



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA**  
**MESTRADO EM AGRONOMIA**

**MARIA CAROLINA SARTO FERNANDES RODRIGUES**

**RIZOBACTÉRIA E FERTIACTYL GZ® AUMENTAM A TOLERÂNCIA AO  
DÉFICIT HÍDRICO E MELHORAM A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE  
AÇAIZEIRO**

**BELÉM**

**2023**

**MARIA CAROLINA SARTO FERNANDES RODRIGUES**

**RIZOBACTÉRIA E FERTIACTYL GZ® AUMENTAM A TOLERÂNCIA AO  
DÉFICIT HÍDRICO E PROMOVEM A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE  
AÇAIZEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), como parte das exigências do curso de mestrado em Agronomia na Área de concentração Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para obtenção do título de Mestra em Agronomia.

**Orientador:** Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

**BELÉM**

**2023**

---

Rodrigues, Maria Carolina Sarto Fernandes  
RIZOBACTÉRIA E FERTIACTYL GZ<sup>®</sup> AUMENTAM A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT  
HÍDRICO E PROMOVEM A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO/ Maria Carolina Sarto  
Fernandes Rodrigues- 2023.

63 f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia (PGAGRO),  
Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2023.  
Orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

1. *Euterpe oleracea* Mart. 2. Bioestimulantes. 3. Restrição hídrica. 4. Recuperação hídrica. I.  
Salgado de Castro, Gledson Luiz , orient. II. Título

CDD 630

---

**MARIA CAROLINA SARTO FERNANDES RODRIGUES**


**RIZOBACTÉRIA E FERTIACYL GZ® AUMENTAM A TOLERÂNCIA AO  
DÉFICIT HÍDRICO E PROMOVEM A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE  
AÇAIZEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), como parte das exigências do curso de mestrado em agronomia: Área de concentração: Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para obtenção do título de Mestra em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

Aprovado em 30 de Agosto de 2023

**BANCA EXAMINADORA:**


Documento assinado digitalmente  
 **GLEDSON LUIZ SALGADO DE CASTRO**  
Data: 19/09/2023 14:07:58-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro- Orientador  
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA

---

Dr. Kadson Emmanuel Frutuoso Silva- 1º Examinador  
TIMAC Agro Ltda

Documento assinado digitalmente  
 **WALTER VELLASCO DUARTE SILVESTRE**  
Data: 19/09/2023 15:02:39-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr. Walter Vellasco Duarte Silvestre- 2º Examinador  
Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA

**Flávio José Rodrigues  
Cruz**

Digitally signed by Flávio José Rodrigues Cruz  
DN: CN=Flávio José Rodrigues Cruz, E=fjrccpp@outlook.com  
Reason: I am the author of this document  
Location:  
Date: 2023.09.19 14:23:56-03'00'  
Foxit PDF Reader Version: 2023.2.0

---

Prof. Dr. Flávio José Rodrigues Cruz- 3º Examinador  
Instituto Federal do Amapá- IFAP

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me proteger e me guiar, sem Ele nada seria possível;

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA);

Aos meu pais, Carlota Maria Sarto e João Elias Lopes Fernandes Rodrigues (também Engenheiro Agrônomo) e à minha irmã, Maria do Carmo Sarto Fernandes Rodrigues, por serem a minha referência e inspiração profissional, por todo o apoio incondicional, conhecimento repassado, suporte e principalmente por nunca terem deixado eu desistir dos meus sonhos ao longo desta caminhada. Sem os mesmos, não teria sido possível;

Ao meu esposo Mauricio Willians de Lima, pelo incentivo, suporte, apoio incondicional, auxílio, entrega e por ser uma referência para a minha vida profissional. Sem o mesmo também não teria sido possível;

À minha filha Alice Sarto Lopes Rodrigues de Lima, que me acompanha desde a gravidez, no início do mestrado e me motivou todos os dias a desenvolver e concluir este trabalho;

Ao meu orientador, Professor Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro, por todo conhecimento repassado, apoio, auxílio e ensinamentos fundamentais nessa trajetória;

A todos os membros do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), professores e alunos, em especial às alunas Maria Luiza Brito, Verônica Paes, Danielle Mendonça, Juliete Oliveira, Maria Ribeiro e Juliana Tavares por terem sido fundamentais na condução dos experimentos e análises, além do companheirismo diário;

A todos os meus familiares, amigos e profissionais que estiveram presentes na realização deste trabalho e me ajudaram a conquistar o título de Mestra em Agronomia.

## LISTA DE ABREVIATURAS

A/E	Eficiência instantânea do uso da água
A/C <sub>i</sub>	Eficiência de carboxilação da Rubisco
A	Taxa de assimilação líquida de CO <sub>2</sub>
Al	Alumínio
APX	Ascorbato peroxidase
BPCP	Bactérias promotoras de crescimento de plantas
BC	Bioestimulante comercial
BS	<i>Bacillus subtilis</i>
BS+BC	<i>Bacillus subtilis</i> e Bioestimulante comercial Fertiactyl GZ®
C	Carbono orgânico
Ca	Cálcio
CAT	CAT
CC	CC
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
C <sub>i</sub>	Concentração intercelular de CO <sub>2</sub>
CRA	Conteúdo relativo de água
Cu	Cobre
DH	Déficit hídrico
DPV	Déficit de pressão de vapor do ar
E	Taxa de transpiração
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EROS	Espécies reativas de oxigênio
Fe	Ferro
GS/GOGAT	Glutamina sintetase/ glutamato sintase
g <sub>s</sub>	Condutância estomática ao vapor d'água
GZA	Glicina-betaína, zeatina e ácidos húmicos e fúlvicos
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IRR	Irrigado
K <sub>2</sub> O	Óxido de potássio
m%	Saturação por alumínio
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	Aldeído malônico
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MO	Matéria orgânica
N	Nitrogênio
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-1</sup>	Superóxido
pH	Potencial hidrogeniônico
PSII	Fotossistema dois
ψ <sub>w</sub>	Potencial hídrico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
UFC	Unidade formadora de colônia
UFRA-92	Código de identificação da rizobactéria <i>Bacillus subtilis</i>
UV	Radiação ultravioleta
V%	Saturação de bases
Zn	Zinco

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 01.** Teste de compatibilidade através da avaliação do crescimento de *Bacillus subtilis* (BS) na presença e ausência do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 01.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo onde foi conduzido o experimento de mudas de açaizeiro, em Belém, Pará.

**Tabela 02.** Código de identificação, origem, cor, características bioquímicas e classificação taxonômica da rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) utilizadas no tratamento das mudas de açaizeiro.

**Tabela 03.** Componentes presentes no bioestimulantes comercial Fertiactyl GZ®.

**Tabela 04.** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), transpiração ( $E$ ), eficiência do uso da água ( $A/E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero, sete e 14 dias de déficit hídrico (DH).

**Tabela 05.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), Conteúdo relativo de água (CRA) e prolina, em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de déficit hídrico (DH).

**Tabela 06.** Conteúdo de aldeído malônico (MDA) e atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de déficit hídrico (DH).



## RESUMO GERAL

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), originário do estuário amazônico, é considerada uma palmeira de grande importância econômica na região amazônica. A alta sensibilidade ao déficit hídrico limita a produção de mudas e dificulta a expansão de plantios comerciais. Os bioestimulantes podem ser utilizados como uma estratégia eficiente para diminuir as perdas de mudas, pois aumentam a tolerância aos efeitos negativos do déficit hídrico (DH) e ajudam as plantas na recuperação após reidratação. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito dos bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) nas alterações das trocas gasosas, estresse oxidativo e acúmulo de osmorreguladores provocados pelo déficit hídrico e analisar a capacidade das mudas bioestimuladas na recuperação hídrica após período de déficit hídrico. O experimento ocorreu em casa de vegetação no setor de solos da Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA, em Belém, Pará. O estudo foi dividido em dois capítulos, sendo o primeiro referente à imposição do déficit hídrico com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram compostos por plantas não inoculadas (controle) e inoculadas com BS, BC e BS + BC, os quais foram avaliados em condição de plena irrigação e após sete e 14 dias de suspensão hídrica. Aos sete dias de déficit hídrico, as mudas bioestimuladas com BC, aumentaram respectivamente, 76%, 100%, 39% e 75% a  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $A/C_i$ . Aos 14 dias de déficit hídrico, plantas com BC e BS+BC aumentaram em 71% e 35% a  $A$ ; 100% e 63% a  $g_s$ ; 75% e 25% a  $A/C_i$  e com BC, 64% a  $E$ , em relação ao controle. Aos 14 dias de suspensão hídrica, o  $\Psi_w$  foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, em relação às não-bioestimuladas. O teor de prolina foi maior nas mudas bioestimuladas, sendo mais expressivo nas plantas com BS, 75% maior que o controle. Aos 14 dias de DH, o teor de MDA das plantas controle foi superior a todas as médias das plantas bioestimuladas. A maior atividade enzimática da SOD e CAT foi encontrada para BC e BS+BC e da enzima APX para o tratamento BS+BC. O objetivo do segundo capítulo foi avaliar o desempenho fisiológico de mudas de açazeiro após reidratação e foi composto por cinco tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram BS, BC, BS + BC e plantas não-bioestimuladas (controle DH e controle IRR), os quais foram avaliados em condição de recuperação hídrica aos zero, sete e 14 dias de reidratação. Aos sete dias de reidratação, comparadas ao controle DH, todas as plantas bioestimuladas tiveram estatisticamente maiores médias de  $A$  e  $A/C_i$ . Plantas com BC aumentaram 101%  $A$  e 100%  $A/C_i$ . Quando comparados ao controle IRR, todos os tratamentos apresentaram menores médias de  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $A/C_i$ . Aos 14 dias de reidratação, plantas inoculadas com BC e BS+BC apresentaram, respectivamente, 20,2% e 25,3% maior  $A$ ; 29,4% e 35,3% maior  $A/C_i$ , em relação ao controle em DH. Em comparação ao controle IRR, plantas bioestimuladas apresentaram a mesma média de  $A$  e  $A/C_i$ . Mudas de açazeiro bioestimuladas com BS, BC e BS+BC acumularam mais prolina do que as plantas controle DH e IRR, aos zero e 14 dias de reidratação. Aos 14 dias de déficit hídrico, os teores de MDA em plantas controle aumentaram 20,3% em relação às plantas com BC. O tratamento BS+BC apresentou maior atividade para as enzimas SOD, CAT e APX em 49,6%, 160% e 75,5% superior ao controle DH, respectivamente. A aplicação de BC isolado ou na combinação de BS+BC pode ser uma alternativa eficiente para diminuir as perdas de mudas de açazeiro em viveiros com irrigação inadequada ou localizados em regiões com período de restrição hídrica marcante, além de contribuir para aumentar a disponibilidade de mudas para campo com maior vigor e tolerância ao déficit hídrico, diante das crescentes ameaças de mudanças climáticas globais.

**Palavras-chaves:** *Euterpe oleracea* Mart. Bioestimulantes. Restrição hídrica. Recuperação hídrica.

## ABSTRACT

The açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.), originating from the Amazon estuary, is considered a palm tree of great economic importance in the Amazon region. The high sensitivity to water deficit limits the production of seedlings and hinders the expansion of commercial plantations. Biostimulants can be used as an efficient strategy to reduce seedling losses, as they increase tolerance to the negative effects of water deficit (WD) and help plants recover after rehydration. The objective of the study was to evaluate the effect of the biostimulants *Bacillus subtilis* (BS) and Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) on changes in gas exchange, oxidative stress and accumulation of osmoregulators caused by water deficit and to analyze the capacity of biostimulated seedlings in water recovery after a period of water deficit. The experiment took place in the greenhouse of the soil building of the Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, in Belém, Pará. The study was divided into two chapters, the first one referring to the imposition of water deficit with four treatments and six repetitions. The treatments consisted of non-inoculated plants (control) and inoculated with BS, BC and BS+BC, which were evaluated under full irrigation conditions and after seven and 14 days of water suspension. At seven days of water deficit, seedlings biostimulated with BC increased, respectively, 76%, 100%, 39% and 75% to  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  and  $A/C_i$ . At 14 days of water deficit, plants with BC and BS +BC increased by 71% and 35% to  $A$ ; 100% and 63% on  $g_s$ ; 75% and 25% to  $A/C_i$  and with BC, 64% to  $E$ , in relation to the control. At 14 days of water suspension,  $\Psi_w$  was 24% and 35% higher in seedlings biostimulated with BS and BC, compared to non-biostimulated ones. The proline content was higher in biostimulated seedlings, being more expressive in plants with BS, 75% higher than the control. At 14 days of WD, the MDA content of the control plants was higher than all the averages of the biostimulated plants. The highest enzymatic activity of SOD and CAT was found for BC and BS+BC and of the APX enzyme for the BS+BC treatment. The objective of the second chapter was to evaluate the physiological performance of açai seedlings after rehydration and was composed of five treatments and six repetitions. The treatments were BS, BC, BS+BC and non-biostimulated plants (WD control and IRR control), which were evaluated in water recovery condition at zero, seven and 14 days of rehydration. At seven days of rehydration, compared to the WD control, all biostimulated plants had statistically higher means of  $A$  and  $A/C_i$ . Plants with BC increased 101%  $A$  and 100%  $A/C_i$ . When compared to the IRR control, all treatments showed lower means of  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  and  $A/C_i$ . At 14 days of rehydration, plants inoculated with BC and BS+BC presented, respectively, 20.2% and 25.3% higher  $A$ ; 29.4% and 35.3% higher  $A/C_i$  compared to control in WD. Compared to the IRR control, biostimulated plants showed the same average of  $A$  and  $A/C_i$ . Açai seedlings biostimulated with BS, BC and BS+BC accumulated more proline than control plants WD and IRR, at zero and 14 days of rehydration. At 14 days of water deficit, the levels of MDA in control plants increased by 20.3% in relation to plants with BC. The BS+BC treatment showed higher activity for the SOD, CAT and APX enzymes in 49.6%, 160% and 75.5% higher than the WD control, respectively. The application of BC isolate or in combination with BS+BC can be an efficient alternative to reduce the losses of açai seedlings in nurseries with inadequate irrigation or located in regions with a period of marked water restriction, in addition to contributing to increase the availability of seedlings for field with greater quality of vigor and tolerance to water deficit, given the growing threats of global climate change.

**Key words:** *Euterpe oleracea* Mart. Biostimulants. Water restriction. Water recovery.

## SUMÁRIO

<b>1.CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	14
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	17
<b>CAPÍTULO 1. COMBINANDO <i>Bacillus subtilis</i> E FERTIACTYL GZ® PARA AUMENTAR A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MUDAS DE AÇAIZEIRO</b> .....	19
<b>RESUMO</b> .....	19
<b>ABSTRACT</b> .....	20
<b>2.1. INTRODUÇÃO</b> .....	21
<b>2.2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
2.2.1. Crescimento de plantas .....	23
2.2.2. Desenho experimental e análise estatística .....	24
2.2.3. Caracterização da rizobactéria e do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® .....	24
2.2.4. Inoculação dos bioestimulantes .....	25
2.2.5. Imposição do déficit hídrico .....	26
2.2.6. Trocas Gasosas .....	27
2.2.7. Conteúdo Relativo de Água (CRA).....	27
2.2.8. Potencial hídrico .....	28
2.2.9. Peroxidação lipídica.....	28
2.2.10. Enzimas antioxidantes .....	28
2.2.11. Prolina.....	29
<b>2.3. RESULTADOS</b> .....	30
2.3.1. Trocas gasosas .....	30
2.3.2. Status hídrico e osmorreguladores .....	31
2.3.3. Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes .....	32
<b>2.4. DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>2.5. CONCLUSÃO</b> .....	36
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>CAPÍTULO 2. <i>Bacillus subtilis</i> E FERTIACTYL GZ® CONTRIBUEM PARA A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO</b> .....	40
<b>RESUMO</b> .....	40
<b>ABSTRACT</b> .....	41
<b>3.1. INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>3.2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	45
3.2.1. Crescimento de plantas .....	45
3.2.2. Desenho experimental e análise estatística .....	46
3.2.3. Caracterização da rizobactéria e do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® .....	47
3.2.4. Inoculação dos bioestimulantes .....	48

3.2.5. Reidratação das mudas de açazeiro .....	49
3.2.6. Trocas Gasosas .....	49
3.2.7. Conteúdo Relativo de Água (CRA).....	50
3.2.8. Potencial hídrico .....	50
3.2.9. Peroxidação lipídica.....	51
3.2.10. Enzimas antioxidantes .....	51
3.2.11. Prolina.....	52
<b>3.3. RESULTADOS .....</b>	<b>53</b>
3.3.1. Trocas gasosas .....	53
3.3.2. Status hídrico e osmorreguladores .....	53
3.3.3. Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes .....	54
<b>3.4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>3.5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>61</b>

## 1.CONTEXTUALIZAÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), de origem nativa da América do Sul, é considerado uma espécie de demasiada relevância econômica na região amazônica. Destaca-se por ter um fruto exótico e consumido como um alimento básico na região Norte do Brasil (CEDRIM et al., 2018). Nos últimos anos, o fruto açaí ganhou a atenção internacional como um alimento funcional, devido aos seus benefícios nutricionais e terapêuticos relacionados à alta capacidade antioxidante e a sua composição fitoquímica (BONOMO et al., 2014; MENEZES et al., 2008; BERNAUD; FUNCHAL, 2011). Além disso, apresenta em sua composição alto teor de lipídios, carboidratos, proteínas e compostos bioativos, como polifenóis, da classe dos flavonoides, em destaque as antocianinas (DARNET et al., 2011; KANG et al., 2010).

O fruto do açazeiro tem uma forma globosa, de 1 a 2 cm de diâmetro, e peso médio de 1,5 g; dependendo do tipo e da maturação, o epicarpo é roxo ou verde, porém seu consumo não ocorre na forma *in natura*, necessitando ser processado (ROGEZ et al., 2011). Existem diversas formas de apreciação do açaí, como, por exemplo, nas formas de geleias, licor, suco, xarope, pó, creme e sorvetes (DARNET et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2015). Outro produto derivado do açazeiro é o palmito, utilizado pela indústria de conservas para a produção de pickles, além de ser consumido em saladas, salgados, entre outros. (JARDIM & ANDERSON., 1987).

A crescente demanda no mercado nacional pelo fruto do açaí estimulou aumentos superiores a 38% na área plantada e 31% na produção nos últimos cinco anos (IBGE, 2022). No Brasil, a produção do fruto chegou a 1.485.113 t, com uma área colhida de 208.111 hectares e produtividade média de 7,136 t/ha. O estado do Pará foi responsável por 93,47% da produção nacional (IBGE, 2021). Em 2010, havia no Brasil, principalmente no estado do Pará, 6.886 hectares de açazeiro plantados em terra firme, onde naquele momento havia somente uma cultivar registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a BRS Pará. A partir do lançamento da cultivar BRS Pai d'Égua, em 2019 e com duas cultivares disponíveis no mercado, a área saltou para 53.374 hectares em terra firme, com 39.800 hectares da BRS Pará e 13.574 hectares da BRS Pai d'Égua (EMBRAPA, 2023). No entanto antes do surgimento da cultivar BRS Pará ser lançada já existia uma grande área de açaí sendo cultivada em terra firme.

Originária de áreas de várzea da região amazônica, em regiões com alta disponibilidade hídrica, assume-se que esta cultura é muito exigente em água durante

todo o seu ciclo, incluindo a fase de muda (SILVESTRE et al., 2017). A seleção massal de materiais mais adaptados a áreas de terras firme (como a cv. BRS Pará e BRS Pai d'Égua) possibilitou a existência de grandes áreas plantadas, mas que em regiões de restrição hídrica, há necessidade de sistemas de irrigação.

A disponibilidade hídrica para a cultura do açaizeiro é um fator indispensável para a garantia de um bom desenvolvimento da cultura, pois a falta desta provoca a diminuição nas atividades fisiológicas do açaizeiro, como fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração (EMBRAPA, 2023). Em viveiros não irrigados e localizados em regiões com período de estiagem definido, a mortalidade das mudas de açaizeiro pode chegar em até 70% (CASTRO et al., 2019). Em regiões com períodos de restrição hídrica definidos, como no Sudeste do Pará, quedas de precipitação severas entre os meses de junho a setembro, com precipitações mensais de 9 mm, levam à inviabilidade de sobrevivência da cultura sem a presença da irrigação, pois o açaizeiro demanda uma necessidade hídrica de no mínimo 60 mm mensais (INMET, 2023).

O déficit hídrico impacta no mecanismo fisiológico das plantas, como na redução na absorção de água e nutrientes, diminuição no potencial hídrico, diminuição da pressão osmótica dos tecidos, entre outros (FREITAS et al., 2007). Em condições de déficit hídrico, o fechamento estomático reduz a concentração de CO<sub>2</sub> no mesófilo e prejudica a atividade de carboxilação da enzima Rubisco no ciclo de Calvin (STEFFEN, 1991). Desta forma, o ATP e NADPH provenientes das reações fotoquímicas deixam de ser consumidos e os elétrons livres reagem com o oxigênio molecular livre, gerando as espécies reativas de oxigênio (EROs) (BAISAK et al. 1994; VRANOVÁ et al. 2002).

As EROs, como os radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroxila (OH<sup>-</sup>) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) são danosos às membranas celulares, aos lipídeos e até mesmo ao material genético da célula e podem causar oxidação, desestabilidade das membranas, mutações prejudiciais e paralisação de processos metabólicos essenciais à sobrevivência por toxicidade, podendo levar a morte celular e conseqüentemente a redução da produção de carboidratos e outros compostos, culminando na redução da produtividade (OLIVEIRA, 2015).

A utilização de bioestimulantes surge como uma alternativa para a diminuição dos estresses causados pelo déficit hídrico e como uma alternativa para as variações climáticas globais. Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), como a *Bacillus subtilis*, induzem maior tolerância ao déficit hídrico em mudas de açaizeiro, pois

conseguem manter um desempenho fisiológico e bioquímico maior do que plantas sem bioestimulação, com até 75% da capacidade de campo (CASTRO et al., 2019).

O produto comercial denominado Fertiactyl GZ<sup>®</sup>, é registrado como um bioestimulante pela empresa TIMAC Agro Ltda e possui a tecnologia denominada “Complexo GZA”, constituída por uma fração mineral e outra orgânica contendo ácidos húmicos e fúlvicos, glicina-betaína e zeatina como precursora hormonal. As substâncias húmicas podem interagir com os sítios de absorção da membrana celular e aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas (LEE & BARTLETT., 1976; CHEN & SCHNITZER, 1978; MARSCHNER et al., 1986). Ademais, o uso de aminoácidos pode aumentar a tolerância das plantas a situações estressantes por serem compostos capazes de agir em processos morfofisiológicos do vegetal, precursores de hormônios endógenos (CASTRO, 2009).

Em viveiros, mudas de açaizeiro inoculadas com rizobactérias conseguem manter melhor desempenho fisiológico até níveis moderados de déficit hídrico, como relato por Castro et al. (2019). Esses benefícios podem ser potencializados com a associações das rizobactérias com bioestimulantes comerciais, entretanto, estudos com essas associações ainda são incipientes. Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito dos bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS), Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) e a combinação de ambos (BS+BC) nas alterações do desempenho fotossintético, estresse oxidativo e capacidade osmorreguladora provocados pelo déficit hídrico e analisar a capacidade das mudas bioestimuladas na recuperação do status hídrico após período de déficit hídrico.

## REFERÊNCIAS

- ARDIM, M.A.G.; ANDERSON, A.B. Manejo de populações nativas do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico. Boletim de Pesquisa Florestal. Embrapa Florestas, v. 1, n.15, p. 01-18. 1987.
- BAISAK, R.; RANA, D.; ACHARY, P. B. B.; KAR, M. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. Plant and Cell Physiology, 35, p. 489-495. 1994.
- BERNAUD, R. F. S.; FUNCHAL, C. D. S. Atividade antioxidante do açaí. Nutrição Brasil, v. 10, n. 5, p. 310-316. 2011.
- BONOMO, L. F. et al. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. PLoS One, v. 9, n. 3, p. e89933. 2014.
- CASTRO, G. L. S. et al. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açaí palm seedlings by rhizobacteria. Acta Physiologiae Plantarum, v. 41, n. 9, p. 1-12. 2019.
- CASTRO, P. R. C. Princípios da adubação foliar. Jaboticabal: FUNEP, 42p. 2009.
- CEDRIM, P.; BARROS, E.; NASCIMENTO, T. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. Brazilian Journal of Food Technology, v. 21, 16 ago. 2018.
- CHEN, Y.; SCHNITZER, M. The surface tension of aqueous solution of soil humic substances. Soil Science, v.125, p.7-15. 1978.
- DARNET, S.; SERRA, J. L.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. A high-performance liquid chromatography method to measure tocopherols in assai pulp (*Euterpe oleracea*). Food Research International, v. 44, n. 7, p. 2107-2111. 2011.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79157772/area-plantada-com-acaizeiros-de-terra-firme-gerados-pela-pesquisa-cresce-675-no-brasil>>. Acesso em: 10 de Agosto de 2023.
- FREITAS, J. M. N.; CARVALHO, K. S. ; LOBATO, A. K. S. ; CASTRO, D. S. ; Maia, P.S.P. ; OLIVEIRA NETO, C. F. ; COSTA, R. C. L. . Atividade da redutase do nitrato, conteúdo relativo de água e teores de clorofilas solúveis totais em folhas de açaizeiro (*Euterpe edulis* Mart.) submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. Revista Brasileira de Biociências , v. 5, p. 924-926, 2007.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE, 2022). Disponível em:< <https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 de abril de 2023.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Disponível em:< <https://portal.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 12 de agosto de 2023.



KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). Food Chemistry, v. 122, n.3, p. 610-617. 2010.

LEE, Y. S.; BARTLETT, R. J. Stimulation of plant growth by humic substances. Soil Science Society of America Journal, Madison, v.40, p.876-879. 1976.

MARSCHNER, H.; ROMHELD, V.; KISSEL, M. Different strategies of higher plants in mobilization and uptake of iron. Journal of Plant Nutrition, v.9, p.695-714. 1986.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. Acta Amazônica, v. 38, n. 2, p. 311-316. 2008.

OLIVEIRA, L.E.M. Temas em fisiologia vegetal – Espécies reativas de oxigênio. UFPA, 2015. Disponível em: <<http://www.ledson.ufpa.br/>>.

ROGEZ, H.; POMPEU, D. R.; AKWIE, S. N. T.; LARONDELLE, Y. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: a comparison between açaí fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. Journal of Food Composition and Analysis, v. 24, n. 6, p. 796-800. 2011.

SILVESTRE, W. V. D. et al. Differential tolerance to water deficit in two açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) plant materials. Acta Physiologiae Plantarum, v. 39, n. 1, p. 4. 2017.

STEFFEN, K.L. Avoidance of photooxidative stress: Balancing energy flux within the chloroplast. In: "Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism" (Pell E., Steffen K. L. eds), Rockville, p. 119-130. 1991.

VRANOVÁ, E.; INZÉ D.; VAN BREUSEGEM, F. Signal transduction during oxidative stress. Journal of Experimental Botany, v. 53, p.1227-1236. 2002.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. Food Chemistry, v. 179, p. 137-151. 2015.

## CAPÍTULO 1. COMBINANDO *Bacillus subtilis* E FERTIACYL GZ<sup>®</sup> PARA AUMENTAR A TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM MUDAS DE AÇAIZEIRO

### RESUMO

O açaizeiro é uma espécie pertencente à família Arecaceae. A produção brasileira do fruto do açaí chegou a 1.485.113 t em 2021, com uma área colhida de 208.111 hectares e produtividade média de 7,136 t/ha, sendo o Pará responsável por 93,47% da produção nacional. O aumento da área plantada e do consumo nacional e internacional, culminou na expansão dos plantios de terra firme que necessitam de mudas vigorosas, saudáveis e mais tolerantes ao déficit hídrico para as áreas de produção. Uma estratégia para materiais mais tolerantes ao déficit hídrico, é a utilização de bioestimulantes. O objetivo do estudo foi aliviar o efeito dos bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) nas alterações das trocas gasosas, estresse oxidativo e acúmulo de osmorreguladores provocados pelo déficit hídrico. O experimento ocorreu na casa de vegetação no setor de solos da Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA, em Belém, Pará. Os tratamentos foram compostos por plantas não inoculadas (controle) e inoculadas com BS, BC e combinação de BS + BC, os quais foram avaliados em condição de plena irrigação e após sete e 14 dias de suspensão hídrica. Aos sete dias de déficit hídrico, as mudas bioestimuladas com BC, aumentaram respectivamente, 76%, 100%, 39% e 75% a  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $A/C_i$ . Aos 14 dias de déficit hídrico, plantas com BC e BS+BC aumentaram em 71% e 35% a  $A$ ; 100% e 63% a  $g_s$ ; 75% e 25% a  $A/C_i$  e com BC, 64% a  $E$ , em relação ao controle. Aos 14 dias de suspensão hídrica, o  $\Psi_w$  foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, em relação às não-bioestimuladas. O teor de prolina foi maior nas mudas bioestimuladas, sendo mais expressivo nas plantas com BS, 75% maior que o controle. Aos 14 dias de DH, o teor de MDA das plantas controle foi maior estatisticamente a todas as médias das plantas bioestimuladas. A maior atividade enzimática da SOD e CAT foi encontrada para BC e BS+BC e da enzima APX para o tratamento BS+BC. A aplicação do Fertiactyl GZ<sup>®</sup> mitigou os danos do déficit hídrico em mudas de açaizeiro por induzir o acúmulo de osmorreguladores, como a prolina, e ativar o sistema enzimático de defesa antioxidante (SOD, CAT e APX) para aliviar o estresse oxidativo e manter o melhor desempenho fisiológico.

**Palavras-chave:** *Euterpe oleracea* Mart. Bioestimulante. Escassez hídrica. Acúmulo de osmorregulador.

## ***Bacillus subtilis* AND FERTIACYL GZ<sup>®</sup> COMBINED TO WATER DEFICIT TOLERANCE INCREASE IN AÇAÍ PALM SEEDLINGS**

### **ABSTRACT**

The açai palm is a specie belonging to the Arecaceae family. Brazilian production of the açai fruit reached 1,485,113 t in 2021, with a harvested area of 208,111 hectares and average productivity of 7,136 t/ha, with Pará responsible for 93.47% of national production. The increase in the planted area and in national and international consumption, culminated in the expansion of upland plantations that require vigorous, healthy seedlings that are more tolerant to the water deficit for the production areas. A strategy for materials that are more tolerant to water deficit is the use of biostimulants. The objective of the study was to alleviate the effect of the biostimulants *Bacillus subtilis* (BS) and Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) on changes in gas exchange, oxidative stress and accumulation of osmoregulators caused by water deficit. The experiment took place in the greenhouse in the soil sector at the Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, in Belém, Pará. The treatments consisted of non-inoculated plants (control) and inoculated with BS, BC and a combination of BS+BC, the which were evaluated under full irrigation condition and after seven and 14 days of water suspension. At seven days of water deficit, the seedlings biostimulated with BC increased, respectively, 76%, 100%, 39% and 75% to  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  and  $A/C_i$ . At 14 days of water deficit, plants with BC and BS+BC increased by 71% and 35% to  $A$ ; 100% and 63% on  $g_s$ ; 75% and 25% to  $A/C_i$  and with BC, 64% to  $E$ , in relation to the control. At 14 days of water suspension,  $\Psi_w$  was 24% and 35% higher in seedlings biostimulated with BS and BC, compared to non-biostimulated ones. The proline content was higher in biostimulated seedlings, being more expressive in plants with BS, 75% higher than the control. At 14 days of WD, the MDA content of the control plants was statistically higher than all averages of the biostimulated plants. The highest enzymatic activity of SOD and CAT was found for BC and BS+BC and of the APX enzyme for the BS+BC treatment. The application of Fertiactyl GZ<sup>®</sup> mitigated the damage caused by water deficit in açai seedlings by inducing the accumulation of osmoregulators, such as proline, and activating the antioxidant defense enzymatic system (SOD, CAT and APX) to alleviate oxidative stress and maintain the better physiological performance.

**Key words:** *Euterpe oleracea* Mart. Biostimulant. Water scarcity. Accumulation of osmoregulator.

## 2.1. INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) pertencente à família Arecaceae, pode ser encontrado como simples componente de florestas nativas, ou como maciços naturais, em toda a região do estuário amazônico (AGUIAR., 2018; CARVALHO & NASCIMENTO., 2018). A importância econômica da cultura representa um potencial significativo para melhorar os padrões socioeconômicos da população local (MIRANDA et al., 2022).

A maior parte da produção de frutos provém das regiões de várzea da região amazônica, todavia a crescente demanda nacional e internacional pelo açaí e seus derivados, tem impulsionado cada vez mais a produção em terra firme. O Brasil é considerado o país que mais produz, consome e exporta o açaí, e as indústrias, visando a manutenção e ampliação do mercado do fruto, estão investindo não só no cultivo, mas também na qualificação da mão de obra. Com o crescimento do mercado, esse produto passou a ser consumido nas grandes capitais brasileiras, atingindo outros países, como Japão, China, Estados Unidos e Europa (MENEZES et al., 2008).

Para atender a expansão dos plantios, a procura por mudas vigorosas tem aumentado consideravelmente. Mudas de açaí (cv. BRS-Pará e cotipo Hideo), adaptadas a áreas de terra firme, conseguiram se desenvolver de forma viável somente em regimes hídricos de 100% e 130% de capacidade de campo, em regimes hídrico de 130%, as plantas apresentaram maior altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar total, biomassa de raízes e folhas, biomassa total e razão raiz parte aérea, maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, menor condutância estomática, menor transpiração e maior eficiência instantânea do uso da água. Demonstrando, desta forma, a alta necessidade hídrica exigida por esta cultura e alta sensibilidade aos efeitos negativos do déficit hídrico (SILVESTRE., 2017).

Uma alternativa aos impactos negativos do déficit hídrico é a utilização de microrganismos promotores de crescimento, pois estes estimulam o crescimento das raízes, aumentando a área de absorção de água e nutrientes (SARAVANAKUMAR et al., 2011). Quando bioestimuladas, mudas de açazeiro conseguem manter seus mecanismos fisiológicos e bioquímicos. Plantas jovens de açazeiro inoculadas com bactérias promotoras de crescimento (BPCP), conseguem manter maior potencial hídrico, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, em até 50% da capacidade de campo, quando comparadas com plantas sem bioestimulação (CASTRO et al., 2019).

Em mudas de açazeiro inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), o alívio dos efeitos do déficit hídrico pode ocorrer pela maior biossíntese de osmorreguladores, como prolina e glicina-betaína, que regulam o balanço hídrico para manter o maior potencial hídrico nas folhas (WANG et al. 2014). Em plantas sob estresse, o conteúdo de osmorreguladores, como a prolina pode aumentar em até 100 vezes, em comparação ao observado em plantas cultivadas sob condições normais, indicando um importante parâmetro para a seleção de plantas resistentes ao déficit hídrico (VERBRUGGEN & HERMANS, 2008). Monteiro et al. (2014) também detectaram o acúmulo de prolina em plântulas de feijão-guandu sob níveis moderados de deficiência hídrica. Albuquerque et al. (2013), estudando plantas jovens de mogno-africano, encontraram que a expressiva acumulação de prolina, fez com que a espécie tolerasse estresse hídrico moderado.

A indução desta capacidade osmorreguladora pode influenciar na maior proteção ao aparato fotossintético contra espécies reativas de oxigênio, através das enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX (FORNI et al., 2016). O radical superóxido ( $O_2^{-1}$ ), mais reativo aos lipídeos de membrana, pode ser convertido em  $O_2$  e  $H_2O_2$  pela enzima SOD, e esse  $H_2O_2$  formado, pode ser convertido a  $O_2$  e  $H_2O$  pelas enzimas CAT e APX, (XU et al., 2016). Desse modo, o alívio do estresse oxidativo e a maior proteção do aparato fotossintético, proporcionado pelas enzimas antioxidantes, pode garantir a manutenção do maior desempenho fotossintético em mudas de açazeiro sob déficit hídrico.

A utilização de bioestimulantes comerciais, como o Fertiactyl GZ<sup>®</sup>, através do complexo GZA, que contempla uma fração mineral e outra orgânica (glicina-betaína, zeatina e ácidos húmicos e fúlvicos), pode contribuir para o maior crescimento, indução de vigor e alterações metabólicas que resultam em maior tolerância ao déficit hídrico (CABRAL., 2019).

Sabendo que a utilização de bioestimulantes pode ser uma alternativa para diminuir os efeitos da restrição hídrica, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos fisiológicos e bioquímicos do déficit hídrico em mudas de açazeiro inoculadas com a rizobactéria *Bacillus subtilis*, com o Fertiactyl GZ<sup>®</sup> e com a combinação de ambos.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Crescimento de plantas

O semeio das sementes da cultivar BRS Pará (*Euterpe oleracea* Mart.) e a condução do experimento ocorreram na casa de vegetação no setor de solos da Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA, em Belém, Pará (01°27'29"S, 48°26'06"W), com área de aproximadamente 70m<sup>2</sup>, composto por porta e paredes com estrutura em madeira e telas de aço, piso em cimento grosso, pé-direito de 3,40m, ventilação e iluminação natural. A casa de vegetação foi coberta com filme de polietileno de 100 µm aditivado contra radiação UV. O clima local é classificado como tipo Af<sub>i</sub> de acordo com a classificação de Koppen-Geiger, 1936.

As sementes pré-germinadas foram adquiridas na empresa Amazonflora. A semeadura ocorreu em duas bandejas de polietileno com dimensões de 53 cm de comprimento, 27 cm de largura e 4,2 cm de altura. As bandejas foram preenchidas com 2,5 L de substrato composto de fibra de coco triturada, Golden Mix 87, um substrato de textura intermediária, elaborado a partir do mesocarpo do coco, com pH 6,0 (SOCOCO Agroindústria da Amazônia, Ananindeua, Brasil).

Aos 30 dias após a semeadura, as plântulas que apresentaram altura próxima de 07 cm foram transplantadas para sacos preto de polietileno (15 x 25 cm, comprimento x altura) contendo substrato composto de 60% de Latossolo Amarelo e 40% de cama de aviário curtida, cuja composição físico-química está apresentada na Tabela 01. O pH do substrato e os teores de macro e micronutrientes foram ajustadas conforme recomendação de adubação para açaizeiros (CRAVO et al., 2007). Antes do transplântio, foi realizada a secção radicular das plântulas, para melhor uniformidade.

Durante o período experimental as condições ambientais foram de 32 ± 2 °C de temperatura do ar, 75 ± 5% de umidade relativa, 2 ± 0,2 kPa de DPV do ar e 800 ± 100 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiação incidente. A irrigação das plantas foi realizada diariamente, com uma aplicação de 50 mL de água por planta, manualmente, para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do solo próximo da capacidade de campo (KLAR et al., 1966).

**Tabela 01.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo onde foi conduzido o experimento de mudas de açaizeiro, em Belém, Pará.

<sup>1</sup> Prof cm	pH (CaCl <sub>2</sub> )	C	MO	Macronutrientes							Micronutrientes			
				P (Mehlich <sup>-1</sup> ) mg dm <sup>-3</sup>	K	Ca	Mg	Al	V%	H+Al %	Cu	Fe	Mn	Zn
0-20	5,1	28	49	51,9	0,59	3,7	2,6	0	73	0	0,5	73,0	37,5	3,7

<sup>1</sup> Prof. (cm)	Areia Total	Silte	Argila
0 - 20	753	40	207

Fonte: IBRA: Instituto Brasileiro de Análises. <sup>1</sup>profundidade.

### 2.2.2. Desenho experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e 6 repetições. Os tratamentos foram compostos por plantas não inoculadas (controle) e inoculadas com a bactéria *Bacillus subtilis* (BS), bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) e a combinação de BS + BC, os quais foram avaliados no início, na condição de plena irrigação, e após 7 dias e 14 dias de suspensão hídrica. Os dados fisiológicos e bioquímicos foram submetidos às análises de normalidade, homoscedasticidade, Teste F e quando significativos as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ) com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2021).

### 2.2.3. Caracterização da rizobactéria e do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup>

A característica da rizobactéria *Bacillus subtilis* (BS), proveniente de região de plantio de açaizeiro no Amazonas, está descrita na Tabela 02. A rizobactéria BS está armazenada e preservada na coleção de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém, PA, Brasil.

O bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) pertencente à empresa TIMAC Agro Ltda, é composto por 13,0 % de N, 5,0 % de K<sub>2</sub>O, 6,5% de carbono orgânico, além de fontes naturais de aminoácidos, ácidos húmicos e fúlvicos. É recomendado para aplicação no solo ou foliar em mudas e/ou plantas jovens com o objetivo de aumentar a tolerância ao estresse e aumentar o crescimento radicular (Tabela 03).

**Tabela 02.** Código de identificação, origem, cor, características bioquímicas e classificação taxonômica da rizobactéria R92 (*Bacillus subtilis*) utilizadas no tratamento das mudas de açaizeiro.

Código <sup>a</sup>	Origem <sup>b</sup>	Cor <sup>c</sup>	Bioquímica					Taxonomia <sup>c</sup>
			AIA <sup>d</sup>	Celu. <sup>e</sup>	Fosf. <sup>f</sup>	Sider. <sup>g</sup>	Fix.N <sup>h</sup>	
R-92	AM/Brasil	Amarelo	-	-	-	-	-	<i>Bacillus subtilis</i>

<sup>a</sup>Código de identificação das rizobactérias na coleção de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia. <sup>b</sup>Origem geográfica de cada rizobactéria. <sup>c</sup>Cor da colônia (Malke 1991). <sup>c</sup>Classificação taxonômica (\*Nascente et al. 2016). <sup>d</sup>Produção de ácido indol acético (Cattelan 1999). <sup>e</sup>Produção de celulase (Teather and Wood 1982). <sup>f</sup>Solubilização de fosfato (Sylvester-Bradley et al. 1982). <sup>g</sup>Produção de sideróforos e <sup>h</sup>Fixação de nitrogênio (Döbereiner and Day 1976).

**Tabela 03.** Componentes presentes no bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup>.

Nome	Componentes	Garantias	Densidade	Registro no MAPA	Origem
Fertiactyl GZ <sup>®</sup>	Água	13% de Nitrogênio (N solúvel em água- 156 g/L)	1,2 g/mL	RS 000155-0.000160	Rio Grande-RS
	Cloreto de Potássio	5% de Óxido de Potássio (K <sub>2</sub> O solúvel em água- 60 g/L)			
	Hidróxido de Potássio	6,5 % de Carbono Orgânico Total (78 g/L)			
	Ureia				
	10,7% de estabilizantes 0,5% de tensoativo				

Fonte: TIMAC Agro Indústria e Comércio de Fertilizantes Ltda.

#### 2.2.4. Inoculação dos bioestimulantes

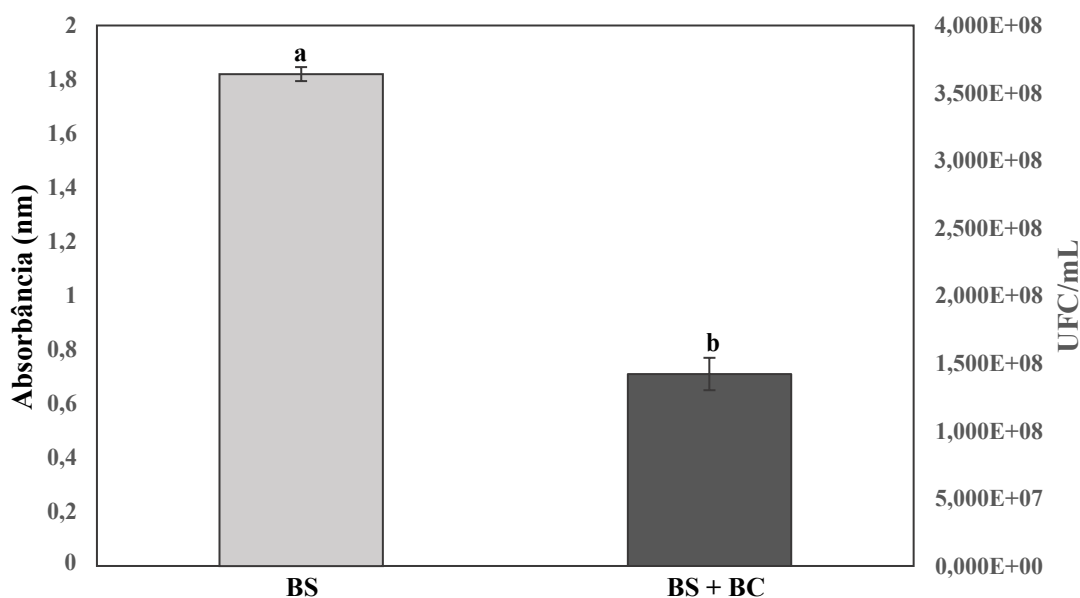
As rizobactérias foram cultivadas em meio sólido 523 (KADO; HESKETT., 1970) durante 48 h a 28 °C. A suspensão bacteriana foi preparada com água destilada, esterilizada e a concentração foi ajustada em espectrofotômetro para A540 = 0,5 (10<sup>8</sup> UFC). O bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) foi adquirido da empresa TIMAC Agro Ltda e foi preparado na concentração de 0,75% (dose comercial).

Foram realizadas quatro inoculações para cada tratamento, com 50 mL/muda, semanalmente, com as mudas aos 7 meses de idade. Na aplicação, 50% do volume foi aplicado na raiz e 50% via foliar com o auxílio de pulverizador manual. Para as plantas controle, a solução foi composta com água destilada e esterilizada. Na associação, a



inoculação foi realizada de forma escalonada, na primeira semana foi aplicada a solução de *Bacillus subtilis* (BS), na segunda semana a solução do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) e assim sucessivamente até a quarta inoculação. A aplicação separada dos bioestimulantes (BS + BC) foi definida após teste de compatibilidade realizado em laboratório, onde a presença do BC reduziu o crescimento da BS em 60,99%, conforme observado na Figura 01.

**Figura 01.** Teste de compatibilidade através da avaliação do crescimento de *Bacillus subtilis* (BS) na presença e ausência do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC).



Obs<sup>1</sup>: As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Student não pareado ( $P < 0.05$ ).

### 2.2.5. Imposição do déficit hídrico

A imposição do déficit hídrico foi realizada um mês após a inoculação dos bioestimulantes, com as mudas de açazeiro aos oito meses de idade. As plantas foram irrigadas diariamente para manter o solo próximo de 100% da capacidade de campo (CC), o qual foi obtida através da pesagem dos sacos+ solo+ muda, conforme descrito por Klar et al. (1966). Em seguida, a irrigação foi suspensa e as plantas foram avaliadas através das trocas gasosas, em intervalos de sete dias.

Quando a fotossíntese líquida (*A*) do tratamento controle apresentou redução maior que 50% (aos sete dias de medição) e mais de 75% (aos 14 dias de suspensão da irrigação), foi realizada a medição do potencial hídrico foliar e coleta de amostras para as análises bioquímicas. As condições ambientais do viveiro foram de  $32 \pm 1$  °C de

temperatura do ar,  $72 \pm 5\%$  de umidade relativa do ar,  $463 \pm 132 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação incidente e déficit de pressão de vapor de ar de  $2,6 \pm 0,6 \text{ kpa}$ .

### 2.2.6. Trocas Gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas foram determinados através da segunda ou terceira folha fisiologicamente madura e completamente expandida, do ápice para a base, a partir do primeiro mês após a inoculação com os bioestimulantes BS, BC e BS+BC nas mudas de açaizeiro. Ao total foram realizadas três medições, sendo aos zero, sete e 14 dias após a suspensão completa da irrigação.

A taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), eficiência instantânea do uso da água ( $A/E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) foram estimadas entre 10:00 e 12:00 horas utilizando um sistema portátil de fluxo aberto de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob uma concentração externa de  $\text{CO}_2$  de  $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de ar e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de  $1000 \mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Esse intervalo de medição foi ajustado de acordo com a curva diurna de trocas gasosas obtida previamente para a cultura do açaizeiro (CASTRO et al., 2019). A quantidade de luz azul foi ajustada para 10% da radiação fotossinteticamente ativa para otimizar a abertura estomática.

### 2.2.7. Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Para a mensuração do conteúdo relativo de água (CRA), conforme SLAVICK, B. (1979), foram coletados dez discos foliares (6 mm de diâmetro) de uma folha por muda de açaizeiro. Após retirada, foi determinada a massa fresca ( $\text{MF}_1$ ) dos mesmos em balança analítica de precisão. Após a pesagem inicial, os discos foram transferidos para microtubos tipo Falcon contendo 50 mL de água destilada, em temperatura ambiente de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , por um período de seis horas.

Após retirada, os discos foram colocados em papel filtro para retirar o excesso de água, por um período de um minuto, e em seguida foram pesados para a determinação da massa túrgida ( $\text{MF}_2$ ). Após a determinação da  $\text{MF}_2$ , os discos foram colocados em sacos de papel e levados à estufa ( $75 \text{ }^\circ\text{C}$ ), por 48 horas e posteriormente foi determinado a massa seca dos discos (MS).

O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado através da mensuração dos pesos fresco ( $\text{MF}_1$ ), túrgido ( $\text{MF}_2$ ) e seco (MS) das amostras pela fórmula  $\text{CRA} = [(\text{MF}_1 - \text{MS}) / (\text{MF}_2 - \text{MS})] \times 100$ . Os resultados foram expressos em porcentagem. O CRA foi

mensurado com os tratamentos na condição de irrigados (0 dias) e no último dia de déficit hídrico (14 dias).

### **2.2.8. Potencial hídrico**

As avaliações do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foram realizadas às seis horas da manhã com as folhas coletada na porção basal das plantas. A mensuração foi realizada com uma bomba de pressão do tipo Scholander (m 670, Pms Instrument Co., Albany, EUA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2008).

### **2.2.9. Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi mensurada pelos teores de aldeído malônico (MDA), extraídos conforme descrito por Cakmak & Horst (1991). Amostras do tecido vegetal congeladas (20 mg) foram trituradas e homogeneizadas na presença de 250  $\mu$ L de ácido tricloroacético 0,1% (p/v) e o homogenato centrifugado a 15.000 x g, por 15 min, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e uma alíquota de 50  $\mu$ L deste foi adicionado em 150  $\mu$ L de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (preparado em ácido tricloroacético 20%). Os tubos foram agitados em vórtex e incubados a 90°C, por 20 min. Após esta etapa, a reação foi paralisada por imersão dos tubos em banho de gelo e a mistura clarificada por centrifugação a 13.000 x g, por 4 min, a 4°C.

A absorbância (ABS) das amostras foi determinada em espectrofotômetro (Multiskan GO 3.2) a 532 e a 600 nm, em que 532 nm representaram a máxima absorção do complexo MDA-TBA e a ABS inespecífica (600 nm) descontada. O coeficiente de extinção molar do MDA (155  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) foi utilizado para os cálculos e os resultados foram expressos em nmol MDA  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca (MF).

### **2.2.10. Enzimas antioxidantes**

A extração da dismutase do superóxido (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi realizada a partir de 20 mg de massa fresca homogeneizados em 200  $\mu$ L do meio de extração, contendo 100 mM de tampão fosfato de potássio (TFK; pH 7,8); 0,1 mM de EDTA; 0,1% (v/v) de 2-Mercaptoetanol; 0,001% (v/v) de Triton X-100; 0,001 mg de Polivinilpirrolidona (PVP) e 20 mM de ascorbato. Após centrifugação a 15.000 g/15 min/4°C, o sobrenadante foi coletado para as análises posteriores.

A atividade da SOD foi determinada segundo Giannopolitis & Ries (1977) com algumas adaptações: o meio de reação foi constituído de: 52,5 mM de TFK (pH 7,8); 0,1

$\mu\text{M}$  de EDTA; 13 mM de metionina (pH 7,8); 2  $\mu\text{M}$  de riboflavina; 0,075 mM de azul de nitrotetrazólio (NBT) e uma alíquota de 5  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. A produção de formazana azul proveniente da redução do NBT em presença de luz foi máxima na ausência da enzima e a leitura das absorbâncias (ABS) das amostras feita a 560 nm. A atividade da SOD foi relacionada à capacidade da enzima presente no extrato em inibir a produção de formazana azul. Os resultados foram expressos em unidades de SOD  $\text{mg}^{-1}$  MF, considerando-se que 1 unidade de SOD é a quantidade de enzima requerida capaz de reduzir em 50% a produção de formazana azul.

A peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) e a catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foram extraídas a partir de 20 mg de massa fresca trituradas em, 200  $\mu\text{L}$  do meio de extração contendo 50 mM de TFK (pH 7,0); 2 mM de EDTA; 0,001% (v/v) de Triton X-100; 14 mM de 2-Mercaptoetanol; 20 mM de ascorbato e 0,001 g de PVP. Após centrifugação a 15.000 rpm, por 15 min. a 4°C, o sobrenadante foi coletado para as análises enzimáticas. A atividade da APX foi acompanhada pelo decréscimo da ABS a 290 nm em um meio de reação constituído de TFK 50 mM (pH 7,0); 0,1 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 0,5 mM de ascorbato e 3  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático (NAKANO; ASADA, 1981). Para os cálculos, 1 unidade (U) de APX é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de ascorbato  $\text{min}^{-1}$ . O meio de reação da CAT foi constituído de 50 mM de TFK (pH 7,0) e 12,5 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; e a reação iniciou pela adição de 3  $\mu\text{L}$  de extrato.

A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento do decréscimo da ABS a 240 nm (HAVIR; MCHALE, 1987) e para os cálculos foi considerado que 1 U de CAT é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$   $\text{min}^{-1}$ . As dosagens de MF para os cálculos das atividades enzimáticas da SOD, APX e CAT foram realizadas segundo Bradford. (1976).

### **2.2.11. Prolina**

Os teores de prolina livre foram determinados de acordo com Bates et al. (1973). Amostras de 0,5 g tecido foliar seco triturado foram homogeneizadas em 5 mL de água deionizada e incubadas em banho-maria a 100 °C por 30 min, seguido de centrifugação a 10000 x g por 10 min. Na concentração de 1mL do sobrenadante foi adicionado 1 mL de ácido acético glacial (P.A.) e 1 mL de ninhidrina ácida. Após aquecimento em banho-maria a 100 °C por 1 h, a reação foi interrompida em banho de gelo. O cromóforo formado foi extraído com 3 mL de tolueno e os tubos de ensaio contendo o cromóforo e tolueno foram mantidos no escuro, com o auxílio de papel alumínio. Em seguida, a absorbância

da camada orgânica superior foi extraída e lida em espectrofotômetro a 520 nm. A concentração de prolina foi estimada tomando como referência uma curva-padrão de L-prolina e expressa  $\mu\text{mol prolina g}^{-1} \text{MS}$ .

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Trocas gasosas

O déficit hídrico alterou as trocas gasosas das mudas de açazeiro, entretanto a bioestimulação mitigou essas alterações para manter o melhor desempenho fisiológico. Os benefícios da bioestimulação iniciaram previamente nas condições de irrigação plena, ou seja, sem deficiência hídrica. Todas as mudas bioestimuladas aumentaram a taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) em comparação às mudas não bioestimuladas (controle). Os maiores aumentos foram para as mudas bioestimuladas com o bioestimulante comercial (BC) Fertiactyl GZ<sup>®</sup>, sendo de 37% para  $A$ , 75% para  $g_s$ , 62% para  $E$  e 32% para  $A/C_i$ , em relação ao controle. A concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) foi maior para a bioestimulação com BC e a eficiência do uso da água ( $A/E$ ) não foi alterada por nenhuma bioestimulação (Tabela 04).

Aos sete dias de déficit hídrico as mudas bioestimuladas com BC conseguiram manter os aumentos de 76% para  $A$ , 100% para  $g_s$ , 39% para  $E$  e 75% para  $A/C_i$  em relação ao controle. Para as mudas bioestimuladas com BS os aumentos em relação ao controle foram de 24% para  $A$ , 87% para  $g_s$ , 27% para  $E$  e 25% para  $A/C_i$ . As mudas com bioestimulação combinada BS+BC aumentaram em 36%  $A$ , em 40%  $g_s$ , em 47%  $A/E$  e em 25%  $A/C_i$  em relação ao controle. Na  $C_i$  as maiores médias foram observadas para o tratamento controle DH e BS+BC (Tabela 04).

Aos 14 dias de déficit hídrico foram observadas diminuições drásticas nas trocas gasosas. Entretanto, as bioestimulações com BC e combinação BS+BC conseguiram manter as maiores médias de  $A$ ,  $g_s$  e  $A/C_i$ , em relação ao controle. Para BC os aumentos foram de 71% em  $A$ , 100% em  $g_s$ , 64% em  $E$  e 75% em  $A/C_i$ . A bioestimulação combinada BS+BC aumentou em 35%  $A$ , em 63%  $g_s$  e em 25%  $A/C_i$ , em relação ao controle. Como aos 7 dias de DH, as maiores médias de  $C_i$  foram observadas para o tratamento controle DH e BS+BC. Para  $A/E$  não houve alterações significativas em função das bioestimulações (Tabela 04).

### 2.3.2. Status hídrico e osmorreguladores

O status hídrico mensurado pelo potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) e conteúdo relativo de água (CRA) não foi alterado pelas bioestimulações das mudas em condições de plena irrigação, ou seja, aos zero dias de déficit hídrico. Entretanto, aos 14 dias de déficit hídrico o  $\Psi_w$ , foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, respectivamente, em relação ao controle. O CRA não foi alterado com a presença dos bioestimulantes (Tabela 05).

Os teores de prolina não foram alterados pela bioestimulação das mudas em condições normais de plena irrigação, entretanto aos 14 dias de déficit hídrico, todas as mudas bioestimuladas aumentaram os teores de prolina, sendo mais expressivo nas mudas bioestimuladas com BS, que aumentaram em 75% comparadas às plantas controle (Tabela 05).

**Tabela 04.** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*), transpiração (*E*), eficiência do uso da água (*A/E*) e eficiência de carboxilação (*A/C<sub>i</sub>*) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero, sete e 14 dias de déficit hídrico (DH).

DH (dias)	<sup>b</sup> Bioestimulantes	Variáveis					
		<i>A</i> ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>g<sub>s</sub></i> ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>C<sub>i</sub></i> ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ )	<i>E</i> ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>A/E</i>	<i>A/C<sub>i</sub></i>
0	BS	7,84 b	0,039 bc	348,7 b	1,24 b	6,35 a	0,022 a
	BC	9,10 a	0,056 a	358,9 a	1,64 a	5,74 a	0,025 a
	BS+BC	7,76 b	0,041 b	346,9 b	1,16 b	6,78 a	0,023 a
	Controle	6,64 c	0,032 c	353,3 ab	1,01 b	6,84 a	0,019 b
	<sup>c</sup> CV(%)	11,00	14,33	2,17	16,76	20,6	10,89
7	BS	3,57 b	0,028 a	361,6 b	0,81 a	4,43 b	0,010 b
	BC	5,05 a	0,030 a	360,1 b	0,89 a	5,79 ab	0,014 a
	BS+BC	3,91 b	0,021 b	371,7 a	0,61 b	6,61 a	0,010 b
	Controle	2,87 c	0,015 c	372,5 a	0,64 b	4,49 b	0,008 c
	CV(%)	13,44	17,99	1,10	10,88	24,19	13,80
14	BS	1,65 bc	0,010 bc	351,2 b	0,30 b	5,58 a	0,005 bc
	BC	2,51 a	0,016 a	348,9 b	0,41 a	6,49 a	0,007 a
	BS+BC	1,99 b	0,013 b	378,9 a	0,28 b	7,18 a	0,005 b
	Controle	1,47 c	0,008 c	375,1 a	0,25 b	5,57 a	0,004 c
	CV(%)	17,01	19,32	3,12	16,38	20,38	17,68

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). <sup>a</sup>Déficit hídrico (DH) (dias). <sup>b</sup>Bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e Bioestimulante comercial (BC) Fertiactyl GZ<sup>®</sup>. <sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV).

**Tabela 05.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), Conteúdo relativo de água (CRA) e prolina, em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de déficit hídrico (DH).

<sup>a</sup> DH (dias)	<sup>b</sup> Bioestimulantes	Variáveis		
		$\Psi_w$ (Mpa)	CRA (%)	Prolina ( $\mu\text{mol/g MS}$ )
0	BS	-0,41 a	77,09 a	4,52 a
	BC	-0,49 a	75,27 a	4,76 a
	BS+BC	-0,40 a	73,40 a	4,82 a
	Controle	-0,48 a	73,57 a	4,08 a
	<sup>c</sup> CV(%)	17,67	12,56	16,05
14	BS	-1,15 a	59,07 a	7,72 a
	BC	-0,98 a	70,72 a	6,25 b
	BS+BC	-1,43 b	65,04 a	5,54 b
	Controle	-1,51 b	56,48 a	4,40 c
	<sup>c</sup> CV(%)	11,20	18,09	13,62

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).<sup>a</sup>Déficit hídrico (DH) (dias). <sup>b</sup>Bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e bioestimulante comercial (BC) Fertiactyl GZ<sup>®</sup>. <sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV).

### 2.3.3. Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes

Em condição de plena disponibilidade hídrica, não houve diferença entre os tratamentos nos teores de aldeído malônico (MDA). Todavia, aos 14 dias de déficit hídrico, os teores de MDA em plantas controle aumentaram 20,3% em relação às mudas bioestimuladas com BC, 7,9% em relação às plantas com BS e 14,6% comparada à associação de BS+BC.

Na condição de 100% irrigadas, não houve diferença na atividade da superóxido dismutase entre plantas bioestimuladas e não-bioestimuladas. Aos 14 dias de déficit hídrico, a maior atividade da SOD foi encontrada para o BC e para BS+BC, com 45,4% e 37,8%, respectivamente, em relação ao controle.

Aos 14 dias de DH, a maior atividade enzimática da CAT foi para os tratamentos BS+BC com 73% e BC com 71%, em relação às plantas não-bioestimuladas. Ainda no mesmo período de avaliação, a atividade da enzima APX foi maior no tratamento BS+BC, 76,5% superior ao controle em déficit hídrico.

**Tabela 06.** Conteúdo de aldeído malônico (MDA) e atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de déficit hídrico (DH).

<sup>a</sup> DH (dias)	<sup>b</sup> Bioestimulantes	Variáveis			
		MDA (μmol/g MF)	SOD (U mg <sup>-1</sup> MF)	CAT (U mg <sup>-1</sup> MF)	APX (U mg <sup>-1</sup> MF)
0	BS	39,73 a	279,53 a	0,69 a	7,17 b
	BC	38,38 a	207,21 a	0,58 ab	8,87 a
	BS+BC	40,22 a	263,32 a	0,64 a	9,14 a
	Controle	35,21 a	254,29 a	0,50 b	5,08 c
	<sup>c</sup> CV(%)	11,01	23,82	17,40	9,42
14	BS	65,31 ab	294,75 ab	1,35 b	14,54 b
	BC	56,49 b	330,96 a	1,78 a	11,58 c
	BS+BC	60,56 b	313,69 a	1,80 a	15,57 a
	Controle	70,91 a	227,61 b	1,04 b	8,82 d
	<sup>c</sup> CV(%)	12,00	22,72	19,53	6,28

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). <sup>a</sup>Déficit hídrico (DH) (dias). <sup>b</sup>Bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e bioestimulante comercial (BC) Fertiactyl GZ<sup>®</sup>. <sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV).

## 2.4. DISCUSSÃO

O presente estudo relata pela primeira vez o uso de bioestimulantes associados (BS+BC) para mitigar os efeitos do déficit hídrico em mudas de açaizeiro. A inoculação revelou melhorias no desempenho fotossintético e capacidade de regulação osmótica até 14 dias de suspensão da irrigação. Esses benefícios, que estão associados com a maior tolerância ao déficit hídrico, já foram relatados em outras culturas inoculadas apenas com bioestimulantes à base de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), como no arroz (YUWONO et al., 2005), trigo (KASIM et al., 2013) e milho (GOU et al., 2015).

Quando irrigadas, aos zero dias de déficit hídrico, a maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> das plantas bioestimuladas foi beneficiada pela maior abertura estomática. Para mudas bioestimuladas, a maior condutância estomática também contribuiu com a maior transpiração, em relação ao controle, resultado semelhante ao observado em mudas de açaizeiro inoculadas com *Bacillus subtilis* (CASTRO et al., 2019).

Aos sete dias de déficit hídrico, as mudas com bioestimulação combinada BS+BC aumentaram a taxa de fotossíntese líquida, a condutância estomática, a eficiência do uso da água e a eficiência de carboxilação, em relação ao controle. Esses aumentos de *A* e *E* influenciaram no aumento da *A/E* e contribuíram para a melhor tolerância das plantas ao déficit hídrico. Na ausência de bioestimulantes, a menor taxa de transpiração das plantas está relacionada a uma estratégia de defesa ao déficit hídrico, para manutenção da



turgescência, conforme observado em plantas de feijão-de-corda em déficit hídrico (FERNANDES et al., 2015).

Plantas bioestimuladas com BC, aos 14 dias de déficit hídrico, apresentaram menor média de concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) e maiores médias de taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ). A menor concentração de  $C_i$  pode ser um indicativo de maior consumo de CO<sub>2</sub> no mesófilo e sugere uma maior atividade da enzima Rubisco na função carboxilase, que durante o primeiro passo do Ciclo de Calvin, fixa o dióxido de carbono e dá origem ao composto de seis carbonos que é hidrolisado, gerando duas moléculas de 3-fosfoglicerato. Desta forma, pode estar ocorrendo então uma maior atividade fotossintética ( $A$ ) e conseqüentemente uma maior eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ).

Em contrapartida, aos 14 dias de restrição hídrica, plantas não bioestimuladas apresentaram maior  $C_i$  e menores médias de  $A$ ,  $g_s$  e  $A/C_i$ . Uma possível explicação pode estar relacionada à fotorrespiração ocasionada pelo stress hídrico. Na fotorrespiração, a Rubisco passa a exercer a função oxigenase e a menor condutância estomática aumenta a proporção de O<sub>2</sub>, em relação ao CO<sub>2</sub>. A fotorrespiração é uma fonte de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), uma espécie reativa de oxigênio (ERO), considerada tóxica, a qual sinaliza o estresse em plantas. Embora com médias inferiores aos das plantas bioestimuladas, mudas controle também demonstraram atividade de enzimas antioxidantes, como a CAT, onde a sua maior atividade culmina na maior quebra do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e sinaliza o estresse hídrico das plantas controle.

Com 14 dias de déficit hídrico, a maior taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração ( $E$ ), eficiência do uso da água ( $A/E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) foi observada nas mudas inoculadas com o bioestimulante BC. O melhor desempenho fotossintético em relação ao controle, pode ser justificado pela presença de compostos orgânicos, como aminoácidos e açúcares osmorreguladores, no BC, já que a acumulação destes compostos osmoticamente compatíveis, em condições de estresse, pode influenciar na melhor capacidade de regulação da abertura estomática que contribuem para melhorias nas trocas gasosas (SILVA et al., 2011).

Plantas de açaizeiro bioestimuladas com os tratamentos BS e BC isoladamente, apresentaram maior potencial hídrico em relação às plantas controle, em 14 dias de déficit hídrico. O menor potencial hídrico apresentado pelas plantas não inoculadas, culminou na menor taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, menor condutância estomática e menor transpiração. O potencial de água na folha está relacionado à capacidade de reposição da

água perdida pela transpiração. Com a menor abertura estomática, houve uma menor perda de água, ou seja, uma menor taxa de transpiração, todavia, a menor  $g_s$  impactou na baixa taxa fotossintética apresentada pelas plantas controle. Plantas não bioestimuladas e submetidas ao déficit hídrico, demonstram redução do potencial hídrico e de  $A$ ,  $g_s$  e  $E$ , como relatado em açaizeiro (SILVESTRE et al., 2017), coco (GOMES et al., 2010), pupunheira (RAMOS et al., 2002; ALVES JÚNIOR et al., 2005) e em palma de óleo (SURESH et al., 2010; SILVA et al., 2016).

Os bioestimulantes, especialmente as PGPR, induzem alterações coordenadas na transpiração, estimulam a regulação estomática para manter altos níveis do potencial hídrico nas folhas, influenciam no conteúdo de ácido abscísico (ABA), na fotossíntese, na mitigação do estresse osmótico através da produção de metabólitos osmoprotetores como betaínas, prolina e trealose, e na proteção contra o estresse oxidativo provocado pelas espécies reativas de oxigênio através das enzimas antioxidantes como dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (BRESSON et al., 2013; FORNI; DUCA; GLICK, 2016).

Em 14 dias de déficit hídrico, houve o aumento no teor de prolina em plantas de açaizeiro bioestimuladas com BS, BC e BS+BC em relação às plantas controle. A maior concentração de aminoácidos, como a prolina, aumenta a concentração de solutos nas células-guarda. O aumento na concentração de solutos, diminui o potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) das células-guarda e com isso aumenta o potencial hídrico das células adjacentes. Como a água se movimenta do maior potencial hídrico para o menor potencial hídrico, ocorre a maior entrada de água nas células guarda. A maior entrada de água nas células guarda dos estômatos, torna-as túrgidas e possibilita a abertura estomática mesmo sob condições de déficit hídrico. Isto pode explicar porque mesmo sob déficit hídrico, plantas bioestimuladas com BC e BS+BC, apresentaram maior teor de prolina e maior condutância estomática ( $g_s$ ), quando comparadas ao tratamento controle.

A rota metabólica responsável pela síntese de prolina mais expressiva em plantas tem início no aminoácido glutamato, o qual pode ser produzido por hidrólise de proteínas, por reações de transaminação ou pelas reações catalisadas pelo ciclo GS/GOGAT (VALPUESTA et al. 1992). Ferreira et al. (2002), observou que genótipos de milho tiveram aumento na concentração de prolina livre em função da deficiência hídrica, retornando aos níveis normais com a recuperação do estresse. Ademais, concluiu que a hidrólise de proteínas, além de contribuir com o aminoácido precursor (glutamato), pode

também contribuir com a própria prolina, favorecendo o seu aumento como aminoácido livre em tratamentos sob estresse hídrico.

O maior teor de aldeído malônico (MDA) foi observado nas plantas controle. Esse composto é derivado da peroxidação lipídica das membranas celulares por espécies reativas de oxigênio (EROS) que causam estresse oxidativo (BARBOSA et al., 2010). Plantas inoculadas com bioestimulantes conseguem maior proteção contra o estresse oxidativo provocado por espécies reativas de oxigênio (EROS), através das enzimas antioxidantes como SOD, CAT e APX (FORNI et al. 2016). As plantas de açaizeiro bioestimuladas com BS+BC, apresentaram menor teor de MDA e maior atividade enzimática de SOD, CAT e APX, indicando que a associação dos bioestimulantes culminou no alívio do estresse oxidativo e na manutenção do maior desempenho fotossintético das mudas de açaizeiro, mesmo sob déficit hídrico.

## 2.5. CONCLUSÃO

A aplicação do Fertiactyl GZ<sup>®</sup> mitigou os danos do déficit hídrico em mudas de açaizeiro por induzir o acúmulo de osmorreguladores, como a prolina, e ativar o sistema enzimático de defesa antioxidante (SOD, CAT e APX) para aliviar o estresse oxidativo e manter o melhor desempenho fisiológico.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. G. R. Efeitos da intensidade do desbaste de estipes de açaizeiros (*Euterpe oleracea* Mart.) nativos na composição de parcelas de produção em várzea do estuário amazônico. Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, v. 60, n. 4, p. 358-365. 2018.

ALBUQUERQUE, M. P. F. de.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S. de .; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48(1), 9–16. 2013.

ALVES JÚNIOR, J.; LOPES, A. S.; HERNANDEZ, F. B.T.; SANTOS, R. A. DOS; BERGAMASCHINE, A. F. Produção de matéria verde em pupunheira irrigada. Irriga, v.10, p.349-356. 2005.

BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. DE C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., & BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. Revista De Nutrição, 23(4), 629–643. 2010.

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

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*, Volume 72, Issues 1–2, 248-254. 1976.

BRESSON, J. et al. The PGPR strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, v. 200, n. 2, p. 558–569. 2013.

CABRAL, A. R. Eficiência do Fertiactyl® na proteção de plantas de eucalipto atingidas por deriva de glyphosate. 2019. 75 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2019.

CAKMAK I.; HORST J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine Max*). *Physiology Plant*, v.83, p.463–468. 1991.

CARVALHO J. E. U.; NASCIMENTO W. M. O. Technological innovations in the propagation of Açaí palm and Bacuri. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2018.

CASTRO, GLEDSON LUIZ SALGADO et al. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açaí palm seedlings by rhizobacteria. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 41, n. 9, p. 1-12. 2019.

CRAVO, M. S.; VIÉGAS I.J.M.; BRASIL E.C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado do Pará. EMBRAPA Amazônia Oriental, Belém, PA (Brasil). 2007.

FERNANDES, F. B. P.; LACERDA; C. F. de.; ANDRADE; E. M. de.; NEVES; A. L. R.; SOUSA, C. H. C. de. Efeito de manejos do solo no déficit hídrico, trocas gasosas e rendimento do feijão-de-corda no semiárido. *Revista Ciência Agronômica*, 46(3), 506–515. 2015.

FERREIRA, V. M., MAGALHÃES, P. C., DURÃES, F. O. M., OLIVEIRA, L. E. M. DE.; PURCINO, A. Á. C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Ciência Rural*, 32(1), 13–17. 2002.

FORNI C, DUCA D, GLICK BR. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil* 1–22. 2016.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutases I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314. 1977.

GOMES, F. P.; OLIVA, M. A.; MIELKE, M. S.; ALMEIDA, A. A. F.; AQUINO, L. A. Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae*, v.126, p.379-384. 2010.

GOU W, TIAN L, RUAN Z, et al. Accumulation of choline and glycinebetaine and drought stress tolerance induced in maize (*Zea mays*) by three plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains. *Pakistan J Bot* 47:581–586. 2015.

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

KADO, C.I; Heskett M.G. Selective Media for Isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969. doi: 10.1094/Phyto-60-969. 1970.

KASIM WA, OSMAN ME, OMAR MN, et al. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. *J Plant Growth Regul* 32:122–130. 2013.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. Das geographische System der Klimate. *Handbuch der Klimatologie*. – Gebrüder Bornträger, v.1, 1–44, part C. Berlin. 1936.

KLAR, A. E., VILLA NOVA, N. A., MARCOS, Z. Z., & CERVÉLLINI, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. *Anais Da Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz*, 23, 15–30. 1966.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. *Acta Amazonica*, v. 38, n. 2, p. 311-316. 2008.

MIRANDA, L. de V. A.; MOCHIUTTI, S.; CUNHA, A. C. da.; CUNHA, H. F. A. Discarding and final destination of açaí in the Oriental Amazon - Brazil. *Ambiente & Sociedade*, 25, 01382. 2022.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANTOS, D. M. M. dos. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 49(1), 18–25. 2014.

NAKANO, Y. and ASADA, K. Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880. 1981.

PINHEIRO, H. et al. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, v. 27, p. 385–392. 2008.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2021.

RAMOS, A.; BOVI, M. L. A.; FOLEGATTI, M. V. Desenvolvimento vegetativo da pupunheira irrigada por gotejamento em função de níveis de depleção de água no solo. *Horticultura Brasileira*, v.20, p.28-33. 2002.

SARAVANAKUMAR, D. et al. Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 203–209. 2011.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; SILVA, S. L. F.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. *Scientia Agrícola*, v. 68, p. 62-68. 2011.

SILVA, P. A.; OLIVEIRA, I. V.; RODRIGUES, K. C. B.; COSME, V. S.; BASTOS, A. J. R.; DETMANN, K. S. C.; CUNHA, R. L.; FESTUCCI-BUSELLI, R. A.; DAMATTA, F. M.; PINHEIRO, H. A. Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm hybrids. *Trees*, v.30, p.203-214, 2016.

SILVESTRE, W. V. D. et al. Differential tolerance to water deficit in two açai (*Euterpe oleracea* Mart.) plant materials. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 39, n. 1, p. 4. 2017.

SLAVICK, B. Methods of studying plant water relations. New York, Springer Verlag. P 449. 1979.

SURESH, K.; NAGAMANI, C.; RAMACHANDURU, K.; MATHUR, R. K. Gas-exchange characteristics, leaf water potential and chlorophyll a fluorescence in oil palm (*Elaeis guineenses* Jacq.) seedlings under water stress and recovery. *Photosynthetica*, v.48, p.430-436. 2010.

VALPUESTA, V., BERTELI, F., PÉREZ-PRAT, E., et al Cambios metabólicos y de expresión génica en plantas superiores en respuesta al estrés salino. *Agriscientia*, v.9, p.55-63. 1992.

VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, v.35, p.753-759. 2008.

WANG S, OUYANG L, JU X, et al. Survey of Plant Drought-Resistance Promoting Bacteria from *Populus euphratica* Tree Living in Arid Area. *Indian J Microbiol* 54:419–426. 2014.

XU, M. et al. Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. *Journal of Food Engineering*, v. 168, p. 52–59. 2016.

YUWONO T, HANDAYANI D, SOEDARSONO J. The role of osmotolerant rhizobacteria in rice growth under different drought conditions. *Aust J Agric Res* 56:715–721. 2005.

## CAPÍTULO 2. *Bacillus subtilis* E FERTIACTYL GZ® CONTRIBUEM PARA A REIDRATAÇÃO DE MUDAS DE AÇAIZEIRO

### RESUMO

O açaizeiro tem seu centro de origem na Amazônia Oriental. Caracteriza-se por ser uma planta perene e indicada para cultivo em regiões tropicais com alto índice de pluviosidade e elevadas temperaturas. A crescente demanda nacional e internacional pelo consumo do fruto e dos seus derivados, deu origem à necessidade do aumento das áreas de produção, ampliando os plantios de açaizais em terra firme. Apesar de adaptada às condições de várzea, a cultura apresenta alta sensibilidade às condições de déficit hídrico. Informações sobre a reidratação de mudas de açaizeiro após períodos de déficit hídrico são escassas, principalmente na região amazônica. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de recuperação hídrica de mudas de açaizeiro bioestimuladas, através do desempenho fotossintético, fisiológico e bioquímico. O experimento ocorreu na casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará e foi composto por cinco tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram plantas inoculadas com BS, BC, BS + BC e não inoculadas sob déficit hídrico (controle DH) e plantas não inoculadas sob irrigação (controle IRR), os quais foram avaliados em condição de recuperação hídrica após zero, sete e 14 dias de retomada da irrigação. Aos sete dias de reidratação, comparadas ao controle DH, todas as plantas bioestimuladas tiveram maiores médias de  $A$  e  $A/C_i$ . Plantas com BC aumentaram 101%  $A$  e 100%  $A/C_i$ . Quando comparados ao controle IRR, todos os tratamentos apresentaram menores médias de  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $A/C_i$ . Aos 14 dias de reidratação, plantas inoculadas com BC e BS+BC apresentaram, respectivamente, 20,2% e 25,3% maior  $A$ ; 29,4% e 35,3% maior  $A/C_i$ , em relação ao controle DH. Em comparação ao controle IRR, plantas bioestimuladas apresentaram a mesma média de  $A$  e  $A/C_i$ . O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) aos zero dias de irrigação foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, respectivamente, em relação ao tratamento controle DH. Aos 14 dias de reidratação, todas as plantas bioestimuladas apresentaram  $\Psi_w$  maior do que as plantas controle DH, com destaque aos tratamentos BC e BS+ BC com potencial hídrico 30,8% e 26,2% maior do que as das plantas controle DH e com médias não diferentes às das plantas controle IRR. O Conteúdo relativo de água (CRA), aos zero dias de reidratação, não diferiu entre os tratamentos submetidos anteriormente a 14 dias de déficit hídrico. Quando comparados ao controle IRR, as médias dos tratamentos BC e BS+ BC foram iguais estatisticamente. Aos 14 dias de recuperação hídrica, semelhante aos resultados de  $\Psi_w$ , as médias do CRA de BC e BS+ BC também foram maiores em relação ao controle DH, em 30,6% e 19,2%, respectivamente. Mudas de açaizeiro bioestimuladas com BS, BC e BS+BC acumularam mais prolina do que plantas controle DH e IRR, aos zero e 14 dias de reidratação. Aos 14 dias de déficit hídrico, os teores de MDA nas plantas controle aumentaram 20,3% em relação às plantas com BC. O tratamento BS+BC apresentou maior atividade para as enzimas SOD, CAT e APX em 49,6%, 160% e 75,5% superior ao controle DH, respectivamente, após 14 dias de reidratação. Os resultados evidenciam que mudas de açaizeiro bioestimuladas conseguem recuperar seu status hídrico e manter o maior vigor, mesmo após duas semanas de déficit hídrico.

**Palavras-chaves:** *Euterpe oleracea* Mart. Bioestimulantes. Trocas gasosas. Recuperação hídrica.

## ***Bacillus subtilis* AND FERTIACTYL GZ<sup>®</sup> CONTRIBUTE TO AÇAÍ PALM SEEDLINGS REWETTING**

### **ABSTRACT**

The açai palm has its center of origin in the Eastern Amazon. It is characterized by being a perennial plant and suitable for cultivation in tropical regions with high rainfall and high temperatures. The growing national and international demand for the consumption of the fruit and its derivatives, gave rise to the need to increase production areas, expanding the planting of açai palms on dry land. Despite being adapted to floodplain conditions, the crop is highly sensitive to water deficit conditions. Information on the rehydration of açai seedlings after periods of water deficit are scarce, mainly in the Amazon region. Thus, the objective of this work was to evaluate the water recovery capacity of biostimulated açai seedlings, through photosynthetic, physiological and biochemical performance. The experiment took place in the greenhouse at the Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará and consisted of five treatments and six replications. The treatments were plants inoculated with BS, BC, BS+BC and non-inoculated under water deficit (WD control) and non-inoculated plants under irrigation (IRR control), which were evaluated under water recovery condition after zero, seven and 14 days resumption of irrigation. At seven days of rehydration, compared to the WD control, all biostimulated plants had higher means of  $A$  and  $A/C_i$ . Plants with BC increased 101%  $A$  and 100%  $A/C_i$ . When compared to the IRR control, all treatments showed lower means of  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  and  $A/C_i$ . At 14 days of rehydration, plants inoculated with BC and BS+BC presented, respectively, 20.2% and 25.3% higher  $A$ ; 29.4% and 35.3% higher  $A/C_i$  compared to the WD control. Compared to the IRR control, biostimulated plants showed the same average of  $A$  and  $A/C_i$ . Leaf water potential ( $\Psi_w$ ) at zero days of irrigation was 24% and 35% higher in seedlings biostimulated with BS and BC, respectively, in relation to the control treatment WD. At 14 days of rehydration, all biostimulated plants showed  $\Psi_w$  greater than the WD control plants, with emphasis on the BC and BS+BC treatments with water potential 30.8% and 26.2% greater than those of the DH control plants and with averages not different from those of the IRR control plants. The relative water content (WRC), at zero days of rehydration, did not differ between treatments previously submitted to 14 days of water deficit. When compared to the IRR control, the means of BC and BS+BC treatments were statistically equal. At 14 days of water recovery, similar to the results of  $\Psi_w$ , the means of the CRA of BC and BS+BC were also higher in relation to the WD control, in 30.6% and 19.2%, respectively. Açai seedlings biostimulated with BS, BC and BS+BC accumulated more proline than control plants WD and IRR, at zero and 14 days of rehydration. At 14 days of water deficit, the levels of MDA in the control plants increased by 20.3% in relation to the plants with BC. The BS+BC treatment showed higher activity for SOD, CAT and APX enzymes by 49.6%, 160% and 75.5% higher than the WD control, respectively, after 14 days of rehydration. The results show that biostimulated açai seedlings manage to recover their water status and maintain greater vigor, even after two weeks of water deficit.

**Key words:** *Euterpe oleracea* Mart. Biostimulants. Gas exchange. Water recovery.



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 01.** Teste de compatibilidade através da avaliação do crescimento de *Bacillus subtilis* (BS) na presença e ausência do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 01.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo onde foi conduzido o experimento de mudas de açaizeiro, em Belém, Pará.

**Tabela 02.** Código de identificação, origem, cor, características bioquímicas e classificação taxonômica da rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) utilizadas no tratamento das mudas de açaizeiro.

**Tabela 03.** Componentes presentes no bioestimulantes comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup>.

**Tabela 04.** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ), transpiração ( $E$ ), eficiência do uso da água ( $A/E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas à recuperação hídrica (RH) após 14 dias de déficit hídrico.

**Tabela 05.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), Conteúdo relativo de água (CRA) e prolina, em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero, sete e 14 dias reidratação (RH).

**Tabela 06.** Conteúdo de aldeído malônico (MDA) e atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de reidratação (RH).

### 3.1. INTRODUÇÃO

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) tem seu centro de origem na Amazônia Oriental. A ocorrência da espécie ocorre em maior frequência em solos de várzea, com pH entre 4,5 e 6,5 (SHANLEY., 2005; NASCIMENTO., 2007; SANTOS., 2013).

Caracteriza-se por ser uma planta perene e indicada para cultivo em regiões tropicais com alto índice de pluviosidade e elevadas temperaturas (SANTOS., 2013).

No estado do Pará, o açaizeiro possui uma demasiada importância econômica, pois é a principal fonte de renda da população ribeirinha. A crescente demanda nacional e internacional pelo consumo *in natura* do fruto e dos seus derivados, deu origem à necessidade do aumento das áreas de produção, surgindo e ampliando os plantios de açaiçais em terra firme (RIBEIRO., 2011). Em 2021, a produção de açaí no estado do Pará foi de 1.485.113 t, com destaque ao município de Igarapé-Miri, no Baixo Tocantins, com 426 mil toneladas do fruto produzidas (IBGE, 2022).

O crescente e contínuo mercado, associado ao aumento das áreas plantadas, demanda uma melhor qualidade de mudas de açaizeiro. Apesar de adaptada às condições de várzea, a cultura apresenta alta sensibilidade às condições de déficit hídrico do solo (SILVESTRE et al., 2017). No primeiro ano de estabelecimento das mudas em campo, há uma maior sensibilidade, principalmente para mudas com sistema radicular pouco desenvolvido, o qual compromete a adaptação das mesmas em terra firme. Desta forma, a seca bem definida, durante longos períodos, representa um entrave para o crescimento do açaizeiro (SILVA et al., 2019).

Em condições naturais, o açaizeiro, de habitat úmido, pode ser submetido a déficit hídrico em anos mais secos. Da mesma forma, em plantios de terra firme, a ausência de sistemas de irrigação, por exemplo, em regiões que apresentam clima com período de estiagem definido, pode comprometer o pleno desenvolvimento de mudas. O potencial de água na qual a fotossíntese torna-se nula depende das características adaptativas da espécie, tempo de exposição, severidade do déficit de água, idade, estágio de desenvolvimento da planta e possibilidade de aclimatação ao estresse. O decréscimo no potencial osmótico de plantas jovens de açaizeiro, após déficit hídrico, indica que essa cultura tem mecanismos para tolerar um estresse moderado de falta hídrica, típico de espécies mesófitas (CALBO; MORAES., 2000).

Rodrigues et al. (2021), estudando a reidratação hídrica de plantas jovens de palma de óleo concluíram que a recuperação fisiológica e a retomada do crescimento são mais rápidas em plantas de palma de óleo submetidas a dois e três eventos prévios de déficit

hídrico, do que em aquelas que experimentam o estresse pela primeira vez. Albuquerque et al., 2013, estudando plantas jovens de mogno-africano, encontraram uma alta predisposição destas à deficiência hídrica, e que após a reidratação, o status hídrico das plantas e as trocas gasosas são plenamente recuperados após a reidratação das plantas.

Bioestimulantes induzem alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas que permitem maior tolerância à condição de déficit hídrico. Essas vantagens também podem possibilitar uma melhor recuperação após retomada das condições normais de água disponível no solo. Como exemplo, o maior sistema radicular induzido pelos bioestimulantes, o qual melhora a absorção de água e nutrientes, pode permitir uma retomada mais rápida dos processos fisiológicos e bioquímicos que estão envolvidos na recuperação do vigor e na menor mortalidade de mudas em viveiros.

Informações sobre a reidratação de mudas de açazeiro com bioestimulantes, após longos períodos de seca são escassas, principalmente na região amazônica. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de recuperação hídrica de mudas de açazeiro, através do desempenho fisiológico e bioquímico.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1. Crescimento de plantas**

O semeio das sementes da cultivar BRS Pará (*Euterpe oleracea* Mart.) e a condução do experimento ocorreram em casa de vegetação no setor de solos da Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA, em Belém, Pará (01°27'29"S, 48°26'06"W), com área de aproximadamente 70m<sup>2</sup>, composto por porta e paredes com estrutura em madeira e telas de aço, piso em cimento grosso, pé-direito de 3,40m, ventilação e iluminação natural. A casa de vegetação foi coberta com filme de polietileno de 100 µm aditivado contra radiação UV. O clima local é classificado como tipo Af<sub>i</sub> de acordo com a classificação de Koppen-Geiger, 1936.

As sementes pré-germinadas foram adquiridas na empresa Amazonflora. A semeadura ocorreu em duas bandejas de polietileno com dimensões de 53 cm de comprimento, 27 cm de largura e 4,2 cm de altura. As bandejas foram preenchidas com 2,5 L de substrato composto de fibra de coco triturada, Golden Mix 87, um substrato de textura intermediária, elaborado a partir do mesocarpo do coco, com pH 6,0 (SOCOCO Agroindústria da Amazônia, Ananindeua, Brasil).

Aos 30 dias após a semeadura, as plântulas que apresentaram altura próxima de 07 cm, foram transplantadas para sacos preto de polietileno (15 x 25 cm, comprimento x

altura) contendo substrato composto de 60% de Latossolo Amarelo e 40% de cama de aviário curtida, cuja composição físico-química está apresentada na Tabela 01. O pH do substrato e os teores de macro e micronutrientes foram ajustadas conforme recomendação de adubação para açaizeiros (CRAVO et al., 2007). Antes do transplântio, foi realizada a secção radicular das plântulas, para melhor uniformidade.

Durante o período experimental as condições ambientais foram de  $32 \pm 2$  °C de temperatura do ar,  $75 \pm 5\%$  de umidade relativa,  $2 \pm 0,2$  kPa de DPV do ar e  $800 \pm 100$   $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação incidente. A irrigação das plantas foi realizada diariamente, com uma aplicação de 50 mL de água por planta, manualmente, para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do solo próximo da capacidade de campo (Klar et al. 1966).

**Tabela 01.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Amarelo onde foi conduzido o experimento de mudas de açaizeiro, em Belém, Pará.

<sup>1</sup> Prof cm	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Macronutrientes								Micronutrientes				
		C	MO	P (Mehlich)	K	Ca	Mg	Al	V%	H+Al %	Cu	Fe	Mn	Zn
		g dm <sup>-3</sup>		mg dm <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>						mg dm <sup>-3</sup>			
0-20	5,1	28	49	51,9	0,59	3,7	2,6	0	73	0	0,5	73,0	37,5	3,7
<sup>1</sup> Prof. (cm)	Areia Total				Silte				Argila					
0 - 20	753				40				207					

Fonte: IBRA: Instituto Brasileiro de Análises. <sup>1</sup>profundidade.

### 3.2.2. Desenho experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e 6 repetições. Os tratamentos foram compostos por plantas inoculadas com BS, BC, combinação de BS + BC e não inoculada (controle DH) sob déficit hídrico e plantas não inoculadas sob irrigação (controle IRR), os quais foram avaliados em condição de recuperação hídrica após 0, 7 e 14 dias de reidratação. Os dados fisiológicos e bioquímicos foram submetidos às análises de normalidade, homoscedasticidade, Teste F e quando significativos as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de

Duncan ( $P < 0,05$ ), quando comparadas ao controle em déficit hídrico (DH), e pelo teste de Dunnett ( $P < 0,05$ ), quando comparadas ao controle irrigado (IRR).

### 3.2.3. Caracterização da rizobactéria e do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ®

A característica da rizobactéria *Bacillus subtilis* (BS), proveniente de região de plantio de açaizeiro no Amazonas, está descrita na Tabela 02. A rizobactéria BS está armazenada e preservada na coleção de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), em Belém, PA, Brasil.

O bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® (BC) pertencente à empresa TIMAC Agro Ltda, é composto por 13,0% de N, 5,0% de K<sub>2</sub>O, 6,5% de carbono orgânico, além de fontes naturais de aminoácidos, ácidos húmicos e fúlvicos. É recomendado para aplicação no solo ou foliar em mudas e/ou plantas jovens com o objetivo de aumentar a resistência ao estresse e aumentar o crescimento radicular (Tabela 03).

**Tabela 02.** Código de identificação, origem, cor, características bioquímicas e classificação taxonômica da rizobactéria R92 (*Bacillus subtilis*) utilizadas no tratamento das mudas de açaizeiro.

Código <sup>a</sup>	Origem <sup>b</sup>	Cor <sup>c</sup>	Bioquímica					Taxonomia <sup>c</sup>
			AIA <sup>d</sup>	Celu. <sup>e</sup>	Fosf. <sup>f</sup>	Sider. <sup>g</sup>	Fix.N <sup>h</sup>	
R-92	AM/Brasil	Amarelo	-	-	-	-	-	<i>Bacillus subtilis</i>

<sup>a</sup>Código de identificação das rizobactérias na coleção de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia. <sup>b</sup>Origem geográfica de cada rizobactéria. <sup>c</sup>Cor da colônia (Malke 1991). <sup>c</sup>Classificação taxonômica (\*Nascente et al. 2016). <sup>d</sup>Produção de ácido indol acético (Cattelan 1999). <sup>e</sup>Produção de celulase (Teather and Wood 1982). <sup>f</sup>Solubilização de fosfato (Sylvester-Bradley et al. 1982). <sup>g</sup>Produção de sideróforos e <sup>h</sup>Fixação de nitrogênio (Döbereiner and Day 1976).

**Tabela 03.** Componentes presentes no bioestimulantes comercial Fertiactyl GZ®.

Nome	Componentes	Garantias	Densidade	Registro no MAPA	Origem
Fertiactyl GZ®	Água	13% de Nitrogênio (N solúvel em água- 156 g/L)	1,2 g/mL	RS 000155-0.000160	Rio Grande-RS
	Cloreto de Potássio	5% de Óxido de Potássio (K <sub>2</sub> O solúvel em água- 60 g/L)			
	Hidróxido de Potássio	6,5 % de Carbono Orgânico Total (78 g/L)			
	Ureia				
	10,7% de estabilizantes 0,5% de tensoativo				

Fonte: TIMAC Agro Indústria e Comércio de Fertilizantes LTDA.

### 3.2.4. Inoculação dos bioestimulantes

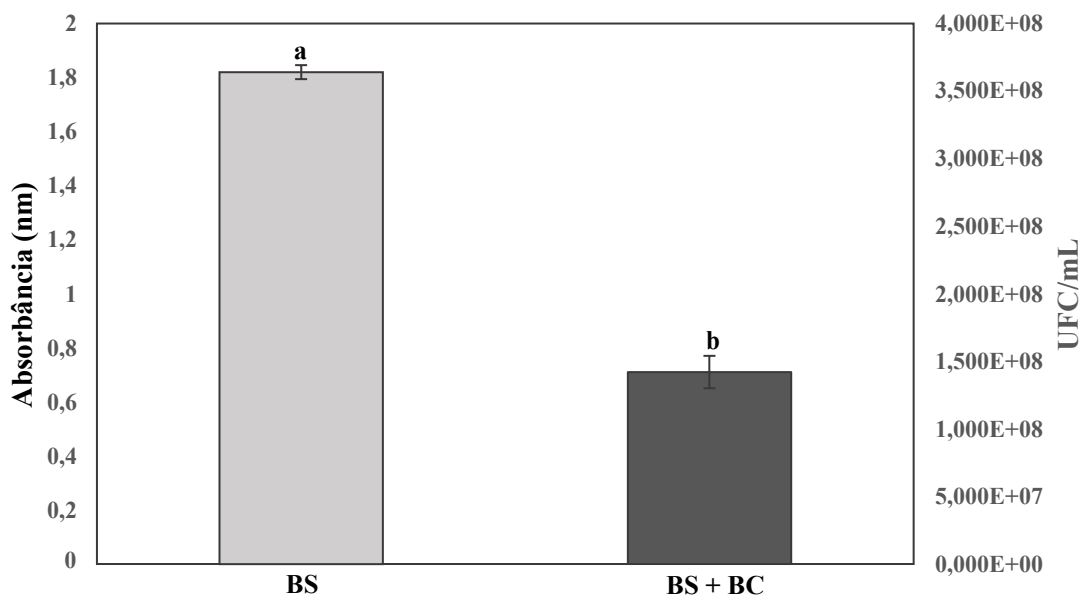
As rizobactérias foram cultivadas em meio sólido 523 (KADO; HESKETT.,1970) durante 48 h a 28 °C. A suspensão bacteriana foi preparada com água destilada e esterilizada, e a concentração foi ajustada em espectrofotômetro para A540 = 0,5 (10<sup>8</sup> UFC). O bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® (BC) foi adquirido da empresa TIMAC Agro Ltda e foi preparado na concentração de 0,75% (dose comercial).

Foram realizadas quatro inoculações para cada tratamento, com 50 mL/muda, semanalmente, com as mudas aos sete meses de idade. Após 14 dias de déficit hídrico e consequentemente início da reidratação, foi realizada a quinta inoculação com BC, BS e BS+BC.

Na aplicação, 50% do volume foi aplicado na raiz e 50% via foliar com o auxílio de pulverizador manual. Para as plantas controle IRR, a solução foi composta com água destilada e esterilizada. Plantas controle DH permaneceram em déficit hídrico até o final do experimento de reidratação das mudas. Na associação, a inoculação foi realizada de forma escalonada, na primeira semana foi aplicada a solução de *Bacillus subtilis* (BS), na segunda semana a solução do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® (BC) e assim sucessivamente até a quarta inoculação. A aplicação separada dos bioestimulantes (BS +

BC) foi definida após teste de compatibilidade realizado em laboratório, onde a presença do BC reduziu o crescimento da BS em 60,99%, conforme observado na Figura 01.

**Figura 01.** Teste de compatibilidade através da avaliação do crescimento de *Bacillus subtilis* (BS) na presença e ausência do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ® (BC).



Obs<sup>1</sup>: As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de quatro repetições. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Student não pareado ( $P < 0,05$ ).

### 3.2.5. Reidratação das mudas de açaizeiro

A reidratação das mudas de açaizeiro foi realizada após os 14 dias de suspensão completa da irrigação (déficit hídrico). As plantas foram irrigadas diariamente para manter o solo próximo de 100% da capacidade de campo (CC), o qual foi obtida através da pesagem dos sacos+ solo+muda, conforme descrito por Klar et al. (1966), com 50 mL de água por muda. Plantas do tratamento controle DH permaneceram em déficit hídrico durante todo o experimento de reidratação. As plantas foram avaliadas aos 0, 7 e 14 dias de reidratação.

As condições ambientais do viveiro foram de  $32 \pm 1$  °C de temperatura do ar,  $72 \pm 5\%$  de umidade relativa do ar,  $463 \pm 132 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação incidente e déficit de pressão de vapor de ar de  $2,6 \pm 0,6$  kpa.

### 3.2.6. Trocas Gasosas

Para as trocas gasosas, os parâmetros foram determinados através da segunda ou terceira folha fisiologicamente madura e completamente expandida, do ápice para a base,



a partir do primeiro dia de reidratação, mesmo dia em que ocorreu a quinta inoculação. Ao total foram realizadas três medições, sendo aos zero, sete e 14 dias após reidratação das mudas.

A taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), eficiência instantânea do uso da água ( $A/E$ ) e eficiência de carboxilação ( $A/C_i$ ) foram estimadas entre 10:00 e 12:00 horas utilizando um sistema portátil de fluxo aberto de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob uma concentração externa de CO<sub>2</sub> de 400  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de ar e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 1000  $\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Esse intervalo de medição foi ajustado de acordo com a curva diurna de trocas gasosas obtida previamente para a cultura do açaizeiro (CASTRO et al., 2019). A quantidade de luz azul foi ajustada para 10% da radiação fotossinteticamente ativa para otimizar a abertura estomática.

### **3.2.7. Conteúdo Relativo de Água (CRA)**

Para a mensuração do conteúdo relativo de água (CRA), conforme SLAVICK, B. (1979), foram coletados dez discos foliares (6 mm de diâmetro) de uma folha por muda de açaizeiro. Após retirada, foi determinada a massa fresca (MF<sub>1</sub>) dos mesmos em balança analítica de precisão. Após a pesagem inicial, os discos foram transferidos para microtubos tipo Falcon, contendo 50 mL de água destilada, em temperatura ambiente de 25 °C, por um período de seis horas.

Após retirada, os discos foram colocados em papel filtro para retirar o excesso de água, por um período de um minuto, e em seguida foram pesados para a determinação da massa túrgida (MF<sub>2</sub>). Após a determinação da MF<sub>2</sub>, os discos foram colocados em sacos de papel e levados à estufa (75 °C), por 48 horas e posteriormente foi determinado a massa seca dos discos (MS).

O conteúdo relativo de água (CRA) foi determinado através da mensuração dos pesos fresco (MF<sub>1</sub>), túrgido (MF<sub>2</sub>) e seco (MS) das amostras pela fórmula  $CRA = [(MF_1 - MS) / (MF_2 - MS)] \times 100$ . Os resultados foram expressos em porcentagem. O CRA foi mensurado com os tratamentos na condição de 14 dia de reidratados.

### **3.2.8. Potencial hídrico**

As avaliações do potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foram realizadas às seis horas da manhã com as folhas coletada na porção basal das plantas. A mensuração foi realizada

com uma bomba de pressão do tipo Scholander (m 670, Pms Instrument Co., Albany, EUA), conforme descrito por Pinheiro et al. (2008).

### **3.2.9. Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi mensurada pelos teores de aldeído malônico (MDA), extraídos conforme descrito por Cakmak & Horst (1991). Amostras do tecido vegetal congeladas (20 mg) foram trituradas e homogeneizadas na presença de 250 µL de ácido tricloroacético 0,1% (p/v) e o homogenato centrifugado a 15.000 x g, por 15 min, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e uma alíquota de 50 µL deste foi adicionado em 150 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (preparado em ácido tricloroacético 20%). Os tubos foram agitados em vórtex e incubados a 90°C, por 20 min. Após esta etapa, a reação foi paralisada por imersão dos tubos em banho de gelo e a mistura clarificada por centrifugação a 13.000 x g, por 4 min, a 4°C.

A absorvância (ABS) das amostras foi determinada em espectrofotômetro (Multiskan GO 3.2) a 532 e a 600 nm, em que 532 nm representaram a máxima absorção do complexo MDA-TBA e a ABS inespecífica (600 nm) descontada. O coeficiente de extinção molar do MDA ( $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi utilizado para os cálculos e os resultados foram expressos em nmol MDA g<sup>-1</sup> de matéria fresca (MF).

### **3.2.10. Enzimas antioxidantes**

A extração da dismutase do superóxido (SOD, E.C. 1.15.1.1) foi realizada a partir de 20 mg de massa fresca homogeneizados em 200 µL do meio de extração, contendo 100 mM de tampão fosfato de potássio (TFK; pH 7,8); 0,1 mM de EDTA; 0,1% (v/v) de 2-Mercaptoetanol; 0,001% (v/v) de Triton X-100; 0,001 mg de Polivinilpirrolidona (PVP) e 20 mM de ascorbato. Após centrifugação a 15.000 g/15 min/4°C, o sobrenadante foi coletado para as análises posteriores.

A atividade da SOD foi determinada segundo Giannopolitis & Ries (1977) com algumas adaptações: o meio de reação foi constituído de: 52,5 mM de TFK (pH 7,8); 0,1 µM de EDTA; 13 mM de metionina (pH 7,8); 2 µM de riboflavina; 0,075 mM de azul de nitrotetrazólio (NBT) e uma alíquota de 5 µL do extrato enzimático. A produção de formazana azul proveniente da redução do NBT em presença de luz foi máxima na ausência da enzima e a leitura das absorvâncias (ABS) das amostras feita a 560 nm. A atividade da SOD foi relacionada à capacidade da enzima presente no extrato em inibir a produção de formazana azul. Os resultados foram expressos em unidades de SOD mg<sup>-1</sup>

MF, considerando-se que 1 unidade de SOD é a quantidade de enzima requerida capaz de reduzir em 50% a produção de formazana azul.

A peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) e a catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foram extraídas a partir de 20 mg de massa fresca trituradas em, 200  $\mu$ L do meio de extração contendo 50 mM de TFK (pH 7,0); 2 mM de EDTA; 0,001% (v/v) de Triton X-100; 14 mM de 2-Mercaptoetanol; 20 mM de ascorbato e 0,001 g de PVP. Após centrifugação a 15.000 rpm, por 15 min. a 4°C, o sobrenadante foi coletado para as análises enzimáticas. A atividade da APX foi acompanhada pelo decréscimo da ABS a 290 nm em um meio de reação constituído de TFK 50 mM (pH 7,0); 0,1 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 0,5 mM de ascorbato e 3  $\mu$ L do extrato enzimático (NAKANO; ASADA, 1981). Para os cálculos, 1 unidade (U) de APX é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1  $\mu$ mol de ascorbato min<sup>-1</sup>. O meio de reação da CAT foi constituído de 50 mM de TFK (pH 7,0) e 12,5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; e a reação iniciou pela adição de 3  $\mu$ L de extrato.

A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento do decréscimo da ABS a 240 nm (HAVIR;MCHALE., 1987) e para os cálculos foi considerado que 1 U de CAT é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1  $\mu$ mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>. As dosagens de MF para os cálculos das atividades enzimáticas da SOD, APX e CAT foram realizadas segundo Bradford. (1976).

### **3.2.11. Prolina**

Os teores de prolina livre foram determinados de acordo com BATES et al. (1973). Amostras de 0,5 g tecido foliar seco triturado foram homogeneizadas em 5 mL de água deionizada e incubadas em banho-maria a 100 °C por 30 min, seguido de centrifugação a 10000 x g por 10 min. À concentração de 1mL do sobrenadante foi adicionado 1 mL de ácido acético glacial e 1 mL de ninhidrina ácida. Após aquecimento em banho-maria a 100 °C por 1 h, a reação foi interrompida em banho de gelo. O cromóforo formado foi extraído com 3 mL de tolueno e os tubos de ensaio contendo o cromóforo e tolueno foram mantidos no escuro, com o auxílio de papel alumínio. Em seguida, a absorbância da camada orgânica superior foi extraída e lida em espectrofotômetro a 520 nm. A concentração de prolina foi estimada tomando como referência uma curva-padrão de L-prolina e expressa  $\mu$ mol prolina g<sup>-1</sup> MS.

### 3.3. RESULTADOS

#### 3.3.1. Trocas gasosas

Na condição de 14 dias de déficit hídrico, os tratamentos apresentaram diminuições drásticas nos indicadores de trocas gasosas, todavia, as plantas com BC e com a combinação BS+BC conseguiram manter as maiores médias de  $A$ ,  $g_s$  e  $A/C_i$  em relação ao controle. Para BC os aumentos foram de 71% em  $A$ , 100% em  $g_s$ , 64% em  $E$  e 75% em  $A/C_i$ . A bioestimulação combinada BS+BC aumentou em 35%  $A$ , em 63%  $g_s$  e em 25%  $A/C_i$ , em relação ao controle. Para  $A/E$  não houve alterações significativas em função da aplicação dos bioestimulantes (Tabela 04).

Em condição de sete dias de reidratação, quando comparadas ao controle em DH, todas as plantas bioestimuladas tiveram maior  $A$  e  $A/C_i$ , destacando-se as plantas de açazeiro com BC, com maior  $A$ , de 101% e  $A/C_i$ , de 100%. As plantas com BC aumentaram em 80% a  $g_s$  e 53,3% a  $E$  e com BS+BC aumentaram 59,4% a  $A/E$ . Quando comparados ao controle IRR, todos os tratamentos apresentaram menor  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $A/C_i$ , com exceção da média da eficiência do uso da água ( $A/E$ ), de 7,18 mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, do tratamento BS+BC que foi maior estatisticamente à média das plantas controle irrigadas, de 4,56 mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

A recuperação das trocas gasosas iniciou a partir dos 14 dias de reidratação, quando as plantas inoculadas com BC e BS+BC apresentaram, respectivamente, 20,2% e 25,3% maior  $A$ ; 8% e 7,3% menor  $C_i$ ; 29,4% e 35,3% maior  $A/C_i$ , em relação ao controle em DH. As plantas com BC tiveram 31,7% e 41,1% maior  $g_s$  e  $E$ , respectivamente, em relação ao controle DH.

Em comparação ao controle IRR, aos 14 dias, plantas bioestimuladas apresentaram médias semelhantes de  $A$  e  $A/C_i$ . Para  $C_i$ , não houve diferença tanto para plantas bioestimuladas, quanto para o controle DH. Plantas com BC, apresentaram as mesmas médias de  $g_s$ ,  $E$  e  $A/E$ , em relação às plantas controle 100% irrigadas.

#### 3.3.2. Status hídrico e osmorreguladores

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) aos zero dias de irrigação foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, respectivamente, em relação ao tratamento controle DH. As médias de  $\Psi_w$  de todos os tratamentos em déficit hídrico foram inferiores ao do controle irrigado (Tabela 05).

Aos 14 dias de reidratação, todas as plantas bioestimuladas apresentaram  $\Psi_w$  maior do que as plantas controle DH, com destaque aos tratamentos BC e BS+ BC com potencial

hídrico 30,8% e 26,2% maior do que as das plantas controle DH e com médias não diferentes às das plantas controle IRR.

O Conteúdo relativo de água (CRA), aos zero dias de reidratação, não diferiu entre os tratamentos submetidos anteriormente a 14 dias de déficit hídrico. Quando comparados ao controle IRR, novamente as médias dos tratamentos BC e BS+ BC foram iguais estatisticamente. Aos 14 dias de recuperação hídrica, semelhante aos resultados de  $\Psi_w$ , as médias do CRA de BC e BS+ BC também foram maiores em relação ao controle DH, em 30,6% e 19,2%, respectivamente (Tabela 05).

Com relação aos valores de prolina, aos zero dias de reidratadas, plantas com BS apresentaram média 75,5% superior ao tratamento controle DH, seguido das médias de BC com 42% e BS+BC com 26%. Os resultados indicaram que mudas de açazeiro bioestimuladas com BS, BC e BS+BC também acumularam mais prolina do que as plantas controle IRR. Com 14 dias de reidratação das plantas, as médias dos tratamentos com os bioestimulantes BS, BC e BS+BC também foram superiores aos dos dois tratamentos controle, 46,4%, 43,3% e 35,8% maiores em relação ao controle DH, respectivamente, e, 37%, 34% e 27% superiores que ao do controle IRR (Tabela 05).

### **3.3.3. Peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes**

Aos zero dias de reidratação, os teores de MDA em plantas controle aumentaram 20,3% e 14,6%, respectivamente, em relação a mudas bioestimuladas com BC e BS+BC. Em 14 dias de reidratação, todas as plantas bioestimuladas apresentaram menor concentração de aldeído malônico, com destaque para as bioestimuladas com BS, onde a concentração foi 27,8% menor que as plantas controle (Tabela 06).

Quando comparados ao controle IRR, aos zero dias, todos os tratamentos apresentaram maiores teores de MDA. Aos 14 dias de irrigação, somente o tratamento controle DH apresentou maior média de concentração de MDA, sendo que as plantas com bioestimulantes não tiveram médias diferindo estatisticamente com as das plantas controle IRR.

Na atividade das enzimas SOD e CAT, aos zero dias, houve destaque para as mudas com os bioestimulantes BS+BC e BC. Plantas com BC apresentaram 45,4% e 71,2% maior atividade das enzimas SOD e CAT, respectivamente, comparadas às plantas controle DH. As plantas bioestimuladas com BS+BC apresentaram 71,2% e 73%, respectivamente, maiores atividades enzimáticas de SOD e CAT. Além disso, também

apresentaram maior atividade da enzima APX, 76,5% maior que o controle DH. Todas as plantas com bioestimulantes apresentaram maiores teores de SOD, CAT e APX, comparadas às controle IRR (Tabela 06).

Aos 14 dias de reidratadas, as plantas controle DH mantiveram o maior teor de MDA, quando comparadas às plantas com bioestimulantes e também ao controle IRR. Quando comparados ao controle DH, no período de 14 dias de reidratação, o tratamento BS+BC apresentou maior atividade para as enzimas SOD e CAT, com 49,6% e 160%, respectivamente. Para a enzima APX, a maior média foi do tratamento BS, 58,7% superior ao controle DH. Para a enzima SOD, as médias das plantas bioestimuladas foram maiores estatisticamente que às das plantas controle IRR. Todos os tratamentos, incluindo o controle DH, obtiveram maiores médias de atividade enzimática de CAT e APX em relação ao controle IRR.

**Tabela 04.** Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*), transpiração (*E*), eficiência do uso da água (*A/E*) e eficiência de carboxilação (*A/C<sub>i</sub>*) em mudas de açazeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas à recuperação hídrica (RH), após 14 dias de déficit hídrico.

<sup>a</sup> RH (dias)	<sup>b</sup> Bioestimulantes	Variáveis					
		<i>A</i> ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>g<sub>s</sub></i> ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>C<sub>i</sub></i> ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ )	<i>E</i> ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	<i>A/E</i>	<i>A/C<sub>i</sub></i>
0	Controle IRR	5,98	0,050	362,2	1,16	5,11	0,016
	BS	1,65 bc*	0,010 bc*	351,2 b	0,30 b*	5,58 a	0,005 bc*
	BC	2,51 a*	0,016 a*	348,9 b	0,41 a*	6,49 a	0,007 a*
	BS+BC	1,99 b*	0,013 b*	378,9 a*	0,28 b*	7,18 a*	0,005 b*
	Controle DH	1,47 c*	0,008 c*	375,1 a	0,25 b*	5,57 a	0,004 c*
<sup>c</sup> CV(%)		17,01	19,32	3,12	16,38	20,38	17,68
7	Controle IRR	5,72	0,053	370,8	1,25	4,56	0,015
	BS	2,12 a*	0,013 b*	356,6 ab	0,36 b*	5,98 ab	0,006 a*
	BC	2,64 a*	0,018 a*	346,3 b*	0,46 a*	5,76 ab	0,008 a*
	BS+BC	2,22 a*	0,012 b*	367,0 a	0,32 b*	6,98 a*	0,006 a*
	Controle DH	1,31 b*	0,010 b*	371,1 a	0,30 b*	4,38 b	0,004 b*
<sup>c</sup> CV(%)		26,71	28,74	4,48	20,04	26,49	28,77
14	Controle IRR	7,92	0,060	356,3	1,65	4,20	0,022
	BS	7,03 bc	0,045 ab*	353,4 ab	1,23 ab*	5,84 ab*	0,020 bc
	BC	7,75 ab	0,054 a	344,8 b	1,51 a	5,23 b	0,022 ab
	BS+BC	8,08 a	0,049 ab*	347,1 b	1,25 ab*	6,78 a*	0,023 a
	Controle DH	6,45 c*	0,041 b*	372,5 a	1,07 b*	5,96 ab*	0,017 c*
<sup>c</sup> CV(%)		9,17	20,63	4,67	19,41	16,40	11,66

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ) para os tratamentos submetidos a recuperação hídrica (RH). O asterisco \* indica diferenças significativas entre o tratamento e o controle irrigado (IRR) de acordo com o teste de Dunnett ( $P < 0,05$ ).

<sup>a</sup>Recuperação hídrica (dias). <sup>b</sup>Bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e bioestimulantes comercial (BC).

<sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV).

**Tabela 05.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), Conteúdo relativo de água (CRA) e prolina, em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero, sete e 14 dias reidratação (RH).

<sup>a</sup> RH (dias)	<sup>b</sup> Tratamentos	Variáveis		
		$\Psi_w$ (Mpa)	CRA (%)	Prolina ( $\mu\text{mol/g MS}$ )
0	Controle IRR	-0,35	75,80	4,15
	BS	-1,15 a*	59,07 a*	7,72 a*
	BC	-0,98 a*	70,72 a	6,25 b*
	BS+BC	-1,43 b*	65,04 a	5,54 b*
	Controle DH	-1,51 b*	56,48 a*	4,40 c
	<sup>c</sup> CV(%)	11,20	18,09	13,62
14	Controle IRR	-0,43	78,46	3,85
	BS	-0,53 b*	60,52 b*	5,27 a*
	BC	-0,45 a	75,50 a	5,16 a*
	BS+BC	-0,48 ab	68,94 a	4,89 a*
	Controle DH	-0,65 c*	57,85 b*	3,60 b
	CV(%)	8,40	10,22	11,92

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ) para os tratamentos submetidos a recuperação hídrica (RH). O asterisco \* indica diferenças significativas entre o tratamento e o controle irrigado (IRR) de acordo com o teste de Dunnett ( $P < 0,05$ ).  
<sup>a</sup>Recuperação hídrica (dias). <sup>b</sup>Bioestimulantes *Bacillus subtilis* (BS) e bioestimulantes comercial (BC).  
<sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV).

**Tabela 06.** Conteúdo de aldeído malônico (MDA) e atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em mudas de açaizeiro (oito meses de idade) tratadas com bioestimulantes e submetidas a zero e 14 dias de reidratação (RH).

<sup>a</sup> RH (dias)	<sup>b</sup> Tratamentos	Variáveis			
		MDA ( $\mu\text{mol/g MF}$ )	SOD ( $\text{U mg}^{-1} \text{MF}$ )	CAT ( $\text{U mg}^{-1} \text{MF}$ )	APX ( $\text{U mg}^{-1} \text{MF}$ )
0	Controle IRR	42,32	170,48	0,45	6,61
	BS	65,31 ab*	294,75 ab*	1,35 b*	14,54 b*
	BC	56,49 b*	330,96 a*	1,78 a*	11,58 c*
	BS+BC	60,56 b*	313,69 a*	1,80 a*	15,57 a*
	Controle	70,91 a*	227,61 b	1,04 b*	8,82 d*
	<sup>c</sup> CV(%)	12,00	22,72	19,53	6,28
14	Controle IRR	41,09	187,76	0,48	5,72
	BS	41,48 c	240,65 c*	1,67 c*	13,55 a*
	BC	45,44 bc	276,34 b*	2,18 b*	11,11 b*
	BS+BC	47,53 b	328,63 a*	3,14 a*	10,51 b*
	Controle	53,02 a*	219,68 c	1,21 c*	8,54 c*
	CV(%)	9,63	8,66	18,76	6,87

\*Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ) em cada dia de reidratação (RH). O asterisco \* indica diferenças significativas entre o tratamento e o controle irrigado (IRR) de acordo com o teste de Dunnett ( $P < 0,05$ ). <sup>a</sup>Recuperação hídrica (dias); <sup>b</sup>Bioestimulante *Bacillus subtilis* (BS) e bioestimulante comercial (BC); <sup>c</sup>Coefficiente de variação (CV%).

### 3.4. DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro relato sobre a capacidade de recuperação hídrica induzida por diferentes bioestimulantes associados em mudas de açaizeiro. As plantas bioestimuladas com BS, BC e BS+BC conseguiram restabelecer o status hídrico e recuperar o desempenho fotossintético para níveis semelhantes às das mudas irrigadas. Os estudos com capacidade de recuperação hídrica induzida por bioestimulantes ainda são bastante escassos. Alguns poucos estudos sem a utilização de bioestimulantes relataram a recuperação dos indicadores fotossintéticos após déficit hídrico em culturas como andirobeira (GONÇALVES et al., 2009), mogno africano (ALBUQUERQUE et al., 2013) e dendezeiro (FILHO, W. et al., 2021).

As mudas inoculadas com BC apresentaram médias iguais às das plantas controle irrigadas, recuperando todas as variáveis de trocas gasosas como  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ ,  $A/E$  e  $A/C_i$ , a partir dos 14 dias de reidratação. Esses resultados são semelhantes aos de Albuquerque et al. (2013), que estudando a reidratação de plantas jovens de mogno-africano, constatou a recuperação completa em variáveis de trocas gasosas ( $A$ ,  $g_s$  e  $E$ ), 7 dias após retomada da irrigação.

Os resultados supracitados são indicativos de que o açaizeiro pode, em um curto espaço de tempo, retomar seu melhor desempenho fotossintético. Resultados semelhantes foram obtidos em plantas de *Eucalyptus* e *Acacia* spp. (WARREN et al., 2011) submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. No presente estudo, as plantas controle em DH, também recuperaram seu status hídrico, após 14 dias de seca, todavia, com médias de  $A$  inferiores aos das mudas inoculadas com os bioestimulantes BC e BS+BC.

A presença de 5,0% de óxido de potássio ( $K_2O$ ) na formulação do bioestimulante comercial Fertiactyl GZ<sup>®</sup>, pode ter influenciado na maior  $g_s$ , pois o elemento potássio é um macronutriente que contribui para a maior turgidez celular e regulação dos processos de abertura e fechamento de estômatos. De acordo com Cakmak (2005), o elemento K pode auxiliar em uma dinâmica adequada da condutância estomática às plantas e ativar a função carboxilase da Rubisco, o que contribui para uma maior atividade fotossintética (PRADO, 2008; CATUCHI, 2012).

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) aos 0 dias de irrigação foi maior em 24% e 35% nas mudas bioestimuladas com BS e BC, respectivamente, em relação ao tratamento controle DH. Aos 14 dias de reidratação, o  $\Psi_w$  de todos os tratamentos bioestimulados também foram superiores ao controle DH. Sem a ação dos bioestimulantes, nas plantas controle DH, quando o conteúdo de água no solo decresce, o potencial da água no solo e na folha



também decrescem e, como consequência, o déficit hídrico se desenvolve nas folhas e as células-guardas perdem turgor, causando menor abertura estomática. O menor potencial hídrico pode estar influenciando na menor média de  $g_s$  evidenciada pelas plantas controle em DH. Mesmo após reidratação, as plantas controle DH não conseguiram recuperar o  $\Psi_w$  em níveis semelhantes a das plantas bioestimuladas.

O potencial hídrico da folha indica a quantidade de água disponível capaz de realizar trabalho químico, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera (BERGONCI et al., 2000). O maior  $\Psi_w$  de BS e BC, aos 0 dias (início da reidratação), relacionado ao acúmulo de prolina, indica que mudas bioestimuladas de açaizeiro conseguem acumular este aminoácido osmorregulador, que com o aumento da concentração deste soluto, conseguem manter o potencial hídrico e a turgescência de suas células. No presente estudo, o menor  $\Psi_w$  nas plantas controle DH, aos 0 e 14 dias de reidratação, contribuiu para a menor  $g_s$ , e conseqüentemente pode ter aumentado a resistência de entrada do  $CO_2$  atmosférico na região do mesófilo, o qual pode ter limitado a atividade da Rubisco e a taxa de assimilação líquida de  $CO_2$  ( $A$ ).

As plantas bioestimuladas com BS, BC e BS+BC acumularam mais prolina do que as plantas controle. O acúmulo de prolina no vacúolo ou no citosol auxilia na manutenção do equilíbrio hídrico, na preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares (ASHRAF et al., 2011; MARIJUAN; BOSCH., 2013). Esses solutos também têm função osmoprotetora contra subprodutos tóxicos do metabolismo, resultantes do estresse hídrico. O aumento da concentração de solutos compatíveis não é nocivo ao metabolismo celular e, por aumentar a pressão osmótica no interior das células, mantêm a absorção de água e a pressão de turgor das células, o que concorre para a continuidade dos processos fisiológicos, ainda que em níveis menores (MARIJUAN; BOSCH., 2013). Monteiro et al. (2014), estudando duas cultivares de feijão-guandu, encontraram acúmulo de prolina na parte aérea e nas raízes, indicando que a mesma é um osmólito indicador bioquímico e fisiológico dos efeitos dos estresses hídricos e salinos em plântulas de guandu.

A redução do teor de prolina nas plantas bioestimuladas, dos 0 aos 14 dias, está diretamente relacionada ao alívio do estresse hídrico através do reestabelecimento da reidratação, todavia a maior manutenção da concentração de prolina, quando comparada às plantas controle, sugere que os bioestimulantes conseguem induzir uma provável memória bioquímica nas plantas de açaizeiro, mesmo após recuperação hídrica, tornando-as mais capazes de tolerar futuros episódios de déficit hídrico.

As mudas de açazeiro controle apresentaram maior teor de aldeído malônico (MDA), aos 0 e 14 dias, indicando que pode ter ocorrido maior estresse oxidativo, peroxidação lipídica de membranas celulares, além de danos proteicos e em ácidos nucleicos. A menor atividade das enzimas antioxidantes, como SOD, CAT e APX reforça que estas plantas tiveram menos mecanismos para contornar a deficiência hídrica do que as plantas bioestimuladas.

As mudas bioestimuladas apresentaram maior atividade das enzimas antioxidantes nos dois períodos de avaliação e embora tenham retomado, após 14 dias de reidratação, a médias semelhantes de taxa de fotossíntese líquida (*A*) do controle IRR, ainda mantiveram maior atividade enzimática antioxidante, demonstrando que as plantas podem ter criado mecanismos de memória contra os efeitos do estresse hídrico. Eventos repetitivos de déficit hídrico e reidratação em dendezeiro, conforme observado por Filho, W. et al. (2021), demonstraram que esta memória ao estresse hídrico induziu na aclimatação do maquinário fotossintético por meio de ajustes na atividade da carboxilase da Rubisco, fotorrespiração e taxas de respiração, além da atenuação dos danos oxidativos ao fotossistema II (PSII) e aos lipídios da membrana.

### **3.5. CONCLUSÃO**

Diante dos resultados encontrados, pode-se concluir que os bioestimulantes utilizados, Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) isolado e associado ao *Bacillus subtilis* foram eficientes na recuperação das variáveis fisiológicas após 14 dias de reidratação e podem contribuir para que mudas de açazeiro fiquem mais ativas para enfrentar novas situações de déficit hídrico, pelo o maior acúmulo de prolina e ativação de mecanismos antioxidantes.

## **CONCLUSÃO GERAL**

A aplicação do Fertiactyl GZ<sup>®</sup> (BC) isolado e na combinação BS+BC pode ser uma alternativa eficiente para diminuir as perdas de mudas de açaizeiro em viveiros com irrigação inadequada ou localizados em regiões com período de restrição hídrica marcante, além de contribuir para aumentar a disponibilidade de mudas para campo com maior qualidade de vigor e tolerância ao déficit hídrico.

A aplicação dos bioestimulantes associados pode formar uma tecnologia microbiana que pode ser inserida no manejo de produção de mudas de açaizeiro em viveiros, para aumentar a tolerância ao déficit hídrico e induzir uma provável memória a esse estresse, que pode ser uma vantagem adaptativa diante das crescentes ameaças de mudanças climáticas globais.

## REFERÊNCIAS

- ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. *Advances in Agronomy*, v.111, p.249-296. 2011.
- ALBUQUERQUE, M. P. F. de.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S. de.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(1), 9–16. 2013.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39, 205–207. 1973.
- BERGONCI, J. I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 35, n. 8, p. 1531-1540. 2000.
- 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*, Volume 72, Issues 1–2. Pages 248-254, ISSN 0003-2697. 1976.
- CAKMAK I.; HORST J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine Max*). *Physiology Plant*, v.83, p.463–468. 1991.
- CAKMAK, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v.168, p.521-530. 2005.
- CALBO, M. E. R., & MORAES, J. A. P. V. D. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). *Brazilian Journal of Botany*, 23(3), 225–230. 2000.
- CASTRO, G. L. S. et al. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açai palm seedlings by rhizobacteria. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 41, n. 9, p. 1-12. 2019.
- CATUCHI, T. A.; GUIDORIZZI, F. V. C.; GUIDORIZZI, K. A.; BARBOSA, A. DE M.; SOUZA, G. M. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(4), 519–527. 2012.
- CRAVO M. S.; VIÉGAS I.J.M.; BRASIL E.C. Recomendações de adubação e calagem para o Estado do Pará. EMBRAPA Amazônia Oriental, Bélem, PA (Brasil). 2007.
- FILHO, W. et al. Physiological responses of young oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plants to repetitive water deficit events. *Industrial Crops and Products*, v. 172, p. 114052, 21 set. 2021.
- GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutases I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314. 1977.

GONÇALVES, J. F. de C.; SILVA, C. E. M. de.; GUIMARÃES, D. G. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(1), 8–14. 2009.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE, 2022). Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10 de junho de 2023.

KADO, C.I; Heskett M.G. Selective Media for Isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969.1970.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. Das geographische System der Klimate. *Handbuch der Klimatologie*. – Gebrüder Bornträger, v.1, 1–44, part C. Berlin. 1936.

KLAR, A. E., VILLA NOVA, N. A., MARCOS, Z. Z., & CERVÉLLINI, A. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. *Anais Da Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz*, 23, 15–30. 1966.

MARIJUAN, M.P.; BOSCH, S.M. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. *Trends in Plant Science*, v.18, p.660-666. 2013.

NASCIMENTO, W. Consequências fisiológicas da dessecação em sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). *Revista Brasileira de Sementes*, DF, v. 29, n. 2, p. 38-43. 2007.

PINHEIRO, H. et al. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, v. 27, p. 385–392. 2008.

PRADO, R. de M. P. In: PRADO, R. de M. *Nutrição de plantas* São Paulo: UNESP, p.161-181. 2008.

RIBEIRO, T.M., MARTINS, S.V., LANA, V.M., SILVA, K.A. Sobrevivência e crescimento inicial de plântulas de *Euterpe edulis* Mart. transplantadas para clareiras e sub-bosque em uma Floresta Estacional Semidecidual. Viçosa, MG. *Revista Árvore*, v.35, n.6, p.1219-1226. 2011.

SANTOS, L. W. dos; COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. Qualidade de mudas de pauferro produzidas em diferentes substratos e condições de luz. *Pesquisa Florestal Brasileira*. v. 33, n. 74, p. 151-158. 2013.

SHANLEY, P. *Frutíferas e mudas úteis na vida Amazônica*. Belém: CIFOR, Imazon, 300 p. 2005.

SILVA, M. P. et al. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lyophilized Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, v. 31, n. March, p. 226–234. 2019.

SILVESTRE, W. V. D.; PINHEIRO, H. A.; SOUZA, R. O. R. M.; PALHETA, L. F. Morphological and physiological responses of açai seedlings subjected to different watering regimes. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (Online)*, v. 20, p. 364-371, 2016.

SLAVICK, B. *Methods of studying plant water relations*. New York, Springer Verlag. P 449. 1979.

WARREN, C.R.; ARANDA, I.; CANO, F.J. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. *Plant, Cell and Environment*, v.34, p.1609-1629, 2011.