

# MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DANIELLE PEREIRA MENDONÇA

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E MITIGAÇÃO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PALMA DE ÓLEO BIOESTIMULADA: UMA ABORDAGEM FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA

BELÉM/PA 2023

#### DANIELLE PEREIRA MENDONÇA

### PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E MITIGAÇÃO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PALMA DE ÓLEO BIOESTIMULADA: UMA ABORDAGEM FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Agronomia para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

Coorientador: Prof.ª Dra. Gisele Barata da Silva

BELÉM/PA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MENDONCA, Danielle Pereira Mendonça

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E MITIGAÇÃO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PALMA DE ÓLEO BIOESTIMULADA: UMA ABORDAGEM FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA / Danielle Pereira Mendonça MENDONCA. - 2023.

57 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronômia(PPGA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2023. Orientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro Castro Coorientador: Prof. Dr. Gisele Barata da Silva.

1. Biopromotores. 2. enzimas antioxidantes. 3. trocas gasosas. 4. déficit hídrico. 5. Palma de Óleo. I. Castro, Gledson Luiz Salgado de Castro, orient. II. Título

CDD 576.1192

#### DANIELLE PEREIRA MENDONÇA

### PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E MITIGAÇÃO DA DEFICIÊNCIA HÍDRICA EM PALMA DE ÓLEO BIOESTIMULADA: UMA ABORDAGEM FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em agronomia, para obtenção do título de mestre em agronomia. Área de concentração: Agronomia.

Data da aprovação

BANCA EYAMINADODA

Documento assinado digitalmente

GLEDSON LUIZ SALGADO DE CASTRO
Data: 07/08/2023 21:49:29-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro

Orientador

Universidade Federal Rural da Amazônia

Dr. Hávio José Rodrigues Cruz-

Universidade Federal do Amapá

Dr. Rodolfo Inácio Nunes Santos

Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Sustentabilidade

Documento assinado digitalmente

Rodolo Inocio nuns Scouts

WALTER VELLASCO DUARTE SILVESTRE Data: 07/08/2023 12:27:43-0300

Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Walter Vellasco Duarte Silvestre

Universidade Federal Rural da Amazônia

	Aos meus pais, minha filha, meu esposo e amigos por todo incentivo e apoio.

#### **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço à DEUS, por me dar forças para continuar nessa caminhada;

À minha família, especialmente meus pais, Roberto e Márcia, que batalharam para me oferecer uma educação de qualidade apesar de todas as dificuldades;

Ao meu esposo, Andrey, por estar sempre ao meu lado, por me acalmar em momentos de aflição;

À minha filha Luna, que é minha maior motivação para tudo na vida;

À Universidade Federal Rural da Amazônia e PGAGRO pela oportunidade de realizar este curso;

Ao meu orientador, Gledson Castro pela dedicação, paciência e humildade em repassar seu conhecimento;

Aos meus amigos do laboratório de proteção de plantas e da UFRA por toda ajuda nos momentos de aflição, por alegrar meus dias e tornar qualquer atividade mais especial quando estamos juntos, especialmente Maria Luiza, Juliana Tavares, Maria Gomes, Veronica Paes, Carolina Sarto, Luma, João Paulo, Rafael Rodrigo, Diego Alves, Fernando Souza, Gleiciane, Alice, Matheus Yan, Mauro Borges, Thiago Costa, Hugo Manuel, Erika Sena;

Aos meus amigos da graduação e da vida Bruno Maia, Juliete Oliveira, Thayná Ferreira, Michelle Cantão, Adrirroseo Santos, Jamille Costa, Caroline Ferreira, João Matos por estarem sempre comigo nos momentos especiais;

Ao professor Jessivaldo Galvão por todo acolhimento, conselhos e ensinamentos durante a graduação e pós-graduação;

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais esta etapa da minha vida profissional, todo o meu carinho e gratidão;

#### RESUMO

A Palma de óleo (Elaeis guineenses Jacq.) dentre as culturas oleaginosas, é a mais produtiva do mundo, se destacando na produção de óleo de alto valor econômico. A produção de mudas necessita de longo período de viveiro e o suprimento hídrico é essencial nessa fase, pois é o um dos principais fatores limitantes na qualidade das mudas. No entanto, há estudos que relatam o uso da tecnologia microbiana (fungos e bactérias) como uma possível estratégia eficaz para promover o crescimento e mitigar os efeitos da deficiência hídrica. O estudo foi composto em dois capítulos. O objetivo do primeiro capítulo foi avaliar a promoção do crescimento e trocas gasosas em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos. O experimento foi realizado em casa de vegetação no delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, sendo composto pela inoculação de quatro microrganismo (UFRABA01, UFRABA124, FT12, MIX de fungos) e controle (sem inoculação) com cinco repetições por tratamento. A inoculação dos microrganismos promoveu o crescimento das mudas de palma de óleo. A altura, diâmetro do coleto, número de folhas, área foliar, comprimento de raiz e clorofilas totais aumentaram em média de 37%, 49%, 16%, 223%, 63% e 15%, respectivamente, nas mudas inoculadas em relação as mudas controle. A massa seca das folhas, da parte aérea, da raiz e totais aumentaram em média de 214%, 228%, 213%, 71%, respectivamente, nas mudas inoculadas em comparação as mudas controle. A fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração aumentaram em média de 62%, 25% e 22%, respectivamente, nas mudas inoculadas em relação as mudas controle. Para o capítulo II o objetivo foi avaliar a biometria, trocas gasosas, potencial hídrico, peroxidação lipídica e ativação das enzimas antioxidantes em mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em casa de vegetação com delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram compostos pela inoculação da bactéria UFRAB01, coletada de plantios comerciais de palma de óleo, MIX de fungos e um controle (não inoculado), com cinco repetições, em mudas de palma de óleo submetidas a irrigação plena e submetidas ao déficit hídrico (-2,5 MPa). A inoculação desses microrganismos aumentaram a altura da planta e diâmetro do coleto independente da condição hídrica. O potencial hídrico diminuiu em todas as mudas submetidas ao déficit hídrico, sendo a maior redução de 75% nas mudas controle. A fotossíntese líquida foi reduzida drasticamente pelo déficit hídrico, porém os tratamentos UFRAB01 e MIX conseguiram aliviar essa redução e mantiveram as maiores médias, cerca de 63% maior em relação ao controle. A condutância estomática e a transpiração foram reduzidas pelo déficit hídrico, entretanto a inoculação de UFRAB01 e MIX conseguiu regular esses processos para aumentar a eficiência do uso da água

em 23% e elevar a carboxilação em 51% em relação ao controle. A peroxidação lipídica (MDA) não foi afetada pela inoculação dos microrganismos. No entanto, houve um aumento em 42% e 46% para a atividade da enzima Ascorbato peroxidase em mudas bioestimuladas com UFRAB01 e MIX de fungos, respectivamente. Provavelmente, alguns mecanismos fisiológicos que envolvem a regulação da abertura estomática e maior atividade de carboxilação da rubisco podem estar sendo ativados pelos microrganismos para sustentar a maior demanda de fotoassimilados necessários para o maior crescimento e aliviar as alterações por outros sistemas de defesa não enzimático.

Palavras-chave: Biopromotores, enzimas antioxidantes, trocas gasosas, déficit hídrico

#### **ABSTRACT**

The oil palm (Elaeis guineenses Jacq.) among oilseed crops, is the most productive in the world, standing out in the production of oil of high economic value. The production of seedlings requires a long period in the nursery and the water supply is essential at this stage, as it is one of the main limiting factors in the quality of the seedlings. However, there are studies that report the use of microbial technology (fungi and bacteria) as a possible effective strategy to promote growth and mitigate the effects of water deficiency. The study was composed of two chapters. The objective of the first chapter was to evaluate the growth promotion and gas exchange in oil palm seedling leaves inoculated with microorganisms. The experiment was carried out in a greenhouse in a completely randomized design with five treatments, consisting of the inoculation of four microorganisms (UFRABA01, UFRABA124, FT12, fungal MIX) and control (without inoculation) with five replications per treatment. The inoculation of microorganisms promoted the growth of oil palm seedlings. The height, stem diameter, number of leaves, leaf area, root length and total chlorophylls increased by an average of 37%, 49%, 16%, 223%, 63% and 15%, respectively, in the inoculated seedlings in relation to the control seedlings. Dry mass of leaves, shoots, roots and totals increased by an average of 214%, 228%, 213%, 71%, respectively, in inoculated seedlings compared to control seedlings. Net photosynthesis, stomatal conductance and transpiration increased by an average of 62%, 25% and 22%, respectively, in the inoculated seedlings in relation to the control seedlings. For chapter II, the objective was to evaluate biometry, gas exchange, water potential, lipid peroxidation and activation of antioxidant enzymes in oil palm seedlings inoculated with microorganisms and submitted to water deficit. The experiment was carried out in a greenhouse with a completely randomized design. The treatments consisted of the inoculation of the bacterium UFRAB01, collected from commercial plantations of oil palm, MIX of fungi and a control (non-inoculated), with five replications, in oil palm seedlings submitted to full irrigation and submitted to water deficit (-2.5 MPa). Inoculation of these microorganisms increased plant height and stem diameter regardless of water condition. Water potential decreased in all seedlings submitted to water deficit, with the greatest reduction of 75% in control seedlings. Net photosynthesis was drastically reduced by the water deficit, but the treatments UFRAB01 and MIX managed to alleviate this reduction and maintained the highest averages, about 63% higher than the control. Stomatal conductance and transpiration were reduced by water deficit, however the inoculation of UFRAB01 and MIX managed to regulate these processes to increase water use efficiency by 23% and increase carboxylation by 51% compared to the control. Lipid

peroxidation (MDA) was not affected by inoculation of microorganisms. However, there was an increase of 42% and 46% for the activity of the enzyme Ascorbate peroxidase in seedlings biostimulated with UFRAB01 and fungal MIX, respectively. Probably, some physiological mechanisms involving the regulation of stomatal opening and greater rubisco carboxylation activity may be being activated by microorganisms to sustain the greater demand for photoassimilates necessary for greater growth and to alleviate alterations by other non-enzymatic defense systems.

Keywords: Biopromoters, antioxidant enzymes, gas exchange, water deficit.

#### LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Altura (A), diâmetro do coleto (B), número de folhas (C) e clorofilas totais (D) em mudas de palma de óleo 27
<b><u>9</u>Figura 2.</b> Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Massa seca de folhas (A), massa seca da parte aérea (B), massa seca de raiz (C) e massa seca total (D) em mudas de palma de óleo.
<b>Figura 3</b> - Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Altura (A) Fotossíntese líquida - A, (B) condutância estomática - gs, (C) carbono intercelular Ci e (D) transpiração - E em mudas de palma de óleo
<b>Figura 4-</b> Efeito dos microrganismos promotores de crescimento sobre açucares solúveis totais – AST (A) e amido (B) em mudas de palma de óleo
<b>Figura 5</b> - Mudas de palma de óleo, com 6 meses de idade, inoculadas com microrganismos. (T1) Mix de Trichoderma (T2) UFRAB01, (T3) Trichoderma (sem identificação), (T4) UFRAB124, (T5) Tratamento controle
<b>Figura 6</b> - Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre Altura (A), diâmetro do coleto (B), número de folhas (C) e clorofilas totais (D) em mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico
<b>Figura 7</b> - Potencial hídrico em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico
<b>Figura 8</b> - Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre [A] – Fotossíntese líquida de CO2 (A), [gs] – condutância estomática ao vapor d'água (B), [Ci] – concentração intercelular de CO2 (C), [E] – taxa de transpiração (D), [A/E] – eficiência do uso da da água (E) e [A/Ci] – eficiência de carboxilação da Rubisco (F) em mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico
<b>Figura 9</b> - Potencial hídrico em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico
<b>Figura 10-</b> Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre Atividade das enzimas antioxidantes: [A] - Catalase (CAT) e [B] - Peroxidase do arcorbato (APX) em folhas de mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico

#### LISTA DE SIGLAS

1111 1 1 Clao illaolacciic	AIA -	Ácido	indo	lacétic
----------------------------	-------	-------	------	---------

ABA - Ácido abscísico

A/E - Eficiência instantânea do uso da água

A/Ci - eficiência de carboxilação da Rubisco

A - Taxa de assimilação líquida de CO2

APX - Ascorbato peroxidase

AST - Açúcares solúveis totais

ATP - Adenosina trifosfato

CAT - Catalase

CP - Capacidade de pote

*Ci* - Concentração intercelular de CO2

DPV - Déficit de pressão de vapor do ar

E - Taxa de transpiração

Gs - Condutância estomática ao vapor d'água

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Peróxido de hidrogênio

MDA - Aldeído malônico

O2- - Radical superóxido

HO - Radical hidroxila

PAR - Radiação fotossinteticamente ativa

PSII - fotossistema II

ψw - Potencial hídrico

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SNK - Student-Newman-Keuls

SOD - Superóxido dismutase

UFC - Unidade Formadora de Colônia

#### SUMÁRIO

1. CONTEXTUA	ALIZAÇÃO	15
REFERÊNCIAS	j	18
	AÇÃO COM MICRORGANISMO I	_
		20
2.1 INTRODUÇA	ÃO	23
2.2 MATERIAL	E MÉTODOS	24
2.2.1 CONDIÇÕ	DES EXPERIMENTAIS	24
2.2.2 CRESCIMI	ENTO DAS PLANTA	24
2.2.3 MICRORG	GANISMOS PROMOTORES DE CR	<b>ESCIMENTO</b> 25
	AÇÃO DOS MICRORGANISM	
2.2.5 AVALIAÇÃ	ÃO DO CRESCIMENTO E BIOMA	SSA25
2.2.6 TROCAS O	GASOSAS E TEOR DE CLOROFIL	AS TOTAIS26
-	ES SOLÚVEIS TOTAIS E AMIDO ESTATÍSTICA	
	OS	
2.3.1 AVALIĄÇ	ÃO BIOMETRICA	27
2.3.2 AVALIA	AÇÃO DA BIOMASSA	28
2.3.3 AVALIAÇÃO	DAS TROCAS GASOSAS	29
2.3.4 AVALIA	AÇÃO DOS AÇUCARES TOTAIS E	<b>AMIDO</b> 29
<b>PEFEDÊNCIAS</b>	4	36

3. ALTERAÇOES FISIOLOGICAS E BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR
MICRORGANISMOS EM MUDAS DE PALMA DE ÓLEO SUBMETIDAS AO
DÉFICIT HÍDRICO38
<b>RESUMO</b> 38
<b>ABSTRACT</b> 40
3.2 MATERIAL E MÉTODOS42
3.2.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS42
3.2.3 MICRORGANISMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO43
3.2.4 INOCULAÇÃO DOS MICRORGANISMOS43
3.2.5 IMPOSIÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO43
<b>3.2.6 BIOMETRIA</b> 44
3.2.7 TROCAS GASOSAS E TEOR DE CLOROFILAS TOTAIS44
<b>3.2.8 POTENCIAL HÍDRICO</b> 44
3.2.9 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA45
3.2.10 ENZIMAS ANTIOXIDANTES45
3.2.11. ANÁLISES ESTATÍSTICA46
<b>3.3 RESULTADOS</b> 46
<b>3.3.1 BIOMETRIA</b> 46
3.3.2 POTENCIAL HÍDRICO47
<b>3.3.3 TROCAS GASOSAS</b> 48
3.3.4 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA49
3.3.5 ENZIMAS ANTIOXIDANTES50
<b>3.4. DISCUSSÃO</b>
<b>3.5 CONCLUSÃO</b> 54
<b>ANEXOS</b> 55
ANEXO A. Caracterização química do substrato utilizado no experimento55

ANEXO B. Características in vitro de rizobactérias promotoras de cres	cimento de
plantas pela cepa UFRAB01	55
APÊNDICES	56
APÊNDICE A. Características in vitro de rizobactérias e fungos promotor	as de
crescimento de plantas.	56
REFERENCIAS	57

#### 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A Palma de Óleo (*Elaeis guineensis* Jacq) tem origem africana e pertencente à família Arecaceae, esta palmeira arbórea e oleaginosa é cultivada em regiões tropicais úmidas da África, Ásia e América (MUKHERJEE e SOVACOOL, 2014). A espécie caracteriza-se como uma das mais produtivas de óleo vegetal do mundo, seu óleo é o mais comercializado mundialmente e aplicado nos setores industriais de alimentos, fármacos e cosméticos além de ter potencial para produção de biocombustíveis (SANTANA, *et al*, 2013; USDA, 2021).

Segundo o zoneamento agroclimático da palma de óleo (MAPA), as áreas mais adequadas para o cultivo estão localizadas nas regiões Norte e Nordeste do país, em altitudes inferiores a 400 metros e com temperaturas médias anuais entre 26°C e 28°C. Além disso, são necessárias condições de umidade adequadas, com precipitação pluviométrica mínima anual de 1.200 mm e solos profundos, bem drenados e ricos em nutrientes.

A produção mundial do óleo de palma é de 76,3 milhões de toneladas (USDA, 2021). O Brasil ocupa 9º posição, produzindo 550 mil toneladas de óleo procedente dos plantios existentes na região norte e numa estreita faixa da região nordeste. O estado do Pará é considerado o maior produtor nacional e apresenta área plantada de cerca de 200.000 ha, com produção anual de 3,2 milhões de toneladas de cacho de fruto fresco, gerando 82% do total de óleo produzido no país (SEDAP, 2021). Vista a importância mundial da cultura são necessárias estratégias que aumentem a qualidade e vigor dessas mudas de forma eficiente e sustentável, para que futuramente se alcance uma boa produtividade.

A produção de mudas de palma de óleo de qualidade para a renovação dos plantios comerciais são procedimentos que as grandes instituições vêm adotando para aumentar a precocidade, rusticidade e produtividade dos seus plantios (CORLEY & TINKER, 2016). Essa fase é considerada é primordial, visto que mudas com melhores qualidade fisiológicas irão ser mais resistentes no campo, garantindo a longevidade do plantio (AKPO *et al.*, 2014). Entretanto, para produzir uma muda com um alto padrão de qualidade é preciso um longo período de viveiro o que geram gastos elevados na produção dessas mudas (DUBOS, 2017; FAIRHURST *et al.*, 2019; LIMA, 2020) Em função disso, o suprimento hídrico é de grande importância nessa fase uma vez que a disponibilidade hídrica é o principal fator limitante na qualidade das mudas de palma de óleo (KALLARACKAL *et al.*, 2004). Segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia (2020), entre os meses de junho e outubro o estado do Pará sofre com a diminuição dos índices pluviométricos, justificada pela queda de aproximadamente

350 mm na quantidade de chuva em relação aos períodos de maior pluviosidade, possibilitando a ocorrência de deficiência hídrica nos cultivos de palma de óleo. Nas condições de déficit hídrico, as plantas irão desenvolver mecanismos de defesa nos processos fisiológicos, estes mecanismos atuam na fotossíntese, fotorrespiração, atividades enzimáticas e metabólicas (MENEZES-SILVA *et al.*, 2017).

As trocas gasosas são processos vitais para a sobrevivência das *plantas*, uma vez que a fotossíntese desempenha um papel fundamental na produção de açúcares, que servem como fonte de energia, e na liberação de oxigênio para a atmosfera. No entanto, para que essas trocas ocorram, as plantas dependem da presença de água, que é essencial para a absorção de nutrientes e para manter a turgescência das células. Portanto, em condições de déficit hídrico, uma das estratégias adotadas pelas plantas é a redução da taxa de transpiração (TAIZ, L. & ZEIGER, 2013).

As enzimas antioxidantes têm uma função crucial na defesa das plantas contra os danos oxidativos decorrentes do estresse hídrico. Essas enzimas, tais como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a peroxidase (POD), desempenham um papel fundamental na neutralização de espécies reativas de oxigênio (EROs), como os radicais livres, que têm potencial para causar danos nas membranas celulares, proteínas e DNA (FOYER & NOCTOR, 2005).

Diversas pesquisas têm evidenciado que a atividade das enzimas antioxidantes é ampliada como resposta ao oxidato ocasionado pela deficiência hídrica, desempenhando um papel fundamental na mitigação dos efeitos adversos ocasionados pelo déficit de água nas plantas. Adicionalmente, a presença de compostos antioxidantes, como os polifenóis e carotenoides, desempenha um papel significativo na proteção contra o estresse oxidativo (GILL & TUTEJA, 2010)

Soluções mais sustentáveis e de baixo custo para o agricultor são procuradas afim de mitigar os efeitos causados por estresses abióticos, como a deficiência hídrica e garantir a segurança alimentar da crescente população mundial. Uma das alternativas a este problema é a utilização de microrganismos promotores de crescimento pois estes induzem o crescimento das raízes, aumentando a área de absorção de água e nutrientes, conferindo uma melhor eficiência nesse sentido (SARAVANAKUMAR *et al.*, 2011). O uso de rizobactérias e fungos na promoção do crescimento têm sido uma alternativa de mitigação frente as intemperes que as plantas estão sujeitas. Esses microrganismos além de promover o aumento da biomassa ele também aumenta a resistência a estresses biótico e abiótico (SILVA *et al.*, 2012).

Assim, o desenvolvimento de práticas que visem a produção sustentável de alimentos, com menores impactos nos cultivos, mas também que atenda as crescentes demandas alimentares, se tornam uma prática interessante. Sabendo do benefício do uso desses microrganismos na agricultura, a hipótese desta pesquisa é de que microrganismos otimizam atividade fotossintética para promover o crescimento das mudas de Palma de óleo e mitigam os danos provocados pelo déficit hídrico.

#### REFERÊNCIAS

AKPO, E. *et al.* Growth dynamics of tree nursery seedlings: The case of oil palm. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 175, p. 251–257, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.020. Acesso em: 9 abr. 2020.

CORLEY, R. H. V.; TINKER, P. B. **The oil palm**. 5. ed. Oxoford: Wiley Blackwell, p. 692, 2015.

DUBOS, B.; SNOECK, D., FLORI, A. Excessive use of fertilizer can increase leaching. processes and modify soil reserves in two ecuadorian oil palm plantations. **Experimental Agriculture**, v. 53, n. 2, p. 255-258, 2016.

FAIRHURST, T.; GRIFFITHS, W.; RANKINE, I. **TCCL field handbook oil palm** – Nursery, 3. ed. United Kingdom: Oxford Graphic Printers p. 266, 2019.

FOYER, C. H., & NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, n.7, 1866-1875, 2005.

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

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Precipitação acumulada no estado do Pará**. [*S. l.*], 28 maio 2020. Disponível em: https://portal.inmet.gov.br/. Acesso em: 20 jul. 2023.

KALLARACKAL, J.; JEYAKUMAR, P.; GEORGE, S. Water use of irrigated oil palm at three different arid locations in Peninsular India. **Journal of Oil Palm** ..., [S. l.], v. 16, n. 1, p. 45–53, 2004. Disponível em: http://www.cabdirect.org/abstracts/20043089511.html.

LIMA, J. V. *et al.* Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. **Scientia Horticulturae**, v. 264, p. 109161, abr. 2020.

MENEZES-SILVA, P. E. *et al.* Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, [S. l.], v. 68, n. 15, p. 4309–4322, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1093/jxb/erx211.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Zoneamento agroclimático** para a cultura da palma de óleo no Brasil. 2ª edição. Brasília: MAPA/ACS, 2015. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/zoneamento">http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/zoneamento</a>. Acesso em: 17 mai. 2023.

MUKHERJEE, I.; SOVACOOL, B.K. Palm oil-based biofuels and sustainability in southeast Asia: A review of Indonesia, Malaysia, and Thailand. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.37, p.1-12, 2014.

SANTANA, M.C.C.B.; *et al.* Dendê e seu potencial de uso: uma prospecção tecnológica. **Cadernos de prospecção**. v.6, n.4, p.516-525, 2013.

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. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11738-010-0539-1

SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E DA PESCA (SEDAP) - Estado do Pará. Panorama agrícola do Pará, 2019. Disponível em: https://www.sedap.pa.gov.br/boletim-cvis. Acesso em julho de 2022.

SILVA, J. C. da. *et al.* Biocontrol of sheath blight on rice and growth promotion by Trichoderma isolates from the Amazon. Revista de Ciências Agrarias - Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences, [S. l.], v. 55, n. 4, p. 243–250, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.4322/rca.2012.078

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service (2021). Disponivel em:https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=4243000& sel\_year=2020&rankby=Production. Acesso em julho de 2022.

## 2. A INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMO PROVOCA ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS PARA PROMOVER O CRESCIMENTO DE MUDAS DE PALMA DE ÓLEO.

#### **RESUMO**

A Palma de óleo (Elaeis guineensis Jacq.) é a cultura oleaginosa mais produtiva do mundo, destacando-se pela produção de óleo de alto valor econômico. Os principais países produtores são a Malásia e a Indonésia. No Brasil, a área cultivada no Estado do Pará é de aproximadamente 236 mil hectares. A produção de mudas requer um longo período de viveiro e o uso de fertilizantes químicos em grande quantidade. No entanto, estudos mostram que o uso de tecnologia microbiana pode reduzir o consumo excessivo de fertilizantes e acelerar o crescimento das mudas. Uma alternativa é o uso de microrganismos promotores de crescimento, como rizobactérias e fungos do gênero Trichoderma. O objetivo deste estudo foi avaliar a biometria, acúmulo de biomassa e trocas gasosas em mudas de Palma de óleo inoculadas com microrganismos. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação, utilizando um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos. Os tratamentos consistiram na inoculação de quatro microrganismos (UFRABA01, UFRABA124, FT12, MIX de Trichoderma Asperellum) e um grupo controle (sem inoculação), cada um com cinco repetições. Os dados foram analisados estatisticamente, utilizando análise de variância. Quando houve diferença significativa, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de SNK (P < 0,05). A inoculação dos microrganismos promoveu o crescimento das mudas de Palma de óleo. Em comparação com as mudas controle, observou-se um aumento médio de 37% na altura, 49% no diâmetro do coleto, 16% no número de folhas, 223% na área foliar, 63% no comprimento das raízes e 15% nas clorofilas totais nas mudas inoculadas. A massa seca das folhas, parte aérea, raiz e total aumentaram em média 214%, 228%, 213% e 71%, respectivamente, nas mudas inoculadas em comparação com as mudas controle. A fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração aumentaram em média 62%, 25% e 22%, respectivamente, nas mudas inoculadas em relação às mudas controle. Os açúcares solúveis totais reduziram em média 7,8% para o MIX, UFRABA01 e UFRAB124, e 37,07% para o UFRAT12 em comparação com o controle. O amido diminuiu em média 24% para o UFRAT12 e UFRAB124 em relação ao controle. Portanto, esses resultados indicam que a inoculação de

21

microrganismos promoveu um melhor desempenho fotossintético e estimulou o crescimento das mudas de Palma de óleo. Provavelmente, os microrganismos ativaram mecanismos fisiológicos que estão relacionados à assimilação de CO2 e à mobilização de fotoassimilados, o que pode explicar o aumento no crescimento das mudas.

Palavras-chaves: Elaeis guineensis, Bioestimulantes, Crescimento, Fotossíntese.

#### **ABSTRACT**

Oil Palm (Elaeis guineensis Jacq.) is the most productive oil crop in the world, standing out in the production of high-value economic oil. The main global producers are Malaysia and Indonesia. In Brazil, the estimated cultivated area is around 236,000 hectares in the state of Pará. The production of seedlings requires a long nursery period and high consumption of chemical fertilizers. However, there are studies reporting the effective use of microbial technology to minimize excessive use of chemical fertilizers and promote earlier seedling development. One alternative to improve physiological performance and accelerate seedling growth is the use of growth-promoting microorganisms such as rhizobacteria and Trichoderma fungi. The objective of this study was to evaluate the biometrics, biomass accumulation, and gas exchange in oil palm seedlings inoculated with microorganisms. The experiment was conducted in a greenhouse using a completely randomized design with five treatments, consisting of the inoculation of four microorganisms [UFRABA01, UFRABA124, FT12, MIX of Trichoderma Asperellum (T06, T09, T12, and T52)] and a control (without inoculation), with five replicates per treatment. The data were subjected to analysis of variance, and when significant, the treatment means were compared using the SNK test (P < 0.05). Inoculation of the microorganisms promoted the growth of oil palm seedlings. The height, stem diameter, number of leaves, leaf area, root length, and total chlorophyll increased on average by 37%, 49%, 16%, 223%, 63%, and 15%, respectively, in the inoculated seedlings compared to the control seedlings. Dry mass of leaves, above-ground, root, and total increased on average by 214%, 228%, 213%, and 71%, respectively, in the inoculated seedlings compared to the control seedlings. Net photosynthesis, stomatal conductance, and transpiration increased on average by 62%, 25%, and 22%, respectively, in the inoculated seedlings compared to the control seedlings. Total soluble sugars decreased on average by 7.8% for the MIX, UFRABA01, UFRABA124, and 37.07% for UFRAT12 compared to the control. Starch decreased on average by 24% for UFRAT12 and UFRABA124 compared to the control. Therefore, the results show that improved photosynthetic performance may be associated with growth promotion in oil palm seedlings inoculated with microorganisms. It is likely that some physiological mechanisms involving CO2 assimilation and mobilization of photoassimilates are being activated by the microorganisms to support the high energy demand required for increased growth.

**Keywords**: *Elaeis guineensis*, Biostimulants, Growth, Photosynthesis

#### 2.1 INTRODUÇÃO

A Palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) pertence à família Arecaceae, sendo originária do continente africano. Dentre as culturas oleaginosas, é a mais produtiva do mundo, se destacando na produção de óleo de alto valor econômico, com potencial para a produção de biodiesel, além de ser muito utilizado na produção de gêneros alimentícios, farmacêuticos entre outros (CHAGAS *et al.*, 2019).

Os principais produtores mundiais são Malásia e Indonésia, juntos eles representam 80% da produção mundial, e exportam grandes quantidades de óleo para o mercado internacional, especialmente para a Comunidade Europeia, os Estados Unidos, a Índia e a China. (IBGE, 2020). No Brasil, a Associação brasileira de produtores de palma de óleo (ABRAPALMA, 2018) estima uma área cultivada de cerca de 236 mil hectares, com protagonismo do Estado do Pará (88%), seguido pelos Estados da Bahia (11%) e de Roraima (1%).

A produção de mudas de palma de óleo com padrão de qualidades necessita de longo período de viveiro, alto consumo de fertilizantes químicos e altos custos operacionais. De acordo com dados da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (2022), de janeiro de 2020 a março de 2022, os preços nominais dos principais fertilizantes tiveram alta de 288%. No entanto, há estudos que mostram que a tecnologia microbiana é eficaz em minimizar o uso de muito fertilizante químico, além de produzir uma planta precoce e robusta (Bender *et al.*, 2016; Sattar *et al.*, 2019). Os microrganismos promotores de crescimento de plantas, como alguns gêneros de fungos e bactérias, considerados de vida livre, configuram uma tecnologia capaz de gerar benefícios à produção agrícola, com a redução de custo de produção ao produtor e dos impactos negativos ao meio ambiente (GLICK, 2013).

Diversos gêneros de bactérias que possuem a capacidade de colonizar as raízes das mudas, vivem em plena atividade rizosfera e, por isso, são chamadas de rizobactérias. Estas bactérias e alguns fungos, principalmente do gênero Trichoderma, são os microrganismos mais estudados e usados como agentes de biofertilizantes e biocontroladores (DUTTA *et al.*, 2010). Diversos trabalhos vêm evidenciando o benefício do uso dos microrganismos promotores de crescimento em palmeiras, como a cultura da palma de óleo (LIMA *et al.*, 2020), açaizeiro (CASTRO *et al.*, 2019) e coqueiro (CARDOSO *et al.*, 2021).

A hipótese do presente estudo é que os microrganismos alteram a performance fotossintética e, a partir disso, potencializam o crescimento das mudas de palma de óleo. O

objetivo foi avaliar o crescimento através da biometria e acúmulo de biomassa, e mensurar a performance fotossintética pelas trocas gasosas em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos.

#### 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.2.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Proteção de Plantas (LPP/UFRA) e em casa de Vegetação localizada em Belém-PA, (01°27'29"S, 48°26'06"W), com área de aproximadamente 70m², composta por porta e paredes com estrutura em madeira e telas de aço, telhado em lona, 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 experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos: 4 microrganismos promotores de crescimento e o controle, com cinco repetições cada.

#### 2.2.2 CRESCIMENTO DAS PLANTA

Sementes de Palma de óleo (genótipo Compacta x Ghana) foram semeadas em bandejas plásticas para produção de mudas contendo substrato composto de fibra de coco triturada (Golden Mix Misto). Aos 30 dias após a germinação, as plântulas que apresentaram duas folhas expandidas e altura próximo a 12 cm foram transplantadas para sacos de plástico (45 x 45 cm, comprimento x altura) com volume de 25,74 dm³ contendo terriço como substrato. O cultivo foi realizado no viveiro da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém, PA, (1° 27′ 13.234″ S 48° 26′ 32.658″ W) que apresenta características climáticas do tipo AFI de acordo com a classificação de Koppen-Geiger. Durante o período experimental (fevereiro a setembro de 2021) 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 m²s¹¹ 470 de radiação incidente. O pH do substrato e as concentrações de macro e micronutrientes foram ajustadas conforme a análise do solo (manual de adubação 2022). As plantas foram irrigadas diariamente por gotejamento autocompensados para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do solo próximo da capacidade de pote, sendo esta mensurada através da pesagem das unidades experimentais (Klar *et al.* 1966).

#### 2.2.3 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO

As bactérias UFRABA01 (*Bacillus amyloliquefaciens*), UFRAB124 (*Bacillus* sp.) e MIX de cinco cepas de *Trichoderma Asperellum* (T06, T09, T12 E T52) e FT-12 (*Trichoderma* sp.) provenientes de cultivo de palma de óleo, onde foram obtidos e armazenados no banco de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) localizada na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). As rizobactérias foram cultivadas em meio sólido 523 (KADO; HESKETT, 1970) durante 48 h a 28 ° C. As suspensões bacterianas foram preparadas com água destilada e esterilizada e foram ajustadas no espectrofotômetro para absorbância de 0,1 a 550 nm, que corresponde a uma densidade de suspensão bacteriana de 10 <sup>-8</sup> UFC. mL <sup>-1</sup>. Os isolados do fungo de *Trichoderma* foram cultivados em meio de cultura BDA (batatadextrose-ágar) incubadas durante cinco dias a 28 ° C, onde foi preparado de cada isolado uma suspensão na concentração de 10 <sup>8</sup> conídios/ml (RÊGO *et al.*, 2014).

### 2.2.4 INOCULAÇÃO DOS MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO

As plântulas tiveram suas raízes padronizadas através do corte com uma tesoura e antes do transplantio para os sacos plásticos com o substrato, foram imersas na suspensão bacteriana e fúngica durante 20 min. As plântulas controle foram imersas em meio de cultura líquido 523 (KADO & HESKETT, 1970) sem a inoculação dos microrganismos. Após isso, foram realizadas três inoculações aos 15, 30 e 45 dias após o transplantio, adicionando 100 mL da suspensão bacteriana e fúngica na base da planta para avaliar a resposta na planta e a promoção do crescimento vegetal (LIMA *et al.*, 2020).

#### 2.2.5 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E BIOMASSA

Os dados biométricos e acúmulo de biomassa foram avaliados aos seis meses após o transplantio. A altura das plantas e o comprimento radicular foram mensurados com régua metálica graduada, enquanto o diâmetro do coleto foi mensurado com paquímetro digital (precisão de 0,02 mm). O número de folhas foi avaliado através da contagem direta das folhas emitidas e a área foliar total foi estimada pela massa seca dos discos foliares de 7 mm de diâmetro (3 discos por folha). As mudas foram seccionadas em raiz e parte aérea, e secas em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até peso constante, para pesagem e determinação da biomassa seca (BENINCASA, 1988).

#### 2.2.6 TROCAS GASOSAS E TEOR DE CLOROFILAS TOTAIS

Os parâmetros de trocas gasosas foram medidos na segunda folha fisiologicamente madura e completamente expandida, do ápice para a base, a partir do segundo mês após a inoculação com os microrganismos promotores de crescimento nas mudas de palma de óleo. A assimilação líquida de  $CO_2(A)$ , condutância estomática ao vapor de água (gs), concentração intercelular de  $CO_2(Ci)$  e a taxa de transpiração (E) foram medidas entre 10:00 e 12:00 horas usando um sistema portátil de fluxo aberto de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob uma concentração externa de  $CO_2$  de 400 µmol mol<sup>-1</sup> de ar e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 1000 µmol de fótons m-2s-1. Esse intervalo de medição (10:00 - 12:00 h) foi ajustado de acordo com a curva diurna de trocas gasosas obtida previamente para a espécie. Todas as medições foram realizadas sob temperatura do ar de  $31 \pm 2^{\circ}$ C, umidade relativa do ar de  $63 \pm 2\%$ , radiação incidente de  $600 \pm 100$  µmol m-2s-1 e déficit de pressão de vapor do ar de  $1.9 \pm 0.2$ kPa. A quantidade de luz azul foi ajustada para 10% da radiação fotossinteticamente ativa para otimizar a abertura estomática. O conteúdo relativo de clorofilas foi estimado inicialmente pelo clorofilômetro 258 (SPAD - 502) nas mesmas folhas utilizadas para as medições das trocas gasosas.

#### 2.2.7 AÇÚCARES SOLÚVEIS TOTAIS E AMIDO

Para quantificação de açúcares solúveis totais e amido, foi utilizada a metodologia de Dubois (1956). As amostras vegetais foram submetidas a extração com etanol 80% através do aquecimento em banho maria a 100°C. Após a submissão em alta temperatura, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos, e a partir dessa atividade, foi separado o sobrenadante destinado para a análise de açúcares e o pellet destinado para a análise de amido. Para açúcares solúveis totais, deve ser coletado 100μL de sobrenadante e adicionar 400 μL de água destilada. Seguindo as análises, deve ser adicionado 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Por fim, as amostras devem ser agitadas em vórtex e deixar reagindo por 20 minutos. A leitura pode ser feita em espectrofotômetro em faixa de absorbância de 490 nm. O pellet deve sofrer extração em HClO<sub>4</sub> por 30 minutos em temperatura ambiente. Seguindo a extração, as amostras devem ser centrifugadas e o sobrenadante coletado. A marcha analítica de amido segue os mesmos critérios de açúcares solúveis totais. A leitura deve ser realizada feita em espectrofotômetro em faixa de absorbância de 490 nm.

#### 2.2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

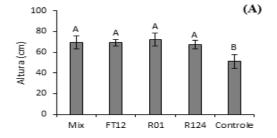
Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls (P < 0.05) usando o software R (R Core Team, 2022). Para representação dos dados obtidos, foram calculados média e erro padrão, além da construção de gráficos no programa EXCEL, versão Microsoft 365.

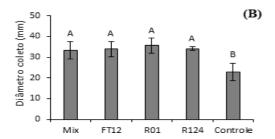
#### 2.3 RESULTADOS

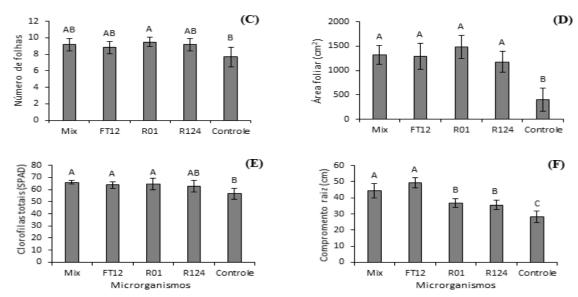
#### 2.3.1 AVALIAÇÃO BIOMETRICA

Todas as mudas inoculadas com microrganismos aumentaram as variáveis biométricas. Para a altura os aumentos foram de 36% para o MIX, 36% para o UFRAT12, 42% para a UFRABA01 e 32% para UFRA124 em relação às mudas não inoculadas (controle). O diâmetro do coleto aumentou em 45% para oMIX, 48% para o UFRAT12, 55% para a UFRABA01 e 49% para a UFRA124 em relação ao controle. O número de folhas aumentou em 13% para o Mix, 13% para o UFRAT12, 25% para a UFRABA01 e 13% para a UFRA124 em comparação ao controle. O teor relativo total de clorofilas (SPAD) aumentou em mudas inoculadas em 17%, 13% e 14% para Mix, UFRAT12 e UFRABA01, respectivamente, em relação às mudas controle (Figura 1). A área foliar aumentou em mudas inoculadas em 262%, 188%, 217% e 225% para UFRABA01, UFRA124, UFRAT12 e Mix, respectivamente, em relação as mudas controle (Figura 1). O comprimento radicular aumentou em mudas inoculadas em 54%, 71%, 20% e 18% para Mix, UFRAT12, UFRAB01 e UFRAB124, respectivamente, em comparação às mudas controle (Figura 1).

**Figura 1**- Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Altura (A), diâmetro do coleto (B), número de folhas (C), área foliar (D), clorofilas totais (E) e comprimento de raiz (F) em mudas de palma de óleo





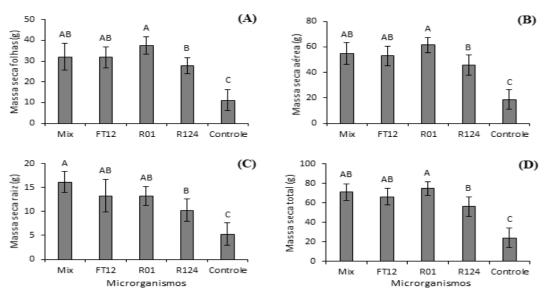


As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de 5 repetições. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste SNK (P < 0.05).

#### 2.3.2 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA

As mudas inoculadas aumentaram o acúmulo de biomassa em relação ao controle. Para massa seca da folha, massa seca da parte aérea e massa seca total houve um acréscimo de 241%, 228% e 213% respectivamente para UFRABA01 em comparação ao controle. A massa seca da raiz aumentou 71% para MIX em relação ao controle (Figura 2).

**Figura 2.** Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Massa seca de folhas (A), massa seca da parte aérea (B), massa seca de raiz (C) e massa seca total (D) em mudas de palma de óleo.

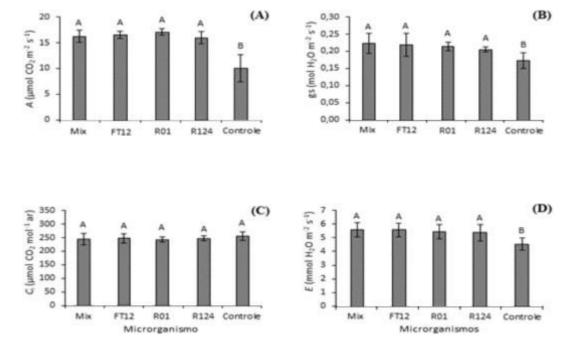


As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de 5 repetições. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste SNK (P < 0.05).

#### 2.3.3 AVALIAÇÃO DAS TROCAS GASOSAS

As mudas inoculadas aumentaram os valores médios dos parâmetros de trocas gasosas em relação ao controle, exceto para a concentração do carbono intercelular ( $C_i$ ) (Figura 2). Para a fotossíntese líquida houve um acréscimo de 67% para UFRABA01, 57% para UFRA124, 63% para UFRAT12 e 59% para o mix em comparação ao controle. A condutância estomática aumentou 24% para a UFRABA01, 18% para a UFRA124 e 29% para UFRAT12 e Mix em relação ao controle. A transpiração aumentou em mudas inoculadas em 21%, 19%, 24% e 24% para UFRABA01, UFRA124, UFRAT12 e Mix, respectivamente, em relação as mudas controle (Figura 3).

**Figura 3**- Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre a Altura (A) Fotossíntese líquida - A, (B) condutância estomática - gs, (C) carbono intercelular Ci e (D) transpiração - E em mudas de palma de óleo

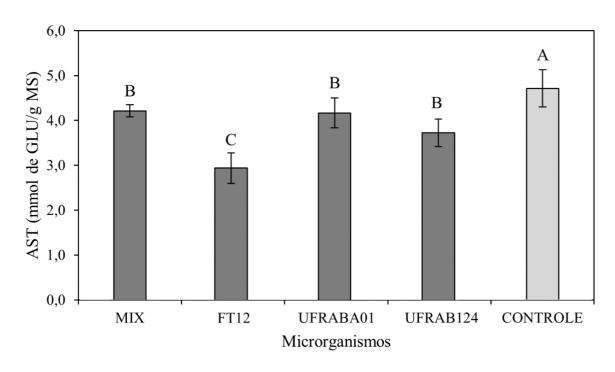


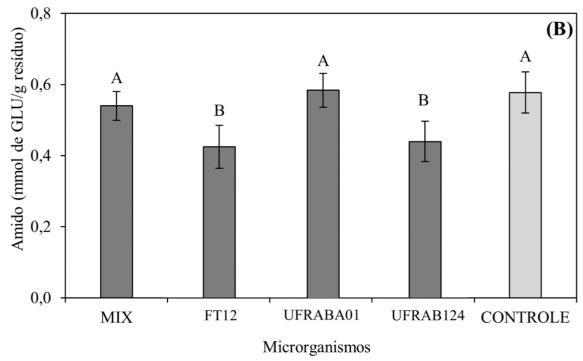
As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de 5 repetições. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias de acordo com o teste SNK (P < 0.05).

#### 2.3.4 AVALIAÇÃO DOS AÇUCARES TOTAIS E AMIDO

As mudas inoculadas reduziram os valores médios dos parâmetros de açucares totais em relação ao controle de 7,8% para MIX, UFRABA01, UFRAB124 e 37,07% para UFRAT12. Na avaliação de amido houve redução média de 24% para UFRAT12 e UFRAB124 em relação ao controle (Figura 4).

**Figura 4-** Efeito dos microrganismos promotores de crescimento sobre açucares solúveis totais – AST (A) e amido (B) em folhas de mudas de palma de óleo.

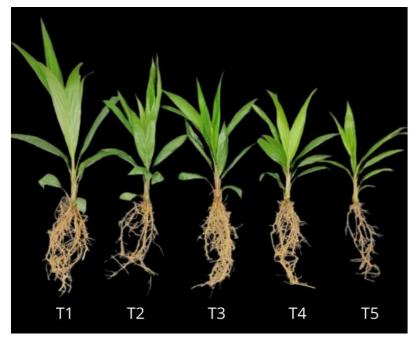




As colunas representam as médias  $\pm$  desvio padrão de 5 repetições. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos de acordo com o teste SNK (P<0,05).

**Figura 5**- Mudas de palma de óleo, com 6 meses de idade, inoculadas com microrganismos. (T1) Mix de *Trichoderma*; (T2) UFRAB01; (T3) *Trichoderma sp.*; (T4) UFRAB124 e (T5) controle.

#### 2.4 DISCUSSÃO



Fonte: Autor

O presente estudo buscou relatar as alterações fisiológicas moduladas por microrganismos para promover o crescimento de mudas de Palma de óleo. As vantagens do uso dos microrganismos já foram estudadas na palma de óleo (OM *et al.*, 2009), (LIMA *et al.*, 2020), e outras palmeiras como açaizeiro (CASTRO *et al.*, 2019) e coqueiro (GEORGE *et al.*, 2013), os quais evidenciaram os benefícios desses microrganismos na promoção do crescimento e aumento de vigor.

A rizosfera é um ambiente dinâmico e complexo no qual as raízes possuem um papel muito importante com a exsudação de compostos como os carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas, vitaminas e diversos outros compostos que têm como função a atração dos microrganismos, que podem ajudar da disponibilidade de nutrientes e biossíntese de compostos relacionados com crescimento vegetal (GOUDA *et al.*, 2018). Todos os microrganismos induziram aumento no comprimento e biomassa de raiz. Esse incremento na raiz é influenciado, possivelmente, devido aos fungos possuirem a habilidade de produzir elementos como enzimas fosfatases ácidas e alcalinas, e ácidos orgânicos que intensificam a quantidade de fósforo disponível para as plantas, como foram observados nos testes *in vitro* de solubilização realizados por Silva *et al.*, (2012) que testou a capacidade dos 4 isolados do tratamento com a

mistura de quatro isolados de *Trichoderma asperellum* (T06; T09; T12; T52) em solubilizar fosfato de cálcio em meio de cultura sólido (RIBAS *et al.*, 2015).

O trabalho desenvolvido por Syafiq et al. (2021), evidenciou que os fungos da espécie *Trichoderma asperellum* promovem crescimento das mudas de palma de óleo inoculadas em comparação com as mudas não inoculadas, esse incremento acontece por esses microrganismos conseguirem induzir, provavelmente, a produção de fitohormônios, sideróforos e substâncias que aumentam a solubilização de fósforo insolúvel. Ou seja, o maior sistema radicular aumenta a área de contato das raízes com o solo e melhora a absorção de água e nutrientes (ASARI et al. 2016). E isso pode ter influenciado no acúmulo de biomassa da parte aérea.

Foi observado que todos os microrganismos promotores de crescimento induziram o aumento nos parâmetros biométricos e de biomassa, o qual pode ser atribuído a diversos mecanismos diretos ou indiretos, como aos mecanismos diretos as rizobactérias atuam na solubilização direta de fontes de P insolúveis, fixação de N e/ou regulação da concentração de reguladores de crescimento de plantas, como ácido indol-acético (AIA) produzidos por algumas rizobactérias (NASCENTE et al. 2016). Estudos de Lima et al. (2020) evidenciam que o uso de microrganismos causam alterações hormonais, pois quando houve a inoculação da rizobactéria UFRAB01 em mudas de Palma de óleo resultou em aumento de 66% o teor de ácido indol-acético (IAA), 44% para o ácido abscísico (ABA) e uma redução de 24% na concentração de ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) e um aumento na razão de ácido indol-acético (IAA)/ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) em 100 % em comparação ao controle, ou seja, esse aumento nos níveis de fitohormônios nos tecidos foliares podem estar associados ao incremento biométrico, na biomassa da raiz, parte aérea e na eficiência do uso de nutrientes em mudas de Palma de óleo na fase de viveiro.

O teor total relativo de clorofilas aumentou em mudas que foram inoculadas com promotores de crescimento. As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captação, absorção e transmissão da luz que será utilizada na fotossíntese. Esses pigmentos desempenham um papel fundamental na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (TAIZ E ZEIGER, 2009). As clorofilas estão relacionadas à eficiência fotossintética das plantas, assim como ao seu crescimento e adaptação a diferentes ambientes (Jesus e Marenco, 2008). De acordo com Castro et al. (2014), uma planta que apresenta uma maior concentração de clorofila a pode apresentar taxas de fotossíntese líquida mais elevadas, devido à maior eficiência do sistema fotossintético nos fotossistemas PSI e PSII. Dessa forma, a maior abertura estomática ocorrida nos tratamentos com inoculação, permitiu que mais moléculas de

CO<sub>2</sub> conseguissem adentrar e serem fixadas, através da eficiência de produção de energia causada pela maior presença de clorofilas nas folhas. Assim, a otimização do processo fotossintético permitiu a produção de mais fotoassimilados, resultando em um maior incremento de biomassa.

O incremento na parte aérea, assim como do número de folhas e aérea foliar pode ser associado a capacidade das rizobactérias de induzir a síntese de giberelinas e citocininas que regulam a expansão foliar e síntese de clorofilas (DODD *et al.* 2010; KANG *et al.* 2014). O maior número de folhas foi obtido apenas com a UFRAB01, entretanto as demais rizobactérias e fungos induziram maior área foliar que resultou em maior crescimento da parte aérea e acúmulo de biomassa das folhas. Esses benefícios podem ser atribuídos a capacidade das rizobactérias de sinalizar a rota de biossíntese de giberelina e citocinina (CHAUHAN *et al.* 2015). Cardoso *et al.*, 2021 trabalhando com microrganismos observaram que houve a promoção do crescimento de mudas de coqueiro com aumentos significativos no peso de matéria seca da parte aérea (47%), peso de matéria seca da raiz (122%), peso de matéria seca total (35%), altura (26%) e diâmetro (30%) em comparação com o tratamento controle.

A maior área foliar influencia diretamente na maior captação de luz e assimilação de CO<sub>2</sub> (ZHANG *et al.* 2017). Todos os promotores de crescimento induziram aumento na assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), condutância estomática (gs) e transpiração (E) em relação as plantas controle. Esta resposta sugere que as etapas importantes da fotossíntese foram potencializadas pelos promotores, como por exemplo uma possível modulação da atividade da enzima Rubisco, vital para a fixação da molécula de dióxido de carbono. Assim, os resultados sugerem uma melhor integridade do aparato fotossintético que pode contribuir para a melhoria na atividade de assimilação do CO<sub>2</sub> e produção de fotoassimilados.

A maior assimilação de CO<sub>2</sub> (A) pode ser atribuído ao maior grau de abertura dos estómatos (gs), o qual permite a maior entrada de CO<sub>2</sub> nas folhas e favorece o aumento da fotossíntese líquida. Em plantas de arroz inoculadas com rizobactérias foi observado aumento na taxa de fotossintética líquida, o qual foi atribuído a influência positiva na abertura e fechamento dos estômatos, que afetou diretamente as trocas gasosas e contribuiu para o crescimento da planta (NASCENTE et al. 2016).

A maior abertura estomática, além de favorecer a entrada de CO<sub>2</sub> nas folhas, influencia diretamente na maior perda de água pela transpiração (SILVA *et al.* 2017). Neste estudo, a maior taxa de transpiração pode ser atribuída a maior abertura estomática induzida por todos os promotores de crescimento. A maior taxa de transpiração total induzida pelos promotores pode

ser atribuída, além da abertura estomática, a maior área foliar total e parte aérea. Quando se tem água em abundância e radiação solar incidente nas folhas, isso acaba favorecendo a alta atividade fotossintética, há elevada demanda por CO<sub>2</sub> dentro da folha, e os poros estomáticos se abrem amplamente, diminuindo a resistência estomática à difusão do CO<sub>2</sub> (Flexas *et al.* 2012). Nesta situação, há grandes perdas de água por transpiração, no entanto, quando se tem grandes quantidades de água se torna viável para a planta "trocar" por elementos da fotossíntese para incrementar no seu crescimento (TAIZ E ZEIGER, 2013; CASTRO *et al.*, 2019).

Não houve alterações na concentração intercelular de  $CO_2$  (Ci), entretanto, quando avaliamos isso combinado as outras variáveis fisiológicas verificamos que mudas bioestimuladas possuíram uma melhor eficiência do aparato fotossintético pois induziram aumento na assimilação líquida de CO2 (A), condutância estomática (gs) e transpiração – (E). Esses benefícios podem suceder em maior produção de fotoassimilados, os quais podem ser alocados para plantas para sustentar o crescimento ou serem assimilados em produtos de reservas ou ser utilizados pelos promotores pelos exsudados radiculares (SILVA et al. 2017).

Todas as plantas bioestimuladas apresentaram redução no teor de açúcares solúveis totais. Segundo Smeekens (2015), esses açúcares são utilizados para produção de energia através da respiração celular, transformando glicose em dióxido de carbono e água, liberando energia que é usada para impulsionar os processos de crescimento. Além disso, os AST são convertidos em diferentes tipos de compostos orgânicos, como amido, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, que são essenciais para o crescimento celular e a formação de tecidos vegetais (ROLLAND *et al.*,2006; RUAN, 2014). Nesse contexto, pode-se inferir que o menor teor de AST nos tratamentos com inoculação se dá pela sua conversão em incremento de biomassa, resultando no aumento dos parâmetros de altura, diâmetro do coleto, número de folhas e comprimento da raiz.

Os tratamentos com FT12 e UFRAB124 apresentaram menor concentração de amido com relação ao controle. Isso pode ser explicado pois, ao longo do período diurno, as plantas armazenam o excesso de produtos gerados pela fotossíntese na forma de amido. Esse amido é uma reserva de energia que é utilizado quando a luz solar não está disponível para a realização da fotossíntese. Durante esse processo, o amido é convertido em açúcares mais simples, como glicose e frutose, que são transportados para fora dos cloroplastos e transformados em sacarose. Essa estratégia permite suprir as necessidades energéticas das plantas quando a maquinaria fotossintética não está em funcionamento (Smirnova, Fernie e Steup, 2015). A elevada concentração de amido em mudas de dendê provavelmente está relacionada com os tecidos de

reserva, no caso das palmeiras, o haustório, que detém grande quantidade desse carboidrato nesse estágio, corroborando com os resultados de concentrações de amido em plântulas das espécies de palmeira *Butia capitata* (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e *Acrocomia aculeata* (BICALHO *et al.*, 2016). Shoresh e Harman (2008) observaram que o aumento do amido em mudas de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum* estava relacionada com o conteúdo de gliceraldeído-3-P-desidrogenase (GAPDH) que é uma enzima essencial na via glicolítica e essa via está intimamente relacionada a síntese de amido.

#### 2.5 CONCLUSÃO

O melhor desempenho fotossintético induzido pela inoculação dos microrganismos em mudas de palma de óleo induziram a promoção de crescimento da cultura. Provavelmente, alguns mecanismos fisiológicos que envolvem a modulação da assimilação de CO<sub>2</sub> e mobilização dos fotoassimilados podem estar sendo ativados pelos microrganismos para sustentar a grande demanda de energia necessária para o maior crescimento.

O maior crescimento das mudas inoculadas com microrganismos pode contribuir para a uma melhor qualidade na produção de mudas com menor tempo de viveiro. A inoculação dos microrganismos pode ser utilizada com uma tecnologia limpa que contribui para o manejo sustentável da produção de mudas de Palma de Óleo em viveiros.

## REFERÊNCIAS

AZARMI, R.; HAGIEGHRARI, B.; GIGLOU, A. (2011). Effect of Trichoderma isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 5850-5855. doi:10.5897/AJB10.1600

BENDER, S.F., WAGG, C., VAN DER HEIJDEN, M.G.A., 2016. **An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability**. Trends Ecol. Evol. (Amst.) 31, 440–452. <a href="https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.016">https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.016</a>

BENINCASA MMP (1988) **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. FUNEP, Jaboticabal

CASTRO, G.L.S. *et al.*, 2019. Açaí palm seedling growth promotion by rhizobacteria inoculation. **Braz. J. Microbiol**. 1–12. https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2.

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.

CARDOSO, A. F. *et al.* Bacillus cereus Improves Performance of Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. **Frontiers in Plant Science**, V.12, 2021.https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2021.649487.

CASTRO, F.A., *et al* (2014) Portable chlorophyll meter (PCM-502) values are related to total chlorophyll concentration and photosynthetic capacity in papaya (Carica papaya L.). **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, 12p

CHAGAS, K. P. T. Das *et al.* The phenology of oil palm and correlations with climate variables. **Ciencia Florestal**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 1701–1711, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.5902/1980509822640. Acesso em: 8 abr. 2020.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. **CNA debate impactos do aumento dos preços dos fertilizantes para o produtor**. [*S. l.*], 24 maio 2022. Disponível em: https://cnabrasil.org.br/noticias/cna-debate-impactos-do-aumento-dos-precosdos-fertilizantes-para-o-produtor. Acesso em: 20 jul. 2023.

DODD, I. C., ZINOVKINA, N. Y., SAFRONOVA, V. I., BELIMOV, A. A. (2010) Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Ann Appl Biol** 157:361–379. doi: 10.1111/j.1744-542 7348.2010.00439.x

DUTTA, S. et al. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): the bugs to debug the root zone. v. 7828, 2010.

GLICK BR (2012) Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica (Cairo)** 2012:1–15. doi: 10.6064/2012/963401

GEORGE, P.; GUPTA, A.; GOPAL, M. et al (2013) Multifarious beneficial traits and plant growth promoting potential of Serratia marcescens KiSII and Enterobacter sp. RNF 267 isolated

- from the rhizosphere of coconut palms (Cocos nucifera L.). **World J Microbiol Biotechnol** 29:109–117. https://doi.org/10.1007/s11274-012-1163-6.
- GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, S.; SHIN, H.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p. 131-140, 2018.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. Phytopathology, [S. 1.], v. 60, n. 6, p. 969–976, 1970. Disponível em: https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969.
- KANG, S. M., KHAN, A. L., YOU, Y. H., *et al* (2014) Gibberellin production by newly isolated strain Leifsonia soli SE134 and Its potential to promote plant growth. **J Microbiol Biotechnol** 24:106–112. doi: 10.4014/jmb.1304.04015.
- LIMA, J. V. *et al.* Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. **Scientia Horticulturae**.Volume 264, 2019, 109161, ISSN 0304-4238. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161.
- MEYER, M. C. *et al.* **Trichoderma: uso na agricultura**. *In*: MEYER, M. C. *et al.* editores técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 538 p.
- NASCENTE A. S.; DE FILIPPI M. C. C.; LANNA A.C.; *et al* (2016) Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganismo growth promoters. **Environ Sci Pollut Res** 24:2956–2965. doi: 10.1007/s11356-016-8013-2.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.
- RÊGO, M. C. F. *et al.* Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**, [S. l.], v. 2014, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2014/818797.
- RIBAS, P. P.; RECH, R.; MATSUMURA, A. T. S.; VAN DER SAND, S. T. Potencial in vitro para solubilização de fosfato por Trichoderma spp. **Revista brasileira de biociências**, v. 14, n.2, p. 70-75, 2016.
- SATTAR, A., *et al*, 2019. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: a review. **Agric. Ecosyst. Environ. Appl. Soil Ecol**. 133, 146–159. <a href="https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.012">https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.012</a>.
- SYAFIQ, T.; NUSAIBAH, S. A.; RAFII, M. Y. Effectiveness of Bioinoculants Bacillus cereus and Trichoderma asperellum as Oil Palm Seedlings Growth Promoters. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 44, p. 157-170, 2021
- RUAN, Y. L. (2014). Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling. **Annual Review of Plant Biology**, 65, 33-67.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. (2009) Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed. 819p.
- SMEEKENS, S. (2015). Sugar-induced signal integration in plants. **Annual Review of Plant Biology**, 66, 119-151.

ROLLAND, F., BAENA-GONZÁLEZ, E., & SHEEN, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, 57, 675-709.

3. ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR MICRORGANISMOS EM MUDAS DE PALMA DE ÓLEO SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO

#### RESUMO

A Palma de óleo (Elaeis guineensis) é a cultura oleaginosa mais produtiva do mundo, conhecida por produzir um óleo de alto valor econômico. Indonésia e Malásia são os principais produtores globais de óleo de palma, enquanto o Estado do Pará é responsável por mais de 95% da produção brasileira. Nesse estudo, foi avaliado o efeito da inoculação de microrganismos e do déficit hídrico nas mudas de palma de óleo. O experimento foi realizado em casa de vegetação com um delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram na inoculação dos microrganismos UFRAB01 e MIX de Trichoderma Asperellum, além de um grupo controle não inoculado. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, e as mudas foram submetidas a irrigação plena ou déficit hídrico de -2,5 MPa. Os resultados mostraram que a inoculação de UFRAB01 e MIX aumentou a altura e o diâmetro do coleto das mudas, independentemente da disponibilidade hídrica. O déficit hídrico levou a uma redução do potencial hídrico em todas as mudas, sendo a maior redução de 75% observada no grupo controle. A fotossíntese líquida foi significativamente reduzida pelo déficit hídrico, mas a inoculação de UFRAB01 e MIX conseguiu atenuar essa redução, mantendo as maiores médias, cerca de 63% mais altas em comparação com o controle. A condutância estomática e a transpiração também foram reduzidas pelo déficit hídrico, mas a inoculação de UFRAB01 e MIX ajudou a regular esses processos, aumentando a eficiência do uso da água em 23% e elevando a carboxilação em 51% em relação ao controle. Em relação à peroxidação lipídica (medida pelo teor de MDA), a inoculação dos microrganismos não apresentou alterações significativas. Isso pode ser devido à ativação insuficiente da enzima APX para mitigar os danos aos lipídios de membrana causados pelo déficit hídrico (-2,5 MPa). No entanto, outros sistemas de defesa não enzimáticos podem ter sido ativados para proteger o sistema fotossintético. Portanto, o déficit hídrico tem um impacto negativo significativo no desempenho fotossintético das mudas de palma de óleo. No entanto, a inoculação dos microrganismos foi capaz de

39

amenizar os danos no sistema fotossintético, mantendo maiores médias de fotossíntese líquida

em comparação com as mudas não inoculadas. É possível que respostas mais efetivas dos

microrganismos possam ocorrer em níveis menos severos de déficit hídrico.

Palavras-chaves: Elaeis guineensis, Bioestimulantes, Fotossíntese, Seca.

#### ABSTRACT

Oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) is the most productive oil crop in the world, known for producing a high-value economic oil. The largest producers of palm oil are Indonesia and Malaysia. The state of Pará accounts for over 95% of the national production. The seedling production phase of oil palm is considered crucial, and adequate water supply is essential as it directly affects physiological processes. The objective of this study was to evaluate the biometrics, gas exchange, water potential, lipid peroxidation, and activation of antioxidant enzymes in oil palm seedlings inoculated with microorganisms and subjected to water deficit. The experiment was conducted in a greenhouse using a completely randomized design. The treatments consisted of inoculation with the microorganisms UFRAB01 and a MIX of Trichoderma Asperellum (T06, T09, T12, and T52), along with a control (non-inoculated), with five replicates, in oil palm seedlings subjected to full irrigation or water deficit (-2.5 MPa). The data were subjected to analysis of variance, and means within each water condition were compared using Duncan's test (P < 0.05). Inoculation with UFRAB01 and MIX increased the height and stem diameter of the seedlings regardless of the water condition. Water potential decreased in all seedlings subjected to water deficit, with the highest reduction of 75% observed in the control seedlings. Net photosynthesis was drastically reduced by water deficit, but inoculation with UFRAB01 and MIX alleviated this reduction and maintained the highest means, approximately 63% higher compared to the control. Stomatal conductance and transpiration were reduced by water deficit, but inoculation with UFRAB01 and MIX regulated these processes, increasing water use efficiency by 23% and enhancing carboxylation by 51% compared to the control. Lipid peroxidation (MDA) was not altered by the inoculation of microorganisms, likely because the activation of the APX enzyme was insufficient to mitigate damage to membrane lipids under this level of water deficit (-2.5 MPa). However, other nonenzymatic defense systems may have been activated to mitigate damage to the photosynthetic machinery. Therefore, water deficit severely impairs the photosynthetic performance of all oil palm seedlings, and inoculation with microorganisms mitigates damage to the photosynthetic apparatus, maintaining higher net photosynthesis compared to non-inoculated seedlings. It is possible that more pronounced responses from microorganisms may occur at less severe levels of water deficit.

**Keywords:** *Elaeis guineensis*, Biostimulants, Photosynthesis, Drought.

# 3.1 INTRODUÇÃO

A cultura *Elaeis guineensis* Jacq., popularmente conhecida como dendê ou palma de óleo, tem origemno continente africano e é pertencente à família Arecaceae. Dentre as culturas oleaginosas, é a mais produtiva do mundo, se destacando por produzir um óleo de alto valor econômico, com potencial para a produção de biodiesel, além de ser muito utilizado na produção de gêneros alimentícios e outros ramos (CHAGAS *et al.*, 2019).

Os maiores produtores de óleo de palma são a Indonésia e a Malásia, que responderam por 58 e 26%, respectivamente, da produção global total de óleo de palma em 2020 (USDA-FAS, 2021). No Brasil a área cultivada é cerca de 170 mil hectares, do qual o Estado do Pará corresponde a mais de 95% da produção nacional (FAPESPA, 2015).

A fase de produção de mudas da palma de óleo é considerada de extrema importância, visto que mudas bem cuidadas irão ter maiores condições de sobreviver no campo e serão mais resistentes (AKPO *et al.*, 2014). Visto isso, é essencial o suprimento hídrico nessa fase uma vez que a disponibilidade hídrica é o principal fator limitante na qualidade das mudas de palma de óleo (KALLARACKAL; JEYAKUMAR; GEORGE, 2004).

Segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia (2020), entre os meses de junho e outubro o estado do Pará sofre com a diminuição dos índices pluviométricos, justificada pela queda de aproximadamente 350 mm de chuva em relação aos períodos de maior pluviosidade, possibilitando a ocorrência de deficiência hídrica nos cultivos de palma de óleo. Nas condições de déficit hídrico, as plantas irão desenvolver mecanismos de defesa nos processos fisiológicos, estes mecanismos atuam na respiração, fotorrespiração, fotossíntese, atividades enzimáticas e metabólicas (MENEZES-SILVA *et al.*, 2017). Em ensaios com mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico, Silva *et al.* (2017) verificou que as reduções da taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração afetaram o crescimento das mudas.

Uma alternativa ao problema 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, conferindo uma melhor eficiência nesse sentido (SARAVANAKUMAR *et al.*, 2011). Esses microrganismos estão presentes naturalmente na solução do solo que colonizam as raízes das plantas estabelecendo uma interação biótica que irá produzir metabólitos, além de contribuir para o crescimento do sistema radicular (GROVER *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2020).

Dessa forma,os microrganismos surgem com uma alternativa para fatores abióticos que venham a interferir na produção vegetal. Tanto no açaizeiro (CASTRO *et al.*, 2019), como no milho (FAN *et al.*, 2015) as plantas bioestimuladas com promotores de crescimento, submetidas ao déficit hídrico, mantiveram o desempenho fotossintético e mitigaram o efeito da escassez de água. A hipótese do estudo refere-se à inoculação dos microrganismos como mitigadora dos danos no aparato fotossintético provocados pelo déficit hídrico. O objetivo do estudo foi avaliar o crescimento e o desenvolvimento, desempenho fisiológico e bioquímico em mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

## 3.2.1 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Proteção de Plantas (LPP/UFRA) e em casa de Vegetação localizada em Belém-PA, (01°27'29"S, 48°26'06"W), com área de aproximadamente 70m², composta por porta e paredes com estrutura em madeira e telas de aço, telhado em lona, 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 experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram compostos pela inoculação dos microrganismos (UFRAB01 e MIX) e um controle (não inoculado), sendo cinco repetições por tratamento e uma muda por unidade experimental. As mesmas mudas inoculadas e controle foram avaliadas no tempo inicial, quando estava com irrigação plena, e após 32 dias sem irrigação (déficit hídrico) quando atingiram o potencial hídrico de -2,5 MPa. As médias dos tratamentos e controle foram comparados dentro de cada tempo, sendo inicial (irrigado) e final (déficit hídrico).

#### 3.2.2 MATERIAL VEGETAL

Sementes de palma de óleo (genótipo Compacta-Ghana) foram semeadas em bandejas contendo substrato composto de fibra de coco triturada (Golden Mix Misto). Aos 30 dias após a germinação, as plântulas que apresentaram duas folhas expandidas e altura próxima de 12 cm foram transplantadas para sacos de plástico (45 x 60 cm, comprimento x altura) com volume de 34,33 dm³ contendo substrato composto de 60% de Oxisol e 40% de cama de aviário curtida. O cultivo foi realizado em casa de vegetação da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém, PA, (1° 27' 13.234" S, 48° 26' 32.658" W) que apresenta características climáticas do

tipo AFI de acordo com a classificação de Koppen-Geiger. Durante o período as condições ambientais foram de  $33 \pm 2^{\circ}$  C de temperatura do ar,  $74 \pm 4\%$  de umidade relativa,  $2 \pm 0.2$  kPa de DPV do ar e  $900 \pm 100$  µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiação incidente. O pH do substrato e as concentrações de macro e micronutrientes foram ajustadas conforme recomendações (Silva Cravo *et al.* 2007). As plantas foram irrigadas diariamente por gotejamento autocompensados para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do solo próximo da capacidade de pote, sendo esta mensurada a partir do peso das unidades experimentais (Klar *et al.* 1966).

#### 3.2.3 MICRORGANISMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO

As bactérias UFRABA01 (*Bacillus amyloliquefaciens*), e o fungos mix (*Trichoderma asperellum* T06, T09, T12 E T52) obtidos e armazenados no banco de microorganismos do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP) localizada na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). As rizobactérias foram cultivadas em meio sólido 523 (KADO; HESKETT, 1970) durante 48 h a 28 ° C. As suspensões bacterianas foram preparadas com água destilada e esterilizada e foram ajustadas no espectrofotômetro para absorbância de 0,1 a 550 nm, que corresponde a uma densidade de suspensão bacteriana de 10 –8 UFC. mL <sup>-1</sup>. Os isolados do fungo de *Trichoderma* foram cultivados em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) incubadas durante cinco dias a 28° C, onde foi preparado de cada isolado uma suspensão na concentração de 108 conídios/ml (RÊGO *et al.*, 2014).

# 3.2.4 INOCULAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

As plântulas tiveram suas raízes padronizadas através do corte com uma tesoura e antes do transplantio para os sacos plásticos com o substrato, foram imersas na suspensão bacteriana e fúngica durante 20 min. As mudas controle foram imersas em meio de cultura líquido 523 (KADO; HESKETT, 1970) sem a inoculação dos microrganismos. Após isso, foram realizadas três inoculações aos 15, 30 e 45 dias após o plantio, adicionando 100 mL da suspensão bacteriana e fúngica na base da planta para avaliar a resposta na planta e a promoção do crescimento vegetal (LIMA *et al.*, 2020).

# 3.2.5 IMPOSIÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO

A imposição do déficit hídrico foi realizada a partir do sétimo mês após a inoculação dos microrganismos. As mudas foram irrigadas diariamente para manter o solo próximo de 100% da capacidade de pote (CP), a qual foi obtida através da pesagem dos sacos + solo +

muda, conforme descrito por Klar *et al.* 1966. Em seguida, a irrigação foi suspensa até as mudas não inoculadas atingirem o potencial hídrico de aproximadamente -2,5 Mpa no período da antemanhã, cerca de 32 dias. As avaliações fisiológicas e coleta de amostras para análises bioquímicas foram realizadas no tempo inicial, com as mudas irrigadas, e no tempo final, após os 32 dias de imposição do déficit hídrico com as mesmas mudas. As condições ambientais da casa de vegetação foram de 33  $\pm$  1 °C de temperatura do ar, 58  $\pm$  5% de umidade relativa do ar, 480  $\pm$  132  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de radiação incidente e déficit de pressão de vapor de ar de 2,4  $\pm$  0,4 kpa.

#### 3.2.6 BIOMETRIA

A altura das mudas foi mensurada com régua metálica graduada, enquanto o diâmetro do coleto foi mensurado com paquímetro digital (precisão de 0,02 mm). O número de folhas foi avaliado através da contagem direta das folhas emitidas (BENINCASA, 1988).

#### 3.2.7 TROCAS GASOSAS E TEOR DE CLOROFILAS TOTAIS

As trocas gasosas foram avaliadas na segunda folha fisiologicamente madura e expandida, do ápice para a base, aos sete meses após a inoculação dos microrganismos e trinta dias após a imposição do déficit hídrico. A assimilação líquida de  $CO_2$  (A), condutância estomática ao vapor de água ( $g_s$ ), concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ), taxa de transpiração (E) e eficiência instantânea do uso da água (A/E) foram medidos entre 10:00 e 12:00h usando um sistema de troca de gás de fluxo aberto portátil (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob uma concentração externa de  $CO_2$  de 400 µmol mol $^{-1}$  de ar e PAR artificial de 1000 µmol de fótons m $^{-2}$  s $^{-1}$ . Este intervalo de medição (10:00 - 12:00h) foi ajustado de acordo com a curva diurna de trocas gasosas obtida previamente para a espécie. Todas as medidas foram realizadas com temperatura do ar de 33 ± 1 ° C, umidade relativa do ar de 55 ± 5%, radiação incidente de 480 ± 131 µmol m $^{-2}$  s $^{-1}$  e déficit de pressão de vapor de ar de 2,5 ± 0,5 kPa. A quantidade de luz azul foi ajustada para 10% do PAR para otimizar a abertura estomática. O conteúdo relativo de clorofilas foi estimado inicialmente pelo clorofilômetro 258 (SPAD-502) nas mesmas folhas utilizadas para as medidas das trocas gasosas.

### 3.2.8 POTENCIAL HÍDRICO

Entre 10:00 e 12:00h, simultaneamente com as avaliações das trocas gasosas, a terceira folha foi coletada para a mensuração do potencial hídrico (Ψw), realizada com uma bomba de

pressão do tipo Scholander (m670, Pms Instrument Co., Albany, EUA) conforme descrito por Pinheiro *et al.* (2008).

## 3.2.9 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os danos aos lipídeos de membrana, foram mensurados através dos teores de aldeído malônico (MDA), substância resultante da degradação da membrana citoplasmática através da reação com as espécies reativas de oxigênio. A extração foi feita conforme descrito por Cakmak e Horst (1991). Amostras do tecido vegetal liofilizadas (0,15g) foram trituradas em tubos eppendorf e homogeneizadas em 250 µL de ácido tricloroacético 0,1% (p/v) e o homogenato centrifugado a 13.000 rpm, por 15 min, a 4°C. O sobrenadante foi coletado e a uma alíquota de 50 µL deste foi adicionado 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. A reação foi paralisada por imersão dos tubos em banho de gelo e a mistura clarificada por centrifugação a 13.000rpm, por 4 min, a 4°C. A absorbância (ABS) das amostras foi determinada em um espectofotômetro (Multiskan GO 3.2) a 532 e a 600 nm. O coeficiente de extinção molar do MDA (155 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) foi utilizado para os cálculos e os resultados expressos em nmol MDA g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS).

## 3.2.10 ENZIMAS ANTIOXIDANTES

A peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) e a catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foram extraídas a partir de 0,15 g de massa liofilizada e trituradas em, 200 μL 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 13.000 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 μL do extrato enzimático (Nakano e Asada, 1981). Para os cálculos, 1 unidade (U) de APX é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μmol de ascorbato min<sup>-1</sup>. O meio de reação da CAT foi constituído de 50 mM de TFK (pH 7,0) e H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> 12,5 mM; e a reação foi iniciada pela adição de 3 μL de extrato. A atividade da CAT foi determinada pelo monitoramento do decréscimo da ABS a 240 nm (Havir e Mchale, 1987) e para os cálculos será considerado que 1 U de CAT é a quantidade de enzima capaz de oxidar 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup>.

## 3.2.11. ANÁLISES ESTATÍSTICA

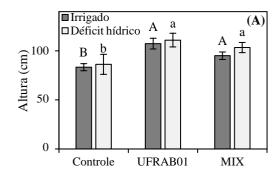
Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de médias de Duncan,  $P \le 0,05$  com auxílio do software R (R Core Team, 20). Para representação dos dados obtidos, foram calculados média e erro padrão, além da construção de gráficos no programa EXCEL, versão Microsoft 365.

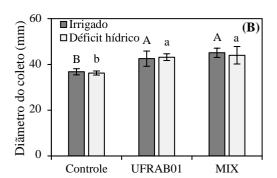
#### 3.3 RESULTADOS

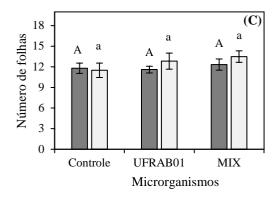
### 3.3.1 BIOMETRIA

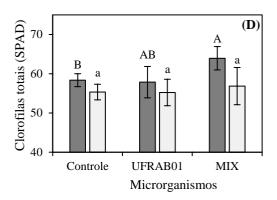
As mudas irrigadas e inoculadas com UFRAB01 e MIX aumentaram, em média, 26% a altura e 19% o diâmetro do coleto em relação ao tratamento não inoculado (controle) em ambas as condições (Figura 6A, 6B). O conteúdo de clorofilas totais aumentou apenas nas mudas inoculadas com MIX, sendo maior em 10% comparado ao controle. (Figura 1D). As mudas submetidas ao déficit hídrico e inoculadas com UFRAB01 e MIX aumentaram, em média, 24% a altura e 20% o diâmetro do coleto em relação ao controle (Figura 6A, 6B). O número de folhas e conteúdo relativo de clorofilas não foram alterados na condição de déficit hídrico. Semelhantemente, não houve alterações nas variáveis biométricas quando as comparações foram realizadas para o mesmo tratamento nas condições de irrigado e déficit hídrico.

**Figura 6**- Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre Altura (A), diâmetro do coleto (B), número de folhas (C) e clorofilas totais (D) em mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico.







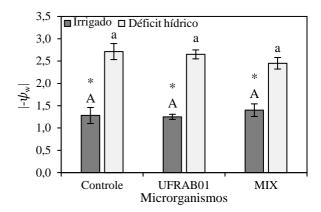


Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microrganismos para mudas irrigados, e letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microganismos para mudas em déficit hídrico de acordo com o teste Duncan (P < 0.05).

## 3.3.2 POTENCIAL HÍDRICO

As mudas inoculadas com UFRAB01 e MIX, nas condições de irrigadas ou em déficit hídrico, não alteraram o potencial hídrico foliar em relação ao controle (não inoculado). Entretanto, quando as comparações foram realizadas para o mesmo tratamento nas condições de irrigado e déficit hídrico foram observados aumentos do potencial hídrico nas mudas sob déficit hídrico, sendo de 126% para o controle, 112% para UFRAB01 e apenas de 75% para o MIX em relação as mudas irrigadas.

**Figura 7**- Potencial hídrico em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico.



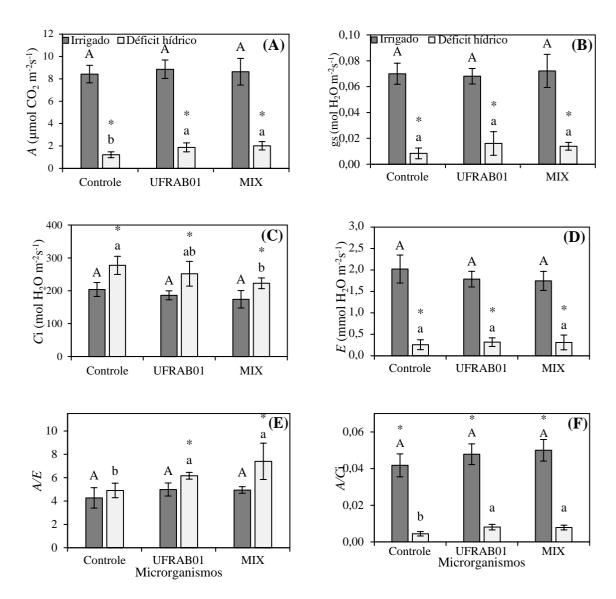
Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microrganismos para irrigado (IRR), e letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microganismos para déficit hídrico (DH) de acordo com o teste Duncan (P < 0.05). Asterístico "\*" indicam diferenças significativas entre médias de irrigado e déficit para o mesmo tratamento, pelo teste t de Stundet pareado (P < 0.05).

#### 3.3.3 TROCAS GASOSAS

As mudas irrigadas e inoculadas com UFRAB01 e MIX não modificaram os parâmetros de trocas gasosas (Figura 8A, 8B, 8C, 8D, 8E e 8F). As alterações desses parâmetros foram observadas para as mudas inoculadas com UFRAB01 e MIX na condição de déficit hídrico. A fotossíntese líquida aumentou em 58% para as mudas inoculadas com UFRAB01 e em 67% para as mudas inoculadas com MIX em relação tratamento controle (Figura 8A). Da mesma forma, a eficiência do uso da água e eficiência de carboxilação da Rubisco aumentaram em 26% e 99%, respectivamente nas mudas inoculadas UFRAB01. Para as mudas inoculadas com MIX os aumentos foram de 51% para a eficiência do uso da água e 98% para a eficiência de carboxilação da Rubisco em relação as mudas controle (Figura 8E e 8F). A condutância estomática e a taxa de transpiração não foram afetadas nas mudas irrigadas e nem nas mudas sob déficit hídrico (Figura 8B e 8D). A concentração intercelular de CO<sub>2</sub> não foi alterada nas mudas irrigadas, porém na condição de déficit hídrico as mudas inoculadas com MIX diminuíram de 20% em relação ao controle (figura 8C).

As alterações mais contundentes foram observadas quando as comparações foram realizadas entre irrigado e déficit hídrico para o mesmo tratamento. A diminuição da fotossíntese líquida para mudas sob déficit hídrico foi de 600% para o controle, 368% para a UFRAB01 e 330% para o MIX em relação as mudas irrigadas. Semelhantemente, a condutância estomática diminuiu em 775% para o controle, 325% para UFRAB01 e 414% para o MIX. A transpiração diminuiu em 687%, 463% e 461% para controle, UFRAB01 e MIX, respectivamente. A eficiência de carboxilação da Rubisco diminuiu em 950%, 500% e 525% para controle, UFRAB01 e MIX, respectivamente. Os aumentos foram observados para a concentração intercelular e CO<sub>2</sub>, sendo de 357%, 353% e 279% para o controle, UFRAB01 e MIX, respectivamente. Para a eficiência do uso da água o aumento significativo foi observado apenas para UFRAB01, sendo 23% maior em relação as mudas irrigadas (Figura 8).

**Figura 8**- Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre [A] – Fotossíntese líquida de CO2 (A), [gs] – condutância estomática ao vapor d'água (B), [Ci] – concentração intercelular de CO2 (C), [E] – taxa de transpiração (D), [A/E] – eficiência do uso da da água (E) e [A/Ci] – eficiência de carboxilação da Rubisco (F) em mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico



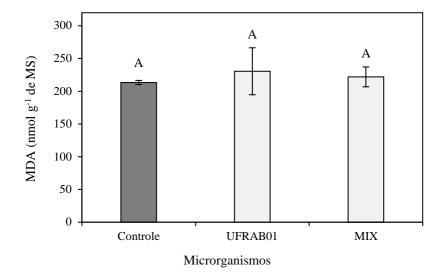
Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microganismos para irrigado (IRR), e letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microganismos para déficit hídrico (DH) de acordo com o teste Duncan (P < 0.05). Asterístico "\*" indicam diferenças significativas entre médias de irrigado e déficit para o mesmo tratamento, pelo teste t de Stundet pareado (P < 0.05).

# 3.3.4 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A peroxidação lipídica avaliada pelo teor de MDA, não diferiu entre mudas inoculadas com UFRAB01, MIX e controle na condição de déficit hídrico. Essa análise foi realizada apenas

no último dia experimental para quantificar o nível do estresse oxidativo provocado pela condição de seca (Figura 9).

**Figura 9-** Peroxidação lipídica em folhas de mudas de palma de óleo inoculadas com microrganismos e submetidas ao déficit hídrico.

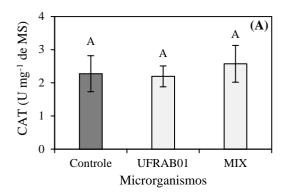


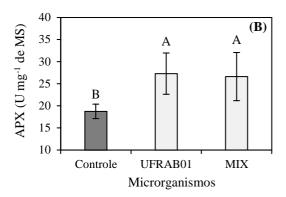
Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microrganismos para mudas sob déficit hídrico de acordo com o teste Duncan (P < 0.05).

### 3.3.5 ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Semelhante as análises de MDA, as enzimas antioxidantes, catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX), foram avaliadas no último dia experimental para quantificar a capacidade dos microrganismos de mitigar os efeitos do estresse oxidativo provocados pelo déficit hídrico. A atividade da enzima CAT não foi alterada pela inoculação de UFRAB01 e MIX em relação ao controle. Entretanto, a atividade da enzima APX foi maior em 46% para a UFRAB01 e 42% para o MIX em relação ao controle (Figura 10).

**Figura 10-** Efeito de microrganismos promotores de crescimento sobre Atividade das enzimas antioxidantes: [A] - Catalase (CAT) e [B] - Peroxidase do arcorbato (APX) em folhas de mudas de palma de óleo submetidas ao déficit hídrico.





Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias dos microrganismos para mudas sob déficit hídrico de acordo com o teste Duncan (P < 0.05).

## 3.4. DISCUSSÃO

O presente estudo relata pela primeira vez a mitigação dos efeitos negativos do déficit hídrico induzido por microrganismos em mudas de palma de óleo. A maior tolerância ao déficit hídrico induzidas por microrganismos já foi relatada em outras culturas, como açaizeiro (CASTRO et al. 2019) e milho (CARVALHO et al. 2013). Os microrganismos promotores de crescimento induzem modificações morfofisiológicas e bioquímicas nas plantas que auxiliam para a adaptação durante o período de limitação hídrica, como acúmulo de solutos osmorreguladores (Mohammadi et al. 2016) e ativação do sistema enzimático antioxidante (WANG et al. 2012).

Todos os microrganismos induziram aumento na altura da planta e diâmetro do coleto em condições de estresse. O crescimento da parte aérea, assim como o diâmetro do coleto pode ser atribuído a capacidade das rizobactérias de produzir a síntese de giberelinas e citocininas que regulam a expansão foliar e síntese de clorofilas (DODD *et al.* 2010; KANG *et al.* 2014). Cardoso *et al.* (2020) inoculando rizobactérias em mudas de coqueiro observaram aumento da altura (26%) e diâmetro (30%) em comparação com o tratamento controle.

A inoculação dos microrganismos do presente estudo resultou em melhoria do desempenho fotossintético nas mudas de palma de óleo. As maiores taxas médias de assimilação de CO2 (A) foram nas mudas inoculadas com os microrganismos. Entretanto, quando observamos transpiração (E) e abertura dos estômatos (gs) notamos que não houve

diferença. As respostas fisiológicas de plantas de dendê submetidas a um único evento de déficit hídrico mostraram ai sensibilidade dessa palmeira à escassez de água no solo. Essa inferência é baseada em diminuições significativas nas principais variáveis de troca gasosa foliar como A, E e GS (FILHO et al., 2021), No entanto, é possível observar uma proteção do aparelho fotossintético causada pelos microrganismos, pois apesar que, em termos fisiológicos, a desidratação progressiva das folhas leva a diminuições na taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> (A) (SILVA et al., 2017), as plantas bioestimuladas conseguiram manter taxas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> maiores em relação ao tratamento controle em condição de deficiência hídrica. Além disso, os maiores valores de C<sub>i</sub> em plantas controle combinado ao aumento na assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) evidencia que mudas inoculadas possuíram uma melhor eficiência da carboxilação da rubisco e isso pode ser evidenciado na relação A/Ci que foi mais eficaz com a inoculação dos microrganismos sugerindo um melhor aproveitamento desse CO<sub>2</sub> mesofílico. Estudos semelhantes com cafeeiro observou que a restrição hídrica afetou a eficiência de carboxilação (A/Ci) no 17º dia de suspensão hídrica (-3,4MPa), isso indica que houve menor perda de água, resultando em uma maior taxa fotossintética, o que refletiu em maior eficiência do uso da água (SOUSA, 2012).

No presente estudo, não houve diferença nos valores de gs e E, esses resultados influenciam diretamente no maior uso e eficiência da água (A/E), evidenciando que em condições de restrição hídrica pode haver uma diminuição no consumo de água para melhorar os processos fisiológicos pois, o nível de abertura estomática (gs) foi eficiente para intercambiar a água perdida por mais  $CO_2$  fixado, que influenciou em maior A/E. Resultados semelhantes aumentaram A e E regulados por promotores de crescimento influenciam no aumento do A/E contribuem para melhorar tolerância das plantas ao déficit hídrico (ROLLI et al., 2015). Esses dados corroboram com Timmusk et al. (2014) onde trabalhando com plantas de trigo inoculadas com promotores de crescimento obtiveram maiores taxas fotossintéticas durante a suspenção da irrigação.

Em condições de déficit hídrico, a limitação estomática reduz a concentração de CO<sub>2</sub> mesofílico e dificulta a atividade de carboxilação do ciclo de Calvin (CASTRO *et al.*, 2019). Por consequência, o ATP e NADPH realizado nas reações fotoquímicas deixam de ser utilizados e o elétrons livres reagem com o oxigênio molecular livre, produzindo as espécies reativas de oxigênio (EROs) (Baxter e Stewart, 2013). As EROs existem basicamente sob quatro formas nas células: oxigênio singleto ( ${}^{1}O_{2}$ ), ânion superóxido ( $O_{2}$ ), peróxido de hidrogênio ( $O_{2}$ ) e radical hidroxila (OH) (Silva, 2017) (TAIZ & ZAIGER, 2013). Essas

moléculas são altamente reativas podendo causar dano as membranas (peroxidação de lipídios), danos ao DNA, oxidação de proteínas e inibição enzimática (MILLER *et al.* 2010).

No entanto, a planta ativa o sistema de defesa para reduzir esse estresse oxidativo por meio de um complexo antioxidativo enzimático que consiste em várias enzimas, dentre as principais, têm-se a dismutase do superóxido (SOD), a catalase (CAT), as peroxidases totais (POXs), a peroxidase do ascorbato (APX), a redutase da glutationa (GR) e a peroxidase da glutationa (GPX) (Huang *et al.*, 2013). Estas enzimas operam em diferentes compartimentos subcelulares, em ação conjunta contra o estresse oxidativo (SHARMA, 2012). A SOD consiste na primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênios, modificando o radical O<sub>2</sub>- em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A CAT e APX consistem na segunda linha de defesa e operam na quebra do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (MILLER *et al.* 2010).

No presente estudo, não foram identificadas diferenças significativas nos teores de MDA e catalase (CAT) possivelmente devido a severidade do estresse em que as plantas foram submetidas. Entretanto, houve diferença na atividade da enzima Ascorbato peroxidase (APX). Esses dados evidenciam que, para esse nível de déficit hídrico de -2,5 MPa, a ativação da enzima APX pelos microrganismos não foi suficiente para amenizar os danos oxidativos provocados aos lipídeos de membrana. Resultados similares foram encontrados com diferentes híbridos de palma de óleo observando que não houve sinais evidentes de peroxidação lipídica em plantas estressadas de BRS Manicoré até -3,9MPa (SILVA *et al.*, 2017). Diferindo de CASTRO *et al.*, 2019 observou que em mudas de açaizeiro inoculadas com diferentes espécies de promotores de crescimento em 50% CC, houve a maior atividade da SOD que contribuiu para diminuir os teores de MDA, indicando menor peroxidação lipídica, alívio do estresse oxidativo e atenuação da peroxidação lipídica pode ser relacionada com a maior atividade da CAT, enquanto para outra espécie de promotor esse mesmo efeito pode ser relacionado com a maior atividade da APX, sugerindo que cada microrganismo ativa uma rota metabólica diferente para aliviar os danos oxidativos.

Apesar da atividade da APX não conseguir diminuir os teores de MDA, no presente estudo, outros sistemas de defesa como o não enzimático, que envolvem a biossíntese de compostos antioxidante: carotenoides, violaxantinas, xantofilas e clorofilas, pode ter sido ativado pelos microrganismos para amenizar os danos oxidativos provocados pelo déficit hídrico. Esses compostos podem atuar como dissipadores do excedente de energia ao nível dos fotossistemas (PSII e PSI) para desviar elétrons e evitar a produção excessiva das espécies

reativas de oxigênio que causam danos celulares além dos lipídios de membrana (CARVALHO *et al.*, 2019).

## 3.5 CONCLUSÃO

O déficit hídrico prejudica drasticamente o desempenho fotossintético de todas as mudas de palma de óleo, e a inoculação dos microrganismos amenizam os danos no aparato fotossintético para manter as maiores médias de fotossíntese líquida em relação as mudas não inoculadas.

Provavelmente, mecanismos de defesa não enzimático foram ativados para amenizar os danos oxidativos no aparato fotossintético e, repostas mais contundente dos microrganismos podem ter ocorrido em níveis menos severos de déficit hídrico.

## **ANEXOS**

**ANEXO** A. Caracterização química do substrato utilizado no experimento.

Amostra	pН	Pmeh <sup>-1</sup>	<b>K</b> +	Ca	Mg	Al <sup>+3</sup>	H+Al
	CaCl <sub>2</sub>	mg dm <sup>-3</sup>	cmol/dm <sup>3</sup>				
0-20	5,1	51,9	0,59	3,7	2,6	0	3,7

**ANEXO B.** Características in vitro de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas pela cepa UFRAB01.

Microrganismo	Rizosfera	Solubilização de fosfato	Produção de sideróforos	Produção de AIA
UFRABA01 (B. amyloliquefaciens)	Palma de óleo	+	+	+

Solubilização de fosfato, produção de sideróforos, produção de AIA (LIMA et al 2020).

# **APÊNDICES**

**APÊNDICE A**. Características in vitro de rizobactérias e fungos promotoras de crescimento de plantas.

Microrganismo	Rizosfera	Solubilização de fosfato	Produção de sideróforos	Produção de AIA
UFRA B 124	Palma de óleo	-	+	+
Trichoderma Asperellum (MIX)	Palma de óleo			
Trichoderma spp. (FT12)	Arroz	+	-	

#### **REFERENCIAS**

- BENINCASA, M. M. P.; (1988) Análise de crescimento de plantas: noções básicas. FUNEP, Jaboticabal Baxter HL, Stewart CN (2013) Effects of altered lignin biosynthesis on phenylpropanoid metabolism and plant stress. **Biofuels** 4:635–650. doi: 10.4155/bfs.13.56.
- CARDOSO, A. F., ALVES E. C., DA COSTA S. D. A., MORAES, A. J. G., DA SILVA J. D. D., LINS, P. M. P., DA SILVA, G. B. Bacillus cereus Improves Performance of Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. **Frontiers in Plant Science**, V.12, 2021.https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2021.649487.
- CARVALHO, C. G; VELLOSO, C. C. V.; GODINHO, B. T. V.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. de P.; SOUSA, S. M. de. Efeitos de bactérias promotoras de crescimento em plântulas de milho sob estresse hídricoinduzido por Polietilenoglicol 6000. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2019. 29 p.: il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 196).
- 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.
- DODD, I.C.; ZINOVKINA, N. Y.; SAFRONOVA, V. I.; BELIMOV, A. A. (2010) Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Ann Appl Biol** 157:361–379. doi: 10.1111/j.1744-7348.2010.00439.x
- KANG, S. M.; KHAN, A. L.; YOU, Y. H., *et al* (2014) Gibberellin production by newly isolated strain Leifsonia soli SE134 and Its potential to promote plant growth. **J Microbiol Biotechnol** 24:106–112. doi: 10.4014/jmb.1304.04015
- LIMA, J. V. *et al.* Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. **Scientia Horticulturae**.Volume 264, 2020, 109161, ISSN 0304-4238. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161.
- LOPES FILHO, W. R. L., RODRIGUES, F. H. S., FERREIRA, I. V. L., CORREA, L. O., CUNHA, R. L., PINHEIRO, H. A. Physiological responses of young oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) plants to repetitive water deficit events. **Industrial Crops and Products**. V.172, 2021. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114052">https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114052</a>
- MILLER G., SUZUKI N., CIFTCI-YILMAZ S., MITTLER R. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant Cell Environ**, v.33, p.453–467, 2010.
- MOHAMMADI H, DASHI R, FARZANEH M, et al (2016) Effects of beneficial root pseudomonas on morphological, physiological, and phytochemical characteristics of Satureja hortensis (Lamiaceae) under water stress. **Brazilian J Bot**. doi: 10.1007/s40415-016-0319-2.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <a href="https://www.R-project.org/">https://www.R-project.org/</a>.
- RÊGO, M. C. F. *et al.* Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**, [S. l.], v. 2014, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2014/818797
- SHARMA, P., JHA, A.B, DUBEY, R.S., PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **J Bot**, 26 pages, 2012.
- SILVA, P.A., OLIVEIRA, I.V., RODRIGUES, K.C.B. et al. Leaf gas exchange and multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant strategies related to drought tolerance in two oil palm

hybrids. *Trees* **30**, p. 203–214, 2016. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1007/s00468-015-1289-x">https://doi.org/10.1007/s00468-015-1289-x</a>.

SILVA, P.A., COSME, V.S., RODRIGUES, K.C.B. *et al.* Drought tolerance in two oil palm hybrids as related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. *Acta Physiol Plant* **39**, p. 58, 2017. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1007/s11738-017-2354-4">https://doi.org/10.1007/s11738-017-2354-4</a>.

SOUZA, V. F.; Estudo de rede para compreender as respostas fotossintéticas de cafeeiro em condições de deficiência hídrica. In: Vinicius Fernandes de Souza — Lavras: UFLA, 2012. 56p.: il.

TAIZ, L. & ZEIGER. Fisiologia Vegetal.5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, p. 918, 2013.

TIMMUSK, S.; ABD EL-DAIM, I. A.; COPOLOVICI, L., *et al.* Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: Enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. **PLoS One,** n. 5, v. 9, p. 13, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0096086

WANG, C. J.; YANG, W.; WANG, C.; GU, C., NIU DD, LIU HX, et al. (2012). Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. **PLoS One**, n. 7, v. 12, e52565.