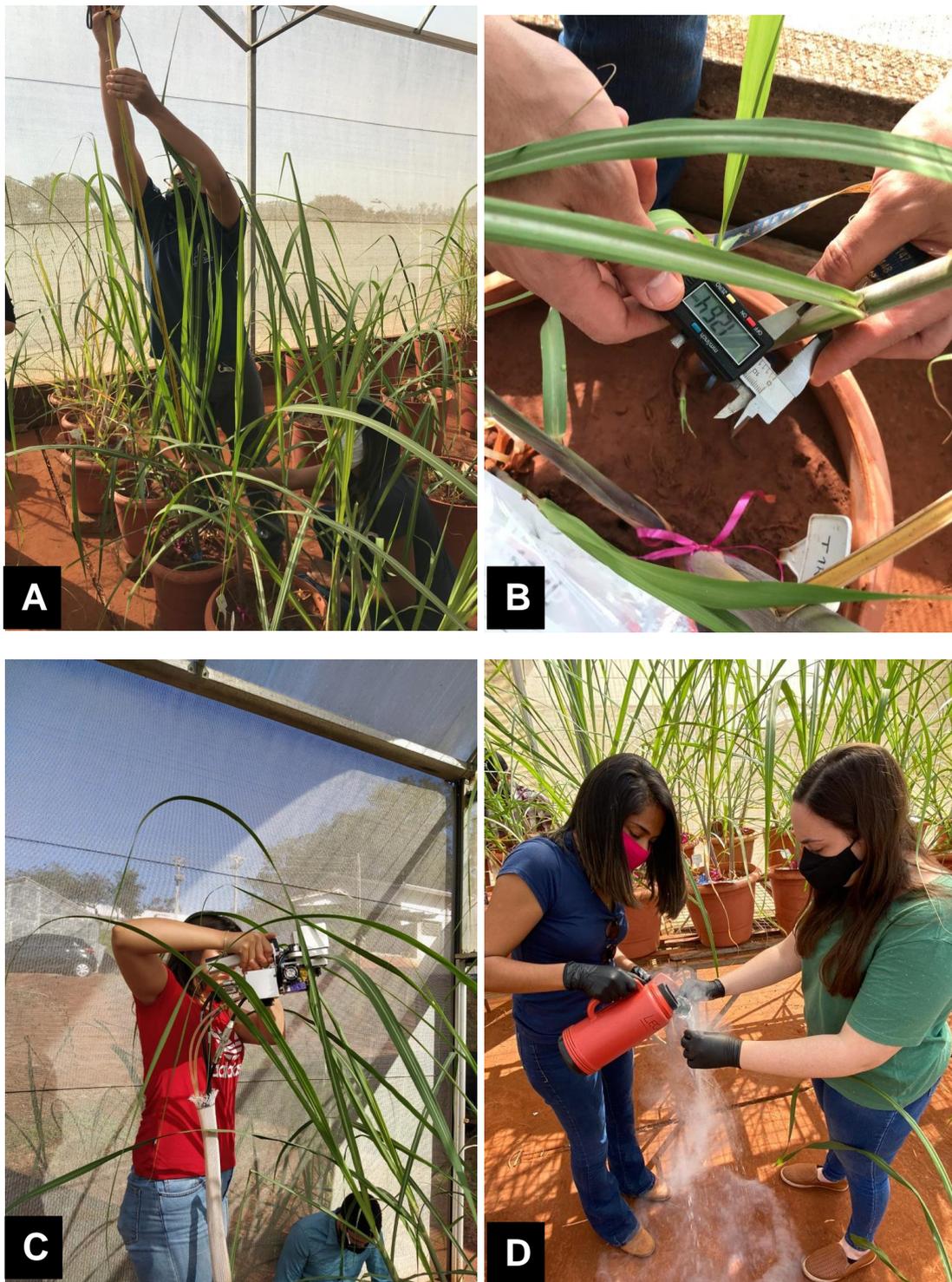
CV: coeficiente de variação; F: F calculado; * e ** significativo a $p < 0,05$, $< 0,01$, respectivamente; Int.: Interação.



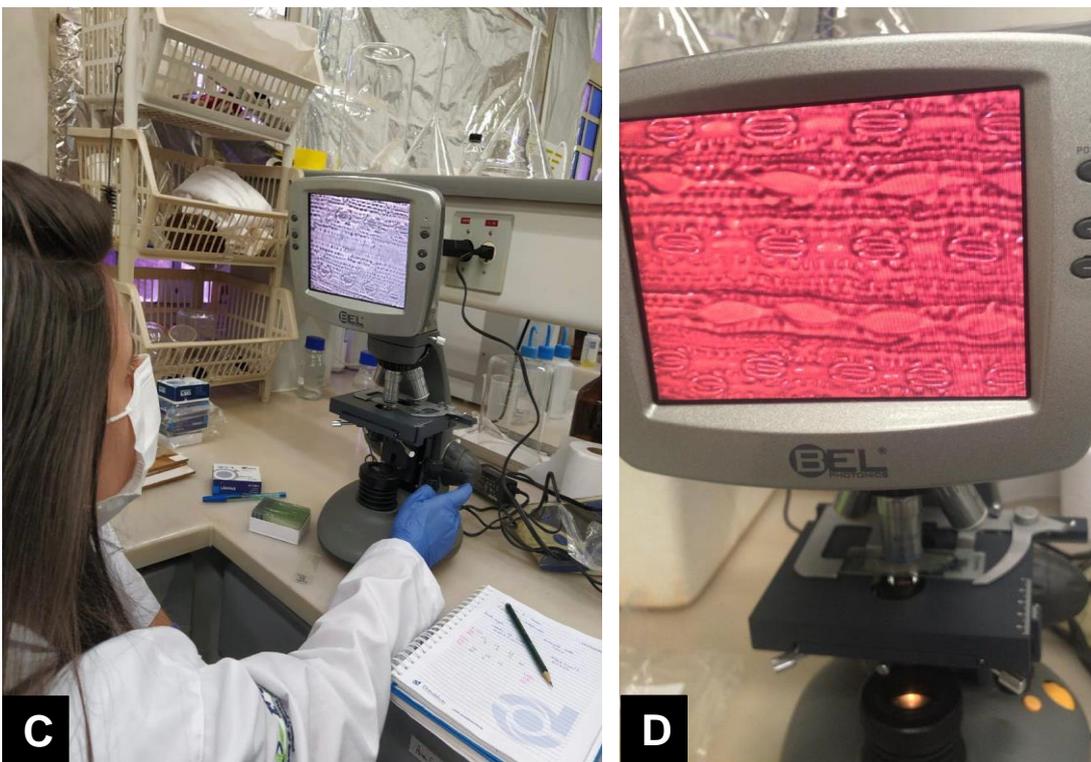
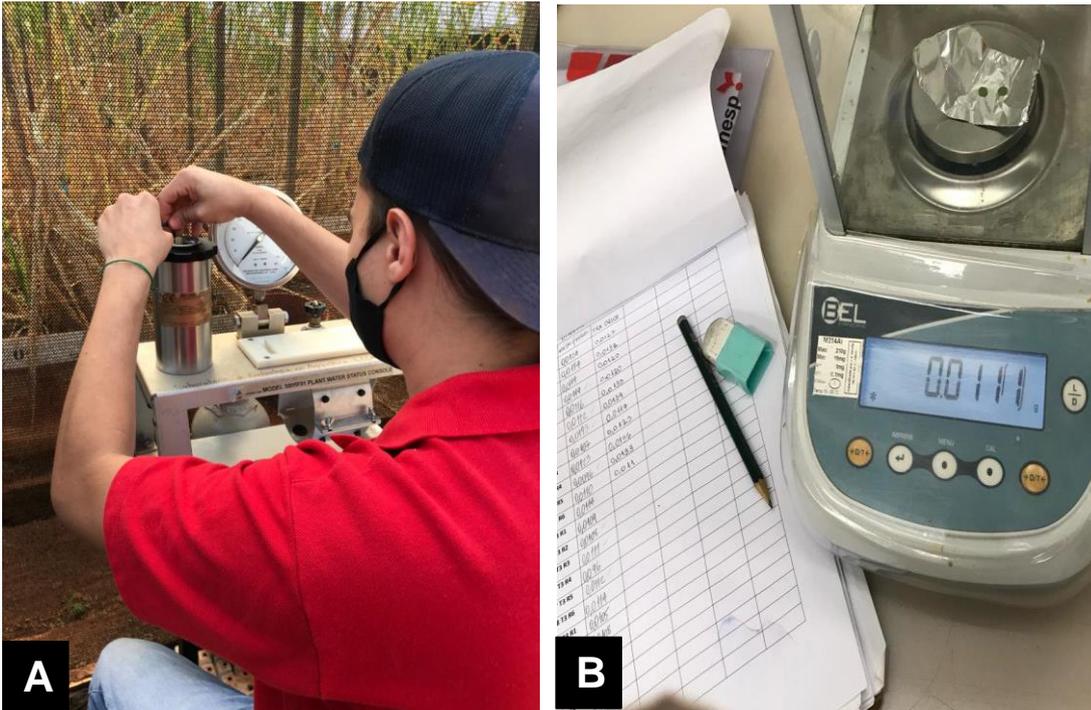
APÊNDICE 9 - Aspecto visual do experimento com cana-de-açúcar no início do ciclo, cerca de 30 dias após o plantio, Botucatu-SP, 2019.



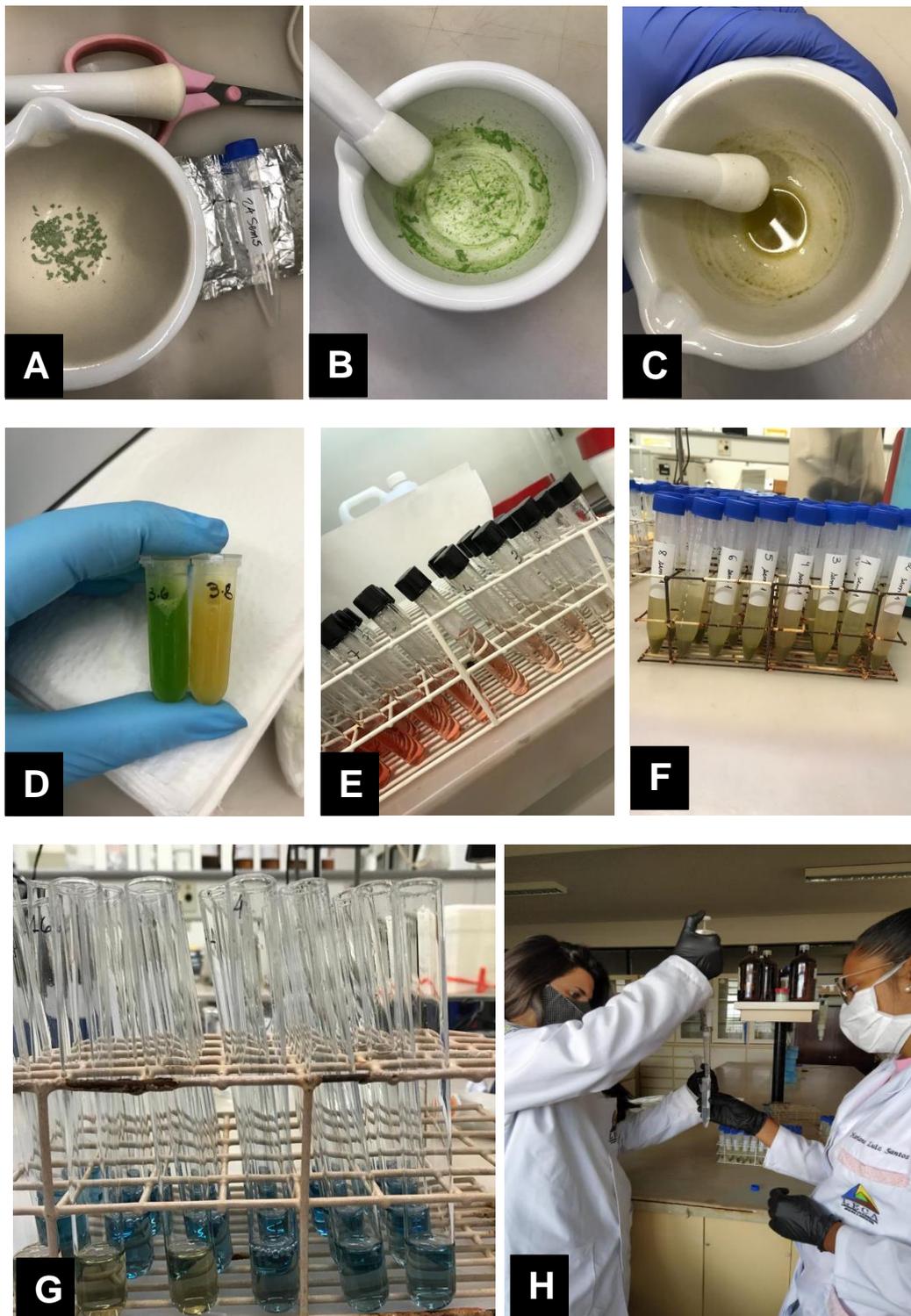
APÊNDICE 10 - Vista parcial do experimento em casa de vegetação, Botucatu-SP, 2019.



APÊNDICE 11 - Avaliação biométrica com fita métrica (A); avaliação biométrica da variável diâmetro do perfilho, com auxílio do paquímetro digital (B); Avaliação fisiológica utilizando o equipamento IRGA (C); Coleta da folha +1 para análises bioquímicas, utilizando embalagens de papel alumínio e acondicionando a folha em nitrogênio líquido, Botucatu-SP, 2019.



APÊNDICE 12 - Avaliação do potencial hídrico foliar (A); pesagem dos discos foliares em balança analítica para obtenção do teor relativo de água (B); análises da densidade estomática em microscópio (C); aspecto visual da câmera do microscópio para quantificação da densidade estomática (D), Botucatu-SP, 2019.



APÊNDICE 13 - 100 mg de folha +1 em cadinho de porcelana para preparo de soluções para posteriores análises bioquímicas (A); folha sendo macerada para preparo do extrato que será feita leitura de enzimas (B); preparo do extrato; diferença visual entre um extrato de uma folha hidratada e uma folha sob pico de estresse hídrico (D); curva padrão de prolina (E); preparo de extratos de prolina (F); curva padrão da proteína (G); atividade em laboratório, confecção de extratos para análises bioquímicas (H).