



**Ministério da Educação
Universidade Federal Rural da Amazônia
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

GLEICIANE RODRIGUES DOS SANTOS

ALTERAÇÕES RADICULARES E METABÓLICAS EM *Euterpe oleracea*

BIOESTIMULADA COM *Bacillus subtilis* (UFRA 92)

**BELÉM/PA
2022**

**Ministério da Educação
Universidade Federal Rural da Amazônia
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

GLEICIANE RODRIGUES DOS SANTOS

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doutor (a).

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gisele Barata da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Dalton Dias da Silva Júnior

**BELÉM/PA
2022**

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

S237a Santos, Gleiciane Rodrigues dos
ALTERAÇÕES RADICULARES E METABÓLICAS EM *Euterpe oleracea*
BIOESTIMULADA COM *Bacillus subtilis* (UFRA 92) / Gleiciane Rodrigues dos
Santos Santos. - 2022.

85 f. : il. color.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PGAGRO), Campus
Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2022.

Orientador: Gisele Barata da Silva Silva

Coorientador: Dalton Dias da Silva Júnior.

CDD 630.275

GLEICIANE RODRIGUES DOS SANTOS

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doutor (a).

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Gisele Barata da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Dalton Dias da Silva Júnior

Tese apresentada em: 19/05/2022.

ORIENTADORA:

Prof.^a Dr.^a Gisele Barata da Silva
Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Wagner Luiz Araújo - 1º Examinador
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Prof. Dr. Tercilio Calsa Júnior - 2º Examinador
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Hugo Alves Pinheiro - 3º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

Prof. Dr. Fábio Lopes Olivares - 4º Examinador
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

À Deus,

Aos meus pais, Gilberto José dos Santos e
Tania Maria Jaques Rodrigues,

O meu irmão Ramon Diego Rodrigues dos
Santos,

À minha família e amigos!

DEDICO

A resistência é o resultado de uma alma que não se conforma com o sofrimento, luta incansavelmente, superando as tribulações, vendo além das tempestades um caminho de luz e segurança. Essa alma cresce do tamanho de seus sonhos e vê nas dificuldades degraus para se alcançar a vitória almejada.

Harold Wilson

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por seu amor eterno e incondicional, e por possibilitar todas as minhas conquistas;

Obrigado, são também devidos aos meus pais, Gilberto José dos Santos e Tania Maria Jaques Rodrigues, que sempre me apoiaram e se empenharam no meu futuro.

Ao meu irmão, Ramon Diego Rodrigues dos Santos, pelos momentos de incentivo, de alegria, pela amizade, amor, apoio e carinho;

À minha avó, Maria de Assunção dos Santos, que sutilmente me deixou recentemente (*In memoriam*), mas tenho certeza de que vibra comigo a cada obstáculo vencido;

À minha orientadora Prof.^a Dra. Gisele Barata da Silva, pelo exemplo como pessoa e profissional, pela oportunidade, orientação, ensinamentos, apoio, confiança e amizade. Muito obrigada professora por todas as oportunidades e confianças depositadas foi uma grande parceria!

Agradeço ao meu coorientador, Prof. Dr. Dalton Dias da Silva Júnior, pelo apoio e participação ativa e direta no desenvolvimento deste trabalho, pela disponibilidade de tempo e assistência, e pela amizade;

Aos membros da banca de qualificação e defesa, que com suas contribuições pertinentes permitiram o aperfeiçoamento deste trabalho, especialmente ao Dr. Wagner Luiz Araújo, pelo auxílio na análise metabólica;

À professora Dra. Telma Batista, que sempre com bom humor, atitude, profissionalismo e empatia tem capacidade de agregar tudo a todos;

Aos professores Dr. Gledson Castro, Dra. Alessandra de Moraes e Dra. Marcela Rego, pelo apoio nas análises, companheirismo, conselhos e em especial pela amizade;

Ao técnico do Laboratório de Proteção de Plantas Fernando Sousa, por tantas conversas oportunas sobre pesquisa e sobre assuntos diversos, por todo apoio e amizade;

Aos meus amigos do Laboratório de Proteção de Plantas, em especial aos estagiários de graduação: Alice de Paula e Ricardo Chirstian e a nível de pós-graduação: Ana Paula Magno, Josiane Pacheco, Thayná Ferreira, Rafael da Costa, Matheus Yan Freitas; Rubson Leite, Diego Alves e Júnior Melo, muito obrigada pelo carinho, amizade e ajuda durante todos esses anos, pelas conversas, desabafos, enfim, por tornarem a execução deste trabalho mais divertida;

À Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, como instituição me proporcionou a oportunidade de realizar o doutorado, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e sua equipe de docentes e demais funcionários pelos ensinamentos e suporte constante;

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Neila Sardinha, por toda sua ajuda, carinho e amizade;

Aos amigos de fora do meio acadêmico, pela torcida e incentivos constantes;

À FAPESPA pela concessão da bolsa de estudo durante o doutorado;

A todos os demais que direta ou indiretamente contribuíram com ações que culminaram para este momento.

Muito obrigada!

LISTA DE ABREVIATURAS

AIA - Ácido indolacético

B – Boro

Fe – Ferro

F_v'/F_m' - Eficiência fotoquímica efetiva

K – Potássio

N – Nitrogênio

P – Fósforo

PGPR - Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas

PGRs - Reguladores de crescimento de plantas

QS - Quórum bacteriano

ROS - Espécies reativas de oxigênio

TCA - Ciclo do ácido tricarboxílico

UFRA 92 - *Bacillus subtilis*

Zn – Zinco

RESUMO GERAL

Estresses biótico e abiótico tem prejudicado o crescimento e desenvolvimento das plantas de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) na região Amazônica. Diante disso, pesquisas são realizadas, a fim de mitigar os efeitos da escassez hídrica e elevada demanda nutricional que consequentemente promovem o crescimento inicial lento. Algumas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) ganharam importância na agricultura para amenizar efeitos de estresse abiótico, evidenciando a sua utilização como estratégia sustentável para produção agrícola. No entanto, os mecanismos de ação dos bioestimulantes são enigmáticos, pois diferentes PGPRs podem interagir de forma singular com a planta de interesse, sendo esse o principal gargalo para sua utilização no setor agrícola. O objetivo deste estudo foi de avaliar as alterações no metabolismo primário (em nível bioquímico e fisiológico) e posteriormente caracterizar as alterações na arquitetura radicular em plantas de açaizeiro bioestimuladas com *Bacillus subtilis*. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado nas condições de viveiro com mudas de açaizeiro inoculadas com *B. subtilis* e mudas não inoculadas. O metabolismo das plantas de açaizeiro quando inoculadas com *B. subtilis* apresentou estímulo a biossíntese de fitohormônios, que consequentemente estimulou a maquinaria fotossintética, resultando em maior absorção de nutrientes e a síntese de compostos primários. É perceptível o aumento no teor de aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares solúveis que subsidiaram os mecanismos subjacentes à promoção de crescimento como a produção de energia e síntese proteica que permitem promover o crescimento da planta em maior proporção em relação as plantas não inoculadas. Resultando em acúmulo de biomassa da raiz, aumento na área superficial e aumento no número de pontas e ramificações das raízes laterais. A identificação dos metabólitos chave abre perspectivas de estudo para o crescimento e desenvolvimento de plantas mais responsivas a esse tipo de insumo e consequentemente mais adaptadas às condições adversas do ambiente.

Palavras-chaves: Açaizeiro, Bioestimulante, Sustentabilidade, Produtividade, Manejo

ABSTRACT

Biotic and abiotic stresses have impaired the growth and development of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) plants in the Amazon region. Therefore, research is underway to mitigate the effects of water scarcity and high nutritional demand that consequently promote slow initial growth. Some plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) have gained importance in agriculture to mitigate abiotic stress effects, highlighting their use as a sustainable strategy for agricultural production. However, the mechanisms of action of biostimulants are enigmatic, as different PGPRs can interact uniquely with the plant of interest, which is the main bottleneck for their use in the agricultural sector. The study objective was to evaluate the changes in primary metabolism (at the biochemical and physiological level) and subsequently characterize the changes in root architecture in açai plants' biostimulation with *Bacillus subtilis*. The experiment has been executed in a completely randomized design under nursery conditions with açai seedlings inoculated with *B. subtilis* and non-inoculated seedlings. The metabolism of the açai plants, when inoculated with *B. subtilis*, showed stimulation of the biosynthesis of phytohormones, which consequently stimulated the photosynthetic machinery, resulting in greater nutrient uptake and the synthesis of primary compounds. It is noticeable the increase in the content of amino acids, organic acids, and soluble sugars that subsidized the mechanisms underlying growth promotion such as energy production and protein synthesis, that allows the development of plant growth in higher proportion compared to uninoculated plants. Resulting in the accumulation of root biomass, increase in surface area, and increase in the number of lateral root tips and ramifications. Key metabolites open study perspectives for the growth and development of plants that are more responsive to this type of input and, consequently, more adapted to adverse environmental conditions.

Key words: Açai, Biostimulants, Sustainability, Productivity, Management

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	10
ABSTRACT	11
CONTEXTUALIZAÇÃO	14
REFERÊNCIAS	18
CAPÍTULO I - MODIFICAÇÕES NA ARQUITETURA RADICULAR DE MUDAS DE AÇAIZEIRO BIOINOCULADAS COM <i>Bacillus subtilis</i>	21
RESUMO	25
ABSTRACT	26
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 HIPÓTESE	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
3.1 Material vegetal	29
3.2 Obtenção e inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> (UFRA 92).....	29
3.3 Determinação da arquitetura do sistema radicular	30
3.4 Determinação do status nutricional	30
3.5 Análise estatística	31
4 RESULTADOS	31
4.1 Arquitetura do sistema radicular	31
4.2 Teor de nutrientes	33
4.3 Eficiência no uso de nutrientes.....	34
4.4 Análise de componentes principais (ACP).....	34
5 DISCUSSÃO.....	35
6 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO II - ALTERAÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS INDUZIDAS POR <i>Bacillus subtilis</i> E SEU IMPACTO NO CRESCIMENTO EM <i>Eutерpe oleracea</i> ...	46
RESUMO	51
ABSTRACT	52
7 INTRODUÇÃO.....	53
8 HIPÓTESE	54
9 OBJETIVOS.....	54
10 MATERIAIS E MÉTODOS.....	55

10.1 Material vegetal	55
10.2 Obtenção e inoculação de <i>Bacillus subtilis</i> (UFRA 92)	55
10.3 Avaliação de crescimento	56
10.4 Determinação de parâmetros de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila <i>a</i> ..	56
10.5 Determinação dos pigmentos fotossintéticos	57
10.6 Determinação do status nutricional	57
10.7 Coleta do material e análise bioquímica	57
10.8 Quantificação de glicose, frutose e sacarose	58
10.9 Quantificação de amido	59
10.10 Quantificação de fumarato e malato	59
10.11 Análise do perfil metabólico	60
10.12 Análise estatística	60
11 RESULTADOS	62
11.1 Níveis de metabólitos	62
11.2 Perfil metabólico em folhas de açazeiro	63
11.3 Análise de componentes principais (ACP)	65
11.4 Análise de crescimento	65
11.5 Fotossíntese, fluorescência da clorofila <i>a</i> e pigmentos	67
11.6 Teor de nutrientes	69
12 DISCUSSÃO	70
13 CONCLUSÃO	77
14 Material suplementar	78
REFERÊNCIAS	79

1 **CONTEXTUALIZAÇÃO**

2 O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), é uma palmeira nativa da região Amazônica e
3 possui destaque na economia nacional e internacional. Em 2019, foram cultivados cerca de
4 1,4 milhões de toneladas de frutos, em uma área plantada que supera os 200 mil hectares
5 entre áreas de açazais nativos e de terra firme manejada. Na Amazônia brasileira, concentra-
6 se os maiores plantios comerciais de açaizeiro, sendo a região Norte, principalmente o estado
7 do Pará, o principal produtor do fruto, cerca de 94,41%, enquanto os demais estados
8 representam 5,59% (IBGE 2019).

9 Apesar de sua relevância econômica para Amazônia, a expansão dos plantios
10 comerciais em terra firme é limitado pela constante ocorrência de problemas fitossanitários
11 como a antracnose (Castro et al. 2017; dos Santos et al. 2022), a qual promove redução na
12 assimilação líquida de carbono e na fluorescência da clorofila *a*, sendo que, na maioria dos
13 casos, a limitação é atribuída na maquinaria fotossintética do açaizeiro (Castro et al. 2017).
14 Além disso, outros fatores limitam a produção de mudas como o processo de germinação
15 das sementes de açaí que é lenta e desuniforme (Nascimento et al. 2007), o crescimento
16 inicial lento (Silvestre et al. 2016), a sensibilidade ao déficit hídrico (Silvestre et al. 2017;
17 Oliveira et al. 2019) e baixa fertilidade (Araújo et al. 2016).

18 Algumas estratégias têm sido utilizadas para controlar os efeitos negativos dos
19 estresses bióticos e abióticos em plantas de açaizeiro, tais como a criação de variedades
20 tolerantes como o BRS-Pará e BRS-Pai d'Égua, ambas cultivares foram lançadas pela
21 Embrapa Amazônia Oriental, e são os únicos materiais vegetais registrados pelo Ministério
22 da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo considerados altamente
23 produtivas no período da restrição hídrica (e.g., junho a dezembro), época em que os preços
24 são mais elevados (Oliveira and Farias Neto 2004; Farias Neto 2019).

25 O padrão de qualidade na obtenção de muda de açaizeiro destinado ao plantio em
26 terra firme, é uma estratégia que demanda de longo período de viveiro (6 a 8 meses) elevado
27 consumo de fertilizantes derivados de fontes não renováveis e elevado custos operacionais
28 (Silvestre et al. 2016; Araújo et al. 2016). Outro problema é a obtenção da padronização para
29 mudas serem consideradas adequadas para plantio em campo, apenas quando atingem a
30 idade média de 6 meses após a semeadura, com aspecto vigoroso, cinco folhas
31 completamente expandidas e fisiologicamente ativas (maduras), altura média de 50 cm,
32 diâmetro do coleto maior que o da extremidade da muda e sistema radicular bem
33 desenvolvido (MAPA 1997). Entretanto, a utilização de manejo adequado nessa fase pode
34 ser um fator de extrema importância, para obter uma muda de qualidade, precoce e de grande

35 potencial produtivo quando atingir a fase adulta (Castro et al. 2019a; Lima et al. 2020, 2021;
36 Cardoso et al. 2021).

37 Com o intuito de superar essas barreiras, a utilização de microrganismo promotores
38 de crescimento de planta é uma alternativa para o manejo das culturas de forma sustentável
39 (Farrar et al. 2014). As bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR) são um grupo
40 heterogêneo que habitam próximo à rizosfera das plantas. Essas bactérias (e.g. *Bacillus* sp.,
41 *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. subtilis* e *Paenibacillus polymyxa*) exercem efeitos benéficos
42 sobre o crescimento de plantas (e.g., coqueiro, palma de óleo e tomateiro) de forma direta
43 ou indireta. Os efeitos benéficos diretos são aqueles que compreendem a facilitação da
44 aquisição de nutrientes através da fixação biológica de nitrogênio (Kuan et al. 2016), a
45 solubilização de fosfato (Chen et al. 2006; Mehta et al. 2015), aquisição de ferro usando
46 sideróforos (Zhou et al. 2016).

47 O efeito indireto está relacionado ao biocontrole, por meio da atividade antagônica
48 contra fitopatógenos que as PGPRs podem induzir respostas de resistência sistêmica ao
49 vegetal, interferindo nos sistemas sensorimento de quórum bacteriano (QS) (Müller et al.
50 2009; Moreira et al. 2014; Bueno et al. 2017; Jung et al. 2020) e a modulação de níveis
51 hormonais vegetais (e.g., por produção de Ácido Indolacético – AIA) (Ambreetha et al.
52 2018; Wagi e Ahmed 2019; Hashem et al. 2019; Lima et al. 2020; Cardoso et al. 2021). A
53 aplicação de inoculantes à base de *Bacillus* sp., *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B.*
54 *megaterium* e *B. subtilis* tem sido utilizada para reduzir ou substituir o uso de fertilizantes
55 químicos e mitigar os efeitos do déficit hídrico e salinos (Akhtar et al., 2020; Akram et al.,
56 2019; Castro et al., 2019; Lima et al., 2020; Radhakrishnan et al., 2017; Tavanti et al., 2020).

57 Os microrganismos do gênero *Bacillus* sp. são utilizados em pesquisas, e os estudos
58 recentes reportam que as rizobactérias podem modular a fisiologia da planta através de
59 reflexo direto no acúmulo de biomassa da parte aérea e raiz planta (Tsukanova et al. 2017;
60 Backer et al. 2018; Enebe and Babalola 2018) e alteração da arquitetura da raiz (Bavaresco
61 et al. 2020; Lima et al. 2021).

62 Esses microrganismos beneficiam seus hospedeiros induzindo um reajuste no
63 metabolismo primário (e.g., aumento no teor de carboidrato solúvel, aminoácidos e ácidos
64 orgânicos) e secundários (e.g., surfactinas, iturinas e fengicina). No entanto, os eventos
65 relatados são a resposta final de um processo complexo que não elucidam a relação
66 molecular, a nível de estímulo de regiões gênicas e suas alterações, e conseqüentemente os
67 processos bioquímicos que são ativados pelas rizobactérias que podem alterar até mesmo
68 características anatômicas, aprimorar o desempenho fotossintético, hormonal e nutricional

69 das plantas bioinoculadas (Caulier et al. 2019; Bonini et al. 2020; Nephali et al. 2021;
70 Othibeng et al. 2022).

71 A tecnologia microbiana está ganhando espaço no cenário atual, principalmente no
72 manejo sustentável das culturas agrícolas, que conseqüentemente proporcionam aumento na
73 produtividade e possuem ação direta na redução de fertilizantes químicos (Lima et al. 2020;
74 Cardoso et al. 2021), tais benefícios são influenciados principalmente reprogramação e
75 ajuste do metabolismo primário das plantas. Othibeng et al. (2022), reportam que plantas de
76 milho submetidas sob condições de estresse hídrico e normais bioestimuladas com diferentes
77 cepas de *Bacillus* sp. apresentaram acúmulos diferenciais nos perfis de aminoácidos,
78 hormônios e intermediários do TCA. Os incrementos de aminoácidos e hormônios e
79 intermediários do TCA estavam envolvidos no crescimento das plantas, metabolismo
80 energético (ciclo TCA e glicólise), divisão celular, regulação de hormônios para promover
81 crescimento em plantas de milho. Khan et al. (2019), relataram que na ação convergente
82 entre PGRs e as PGPRs (e.g., *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus megaterium*)
83 houve influência no acúmulo de dissacarídeos (e.g., ácido sacárico, ácido glicérico,
84 aminofenol e 5-oxo-L-prolina), o qual foi associado ao aumento significativo no teor de
85 Fv'/Fm' e clorofila sob condição de estresse hídrico. O aumento do nível de dissacarídeos
86 devido aplicação de PGRs e PGPRs ajudou as plantas de *Cicer arietinum* L. a tolerar os
87 efeitos das espécies reativas de oxigênio (ROS).

88 Alterações morfoanatômicas são importantes, principalmente mudanças na
89 arquitetura radicular, pois podem proporcionar maior superfície de contato da raiz com a
90 solução do solo, que conseqüentemente influencia em maior exploração do solo através de
91 maior absorção de água e nutrientes presente no solo, maior fixação no substrato e confere
92 estabilidade à parte aérea da planta (Li et al. 2016). Ponderando que alguns processos
93 relacionados a mudança na arquitetura radicular e crescimento de raízes laterais são
94 influenciados por hormônios vegetais como as auxinas e citocininas (Alarcón et al. 2019),
95 as rizobactérias como *Bacillus subtilis* apresentam interação que pode estimular a biossíntese
96 de auxinas (Ambreetha et al. 2018; Hashem et al. 2019) e outras substâncias voláteis
97 orgânicas (e.g., 2,3-butanodiol, 3-hidroxi-2-butanona, 2-pentilfurano, N,N-dimetil-
98 hexadecanamina e 2-butanona) que modulam a arquitetura da raiz em plantas em soja (Ryu
99 et al. 2003; Delaplace et al. 2015; Bavaresco et al. 2020).

100 Por exemplo, a palma de óleo inoculada com *B. subtilis* alterou arquitetura radicular
101 (e.g., 46,7% para volume, 42,5% para de área superficial total, 43,7% para diâmetro médio,
102 203% para número de pontas e 115% para ramificações) fato esse que evidenciou maior

103 absorção de água e nutrientes (e.g., 56% para N, 36% para P, 58% para K, 67% para B, 55%
104 para Fe e 71% para Zn) o acúmulo de nutrientes e absorção de água, além de obter mudas
105 de qualidade para o plantio com baixos custos de produção, em relação as plantas não
106 inoculadas (Lima et al. 2021).

107 Apesar da consciência de estudos relacionados em modificações na arquitetura do
108 sistema radicular e alterações no metabolismo primário de culturas economicamente
109 produtivas, até o momento não houve nenhum estudo que fora realizado para elucidar as
110 alterações bioquímicas e morfológica de plantas de açaizeiro quando induzidas pela
111 inoculação de rizobactéria. O presente estudo pretende avaliar as alterações bioquímicas e
112 morfosiológicas da raiz em *Euterpe oleracea* quando inoculadas com *Bacillus subtilis*, e
113 quais possíveis estratégias podem auxiliar no manejo sustentável e no aumento da
114 produtividade da cultura em condições adversas.

115

116 **REFERÊNCIAS**

- 117 Akhtar SS, Amby DB, Hegelund JN, et al (2020) *Bacillus licheniformis* FMCH001 Increases Water
118 Use Efficiency via Growth Stimulation in Both Normal and Drought Conditions. *Front Plant*
119 *Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00297>
- 120 Akram W, Aslam H, Ahmad SR, et al (2019) *Bacillus megaterium* strain A12 ameliorates salinity
121 stress in tomato plants through multiple mechanisms. *J Plant Interact.*
122 <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1662497>
- 123 Alarcón MV, Salguero J, Lloret PG (2019) Auxin modulated initiation of lateral roots is linked to
124 pericycle cell length in Maize. *Front Plant Sci* 10:1–10.
125 <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00011>
- 126 Ambreetha S, Chinnadurai C, Marimuthu P, Balachandar D (2018) Plant-associated *Bacillus*
127 modulates the expression of auxin-responsive genes of rice and modifies the root architecture.
128 *Rhizosphere* 5:57–66. <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2017.12.001>
- 129 Araujo FF, Bonifacio A, Bavaresco LG, et al (2021) *Bacillus subtilis* changes the root architecture
130 of soybean grown on nutrient-poor substrate. *Rhizosphere* 18:100348.
131 <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2021.100348>
- 132 Araújo FRR, Viégas I de JM, da Cunha RLM, de Vasconcelos WLF (2016) Efeito da omissão de
133 nutrientes no crescimento e estado nutricional de mudas de açaizeiro. *Pesqui Agropecu Trop*
134 46:374–382. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4640770>
- 135 Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, et al (2018) Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context,
136 Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable
137 Agriculture. *Front Plant Sci* 0:1473. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.01473>
- 138 Bavaresco LG, Osco LP, Araujo ASF, et al (2020) *Bacillus subtilis* can modulate the growth and root
139 architecture in soybean through volatile organic compounds. *Theor Exp Plant Physiol* 32:99–
140 108. <https://doi.org/10.1007/S40626-020-00173-Y>
- 141 Bonini P, Roupheal Y, Miras-Moreno B, et al (2020) A Microbial-Based Biostimulant Enhances
142 Sweet Pepper Performance by Metabolic Reprogramming of Phytohormone Profile and
143 Secondary Metabolism. *Front Plant Sci* 11:. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.567388>
- 144 Bueno ACSO, Castro GLS, Silva Junior DD, et al (2017) Response of photosynthesis and chlorophyll
145 a fluorescence in leaf scald-infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer.
146 *Plant Pathol* 66:1487–1495. <https://doi.org/10.1111/ppa.12690>
- 147 Cardoso AF, Alves EC, da Costa SDA, et al (2021) *Bacillus cereus* Improves Performance of
148 Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. *Front*
149 *Plant Sci* 12:. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.649487/FULL>
- 150 Castro GL., Rêgo MC., Silvestre WV., et al (2019a) Açaí palm seedling growth promotion by
151 rhizobacteria inoculation. *Brazilian J Microbiol* 51:205–216. [https://doi.org/10.1007/s42770-](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
152 [019-00159-2](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
- 153 Castro GLS, da Silva Júnior DD, Viana RG, et al (2019b) Photosynthetic apparatus protection and
154 drought effect mitigation in açaí palm seedlings by rhizobacteria. *Acta Physiol Plant* 41:1–12.
155 <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2952-4>
- 156 Castro GLS, Júnior DDS, Bueno ACSO, Silva GB (2017) Anthracnose in açaí palm leaves reduces
157 leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence. *Trop Plant Pathol* 42:13–20.
158 <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0118-0>
- 159 Caulier S, Nannan C, Gillis A, et al (2019) Overview of the antimicrobial compounds produced by
160 members of the *Bacillus subtilis* group. *Front Microbiol* 10:1–19.

- 161 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00302>
- 162 Chen YP, Rekha PD, Arun AB, et al (2006) Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil
163 and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl Soil Ecol* 34:33–41.
164 <https://doi.org/10.1016/J.APSSOIL.2005.12.002>
- 165 Delaplace P, Delory BM, Baudson C, et al (2015) Influence of rhizobacterial volatiles on the root
166 system architecture and the production and allocation of biomass in the model grass
167 *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. *BMC Plant Biol* 15:1–15.
168 <https://doi.org/10.1186/S12870-015-0585-3/TABLES/1>
- 169 dos Santos GR, de Moraes AJG, Cavalcante A de P de S, da Silva GB (2022) First report of leaf
170 anthracnose caused by *Colletotrichum chrysophilum* on açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in
171 Brazil. *J Gen Plant Pathol* 88:212–216. <https://doi.org/10.1007/s10327-022-01059-4>
- 172 Enebe MC, Babalola OO (2018) The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant
173 tolerance to abiotic stress: a survival strategy. *Appl Microbiol Biotechnol* 102:7821–7835.
174 <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9214-z>
- 175 Farias Neto JT (2019) BRS Pai d'égua : cultivar de açai para terra firme com suplementação hídrica.
176 8
- 177 Farrar K, Bryant D, Cope-Selby N (2014) Understanding and engineering beneficial plant-microbe
178 interactions: plant growth promotion in energy crops. *Plant Biotechnol J* 12:1193–1206.
179 <https://doi.org/10.1111/PBI.12279>
- 180 Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd_Allah E (2019) *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting
181 rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi J Biol Sci* 26:1291–1297.
182 <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2019.05.004>
- 183 IBGE 2019 (2019) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Maio 2019
- 184 Jung BK, Ibal JC, Pham HQ, et al (2020) Quorum Sensing System Affects the Plant Growth
185 Promotion Traits of *Serratia fonticola* GS2. *Front Microbiol* 11:2746.
186 <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.536865/BIBTEX>
- 187 Khan N, Bano A, Rahman MA, et al (2019) Comparative Physiological and Metabolic Analysis
188 Reveals a Complex Mechanism Involved in Drought Tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum*
189 L.) Induced by PGPR and PGRs. *Sci Rep*. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38702-8>
- 190 Kuan KB, Othman R, Rahim KA, Shamsuddin ZH (2016) Plant growth-promoting rhizobacteria
191 inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of
192 maize under greenhouse conditions. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152478>
- 193 Li X, et al. 2016 (2016) Improving crop nutrient efficiency through root architecture modifications.
194 *J Integr Plant Biol* 58:193–202. <https://doi.org/10.1111/jipb.12434>
- 195 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2020) Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria
196 enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. *Sci Hortic (Amsterdam)* 264:109161.
197 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- 198 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2021) Rhizobacteria modify root architecture and improve
199 nutrient uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. *Rhizosphere* 100420.
200 <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2021.100420>
- 201 MAPA (1997) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Delegacia Federal de
202 Agricultura no Pará. Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará. Normas técnicas e
203 padrões para a produção de mudas fiscalizadas no Estado de Pará. 40
- 204 Mehta P, Walia A, Kulshrestha S, et al (2015) Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing
205 *Bacillus circulans* CB7 for enhancement of tomato growth under net house conditions. *J Basic*

- 206 Microbiol 55:33–44. <https://doi.org/10.1002/JOBM.201300562>
- 207 Moreira RR, Nesi CN, May De Mio LL (2014) *Bacillus* spp. and *Pseudomonas putida* as inhibitors
208 of the colletotrichum acutatum group and potential to control glomerella leaf spot. Biol Control
209 72:30–37. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.02.001>
- 210 Müller H, Westendorf C, Leitner E, et al (2009) Quorum-sensing effects in the antagonistic
211 rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. FEMS Microbiol Ecol 67:468–478.
212 <https://doi.org/10.1111/J.1574-6941.2008.00635.X>
- 213 Nascimento et al 2007 (2007) Consequências fisiológicas da dessecação em sementes de açaí
214 (*Euterpe oleracea* Mart.). Rev Bras Sementes. [https://doi.org/10.1590/S0101-](https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200006)
215 [31222007000200006](https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000200006)
- 216 Nephali L, Moodley V, Piater L, et al (2021) A Metabolomic Landscape of Maize Plants Treated
217 With a Microbial Biostimulant Under Well-Watered and Drought Conditions. Front Plant Sci
218 12:977. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.676632/BIBTEX>
- 219 Oliveira HO, de Castro GLS, Correa LO, et al (2019) Coupling physiological analysis with proteomic
220 profile to understand the photosynthetic responses of young *Euterpe oleracea* palms to drought.
221 Photosynth Res 140:189–205. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0597-6>
- 222 Oliveira MSP, Farias Neto JT (2004) Cultivar BRS-Pará: Açaizeiro para Produção de Frutos em
223 Terra Firme. Embrapa, Comun Técnico 114:1–3
- 224 Othibeng K, Nephali L, Myoli A, et al (2022) Metabolic Circuits in Sap Extracts Reflect the Effects
225 of a Microbial Biostimulant on Maize Metabolism under Drought Conditions. Plants 11:510.
226 <https://doi.org/10.3390/PLANTS11040510/S1>
- 227 Radhakrishnan R, Hashem A, Abd Allah EF (2017) *Bacillus*: A biological tool for crop improvement
228 through bio-molecular changes in adverse environments. Front Physiol.
229 <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>
- 230 Ryu CM, Faragt MA, Hu CH, et al (2003) Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. Proc
231 Natl Acad Sci U S A 100:4927. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0730845100>
- 232 Silvestre WVD, Pinheiro HA, Souza ROR de M, Palheta LF (2016) Morphological and physiological
233 responses of açaí seedlings subjected to different watering regimes. Rev Bras Eng Agrícola e
234 Ambient 20:364–371. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n4p364-371>
- 235 Silvestre WVD, Silva PA, Palheta LF, et al (2017) Differential tolerance to water deficit in two açaí
236 (*Euterpe oleracea* Mart.) plant materials. Acta Physiol Plant. [https://doi.org/10.1007/s11738-](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2301-9)
237 [016-2301-9](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2301-9)
- 238 Tavanti TR, Tavanti RFR, Galindo FS, et al (2020) Yield and quality of soybean seeds inoculated
239 with *Bacillus subtilis* strains. Rev Bras Eng Agric e Ambient. [https://doi.org/10.1590/1807-](https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n1p65-71)
240 [1929/agriambi.v24n1p65-71](https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v24n1p65-71)
- 241 Tsukanova KA, C VK, Meyer JJM, Bibikova TN (2017) South African Journal of Botany Effect of
242 plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. 113:91–102.
243 <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.007>
- 244 Wagi S, Ahmed A (2019) *Bacillus* spp.: Potent microfactories of bacterial IAA. PeerJ 2019:e7258.
245 <https://doi.org/10.7717/PEERJ.7258/SUPP-2>
- 246 Zhou C, Guo J, Zhu L, et al (2016) *Paenibacillus polymyxa* BFKC01 enhances plant iron absorption
247 via improved root systems and activated iron acquisition mechanisms. Plant Physiol Biochem
248 PPB 105:162–173. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2016.04.025>

250 **CAPÍTULO I**

251

252 **MODIFICAÇÕES NA ARQUITETURA RADICULAR DE MUDAS DE AÇAIZEIRO**253 **BIOINOCULADAS COM *Bacillus subtilis***

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

LISTA DE ABREVIATURAS

A540 - Absorbância de 540 nm
ACC - 1-Aminociclopropano-1-Carboxilato
ACP - Análise de componentes principais
AIA- Ácido indolacético
ASR - Arquitetura do sistema radicular
Ca - Cálcio
CC - Capacidade de campo
CTC - Capacidade de troca catiônica
Cu - Cobre
Fe - Ferro
 g_s - Condutância estomática ao vapor d'água
K- Potássio
Mg - Magnésio
Mn - Manganês
MS - Matéria seca
NUE -Uso eficiente de nutrientes
P - Fósforo
S - Enxofre
UFC - Unidade Formadora de Colônia
UFRA 92 - *Bacillus subtilis*
ysnE - N-acetiltransferase
Zn - Zinco
 Ψ_w - Potencial hídrico

276

277

278

LISTA DE FIGURAS

279	Figura 1. [A e B- Imagem e C e D - Scanner] Arquitetura do sistema radicular em mudas de açazeiro aos 5	
280	meses de idade sem inoculação e com a inoculação do <i>B. subtilis</i> (UFRA 92). [1] Número de	
281	ramificações, [2] Número de pontas e [3] Diâmetro médio das	
282	raízes.....	32
283		
284	Figura 2. Comprimento, superfície e volume subdivididos proporcionalmente em todos os diâmetros	
285	analisados em mudas de açazeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) inoculadas com <i>B. subtilis</i> (UFRA 92) e não	
286	inoculadas (controle). Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são	
287	significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como	
288	média de cinco repetições.....	33
289		
290	Figura. 3. Análise de componentes principais do acúmulo de macro e micronutrientes e variáveis de	
291	morfologia e topologia em mudas de açazeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) sem inoculação, e com	
292	inoculação do <i>B. subtilis</i> (UFRA 92).....	35
293		

294

LISTA DE TABELAS

295	Tabela 1. Comparações da arquitetura do sistema radicular de mudas de açazeiro inoculadas com e sem <i>B.</i>	
296	<i>subtilis</i> (UFRA 92), analisada usando o software WinRHIZO.....	31
297	Tabela 2. Acúmulo de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em mudas de açazeiro (<i>Euterpe</i>	
298	<i>oleracea</i>) sem inoculação, e com inoculação do <i>B. subtilis</i> (UFRA 92).....	34
299		
300	Tabela 3. Eficiência do uso de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em mudas de açazeiro	
301	(<i>Euterpe oleracea</i>) sem inoculação, e com inoculação do <i>B. subtilis</i> (UFRA 92).....	34
302		
303		

304 **MODIFICAÇÃO NA ARQUITETURA RADICULAR DE MUDAS DE AÇAIZEIRO**
305 **BIOINOCULADAS COM *Bacillus subtilis* (UFRA 92)**
306

307 **RESUMO**

308 A arquitetura do sistema radicular (ASR) é uma característica intrínseca da planta e pode ser
309 modificada pela ação de rizobactérias promotoras do crescimento que estimulam a
310 reprogramação metabólica e hormonal da planta como estratégia para aumentar a taxa de
311 crescimento, a absorção de nutrientes, e tolerância ao déficit hídrico. O açaizeiro (*Euterpe*
312 *oleracea* Mart.) é uma planta sensível ao déficit hídrico e apresenta lento crescimento e baixa
313 produtividade em plantio de terra firme. O objetivo deste trabalho foi avaliar as modificações
314 na ASR e seu impacto na absorção de nutrientes em mudas de açaizeiro bioinoculadas com
315 *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Plantas inoculadas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) e plantas
316 (controle não inoculadas) foram avaliadas quanto a morfologia e topologia das raízes, teor
317 de nutriente e eficiência de uso dos nutrientes. A aplicação do *B. subtilis* (UFRA 92)
318 aumentou o comprimento total da raiz em 57%, densidade da raiz em 195%, número de
319 ramificações em 62%, comprimento das raízes laterais em 36%, área específica em 36%,
320 volume em 41% e reduziu o diâmetro entre as classes de comprimento em 46% comparando-
321 se com o tratamento controle. Foram observados aumentos nas concentrações de macro e
322 micronutrientes nas plantas bioestimulada, sendo de 134% em K, 70% em Mg, 238% em P,
323 315% em Ca 246% em S, 230% em Cu, 152% em Fe, 240% em Mn e, 150% em Zn). A
324 eficiência no uso dos nutrientes aumentou em 384% em K, 154% em Mg, 58% em P, 108%
325 em Ca, 139% em S, 123% em Cu, 400% em Fe, 33% em Mn e, 50% em Zn. A bioinoculação
326 do *Bacillus subtilis* (UFRA 92) alterou a arquitetura radicular de *E. oleracea* levando a uma
327 maior exploração da área de superfície e volume de solo pelas raízes favorecendo uma maior
328 absorção, acúmulo de nutrientes e eficiência do uso dos nutrientes. O *B. subtilis* (UFRA 92)
329 modulou classe de diâmetro das raízes (área de superfície, comprimento e volume) ao
330 interferir no equilíbrio hormonal de *Euterpe oleracea*.

331

332 **Palavras-chaves:** Rizobactéria, Absorção, Manejo

333 **MODIFICATION IN THE ROOT ARCHITECTURE OF AÇAÍ SEEDLINGS**
334 **BIOINOCULATED WITH *Bacillus subtilis***

335
336 **ABSTRACT**

337 Root system architecture (RSA) is an intrinsic characteristic of the plant and modified by the
338 action of growth-promoting rhizobacteria that stimulate metabolic and hormonal
339 reprogramming of the plant as a strategy to increase growth rate, nutrient uptake, and
340 consequently confer tolerance to water deficit. The açai (*Euterpe oleracea* Mart.) is a plant
341 sensitive to water deficit and presents slow growth and low productivity in dryland
342 plantations. Our objective was to evaluate the changes in RSA and its impact on nutrient
343 uptake in açai seedlings bio inoculated with *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Plants inoculated
344 with *Bacillus subtilis* (UFRA 92) and control plants (non-inoculated) evaluated for root
345 morphology, topology, nutrient content, and nutrient use efficiency. The application of *B.*
346 *subtilis* increased total root length by 57%, root density by 195%, branching number by 62%,
347 lateral root length by 36%, specific area by 36%, volume by 41%, and reduced diameter
348 between length classes by 46% compared to the non-inoculated treatment. We observed an
349 increase in macro and micronutrient content in biostimulation plants, the increase was 134%
350 in K, 70% in Mg, 238% in P, 315% in Ca 246% in S, 230% in Cu, 152% in Fe, 240% in Mn
351 and, 150% in Zn) and nutrient use efficiency (384% in K, 154% in Mg, 58% in P, 108% in
352 Ca, 139% in S, 123% in Cu, 400% in Fe, 33% in Mn and, 50% in Zn. The bio inoculation
353 of *Bacillus subtilis* (UFRA 92) altered the root architecture of *Euterpe oleracea* result in
354 greater exploitation of the surface area and soil volume by the roots favoring a higher
355 absorption, nutrient accumulation, and nutrient use efficiency (NUE) in açai seedlings. *B.*
356 *subtilis* modulated root diameter classes (surface area, length, and volume) by interfering
357 with the hormonal balance of *Euterpe oleracea*.

358 **Keywords:** Rhizobacteria, Absorption, Management

359
360
361
362
363
364
365

1 INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), é uma palmeira nativa da região Amazônica e possui destaque na economia brasileira e mundial pela valorização do fruto (IBGE, 2019). A cultura é amplamente distribuída nas várzeas do norte do Brasil (Cattanio et al. 2002) e em solos aluviais de boa fertilidade natural devido à deposição de sedimentos pelas marés altas (Parolin et al., 2004). Por outro lado, os plantios comerciais são concentrados em áreas de terra firme, conduzidos com manejos que culminam em produtividade altamente variáveis mesmo utilizando adubação química recomendada e irrigação.

Apesar da elevada estimativa de produção de frutos de açaí em áreas de terra firme a ocorrência de períodos de déficit hídrico podem causar prejuízos econômicos expressivos. Com o intuito de encontrar alternativas que minimizem as perdas de produtividade resultantes de condições adversas, como déficit hídrico (Silvestre et al., 2016) e deficiência nutricional (Alberto et al. 2010; Araújo et al. 2016), pesquisas culminaram no desenvolvimento de cultivares como BRS-Pará e BRS-Pai d'Égua adaptadas às áreas de terra firme (Farias Neto, 2019; Oliveira and Farias Neto, 2004). Contudo, mantêm-se a necessidade de irrigação e fertilização, está última devido Latossolo Amarelos (Araújo et al. 2016).

A restrição de água e nutrientes relacionadas às práticas de manejo inadequadas podem reduzir significativamente a produção de mudas de açazeiro, pois a seleção das mudas para plantios preconiza muitos aspectos morfológicos da planta, como altura (entre 40 e 60 cm), diâmetro do coleto (maior do ápice da muda), número de folhas fisiologicamente ativas (≥ 5) e sistema radicular bem desenvolvido (10 cm) (CESM-PA 1997). A arquitetura e morfologia das raízes assumem relevante papel na seleção das mudas, pois o sistema radicular dará suporte a parte aérea no processo de absorção de água e nutriente, principalmente aos órgãos fotossintetizantes (as folhas). Algumas pesquisas enfatizam a eficiência morfofuncional das raízes para aumentar produtividade e a sustentabilidade em diferentes sistemas de cultivo (Den Herder et al. 2010; Erktan et al. 2018; Lynch, 2007).

O arranjo morfológico tridimensional do sistema radicular determinado pela quantidade, comprimento, espessura e distribuição das raízes, e pela incidência e comprimento dos pelos radiculares são características que definem a eficiência da planta em explorar o solo em busca de água e nutrientes (Giehl et al. 2014; Haling et al. 2016; Hodges, 2002; Jungk, 2001). Plantas que possuem sistemas radiculares longos, como comprimento total da raiz, menor diâmetro e alta incidência de pelos radiculares, apresentam

400 maior potencial de aquisição de recursos do solo, além de maior eficiência no uso de
401 fotoassimilados para produzir diferentes raízes (Erktan et al. 2018; Rondina et al. 2019;
402 Zangaro et al. 2014). Para Silvestre et al. (2016), o maior sistema radicular em mudas de
403 açazeiro é uma estratégia de tolerância ao déficit hídrico e pode contribuir para a adaptação
404 das mudas durante os meses mais secos. O maior sistema radicular em mudas de açazeiro
405 induzido por isolados de rizobactérias (e.g., UFRA 58, UFRA 92, BRM 32111 e BRM
406 32113) melhorou a absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, amenizaram os
407 efeitos do déficit hídrico (Castro et al. 2019b).

408 As rizobactérias produtoras de fitohormônios, do gênero *Bacillus*, podem estimular
409 o crescimento e ramificação do sistema radicular, alterando a sua morfologia (Castro et al.
410 2019; Bavaresco et al. 2020; Araujo et al. 2021; Lima et al. 2021; Cardoso et al. 2021). As
411 respostas morfofisiológicas induzidas pelo gênero *Bacillus* sp. são desencadeadas
412 principalmente por reguladores de crescimento de plantas, como auxinas (e.g., ácido
413 indolacético, AIA), citocinina e compostos voláteis (Ambreetha et al. 2018; Hashem et al.
414 2019; Bavaresco et al. 2020). Em plantas de açazeiro e trigo bioinoculadas com *Bacillus*
415 *subtilis* (UFRA 92) e *Bacillus amyloliquefaciens* (5113) apresentaram alterações na
416 morfologia da raiz o que conferiu à planta tolerância a eventos de restrição hídrica e estresse
417 salino, além de maior disponibilidade de nutrientes para as plantas por meio da solubilização
418 de fósforo e potássio, produção de sideróforos para absorção de ferro e fixação de nitrogênio
419 atmosférico e na manutenção do balanço alterando a arquitetura de raízes para condutância
420 hidráulica (Kasim et al. 2013; Castro et al. 2019b).

421 A espécie o *B. subtilis* é amplamente estudada e um forte candidato promissor para
422 o desenvolvimento de produtos agrícolas (Earl et al. 2008; Todorova and Kozhuharova 2010;
423 Blake et al. 2020), pois podem alterar a morfologia e fisiologia da planta (e.g., características
424 anatômica e desempenho fotossintético). Castro et al. (2019) atribuíram ao *B. subtilis*, a
425 proteção de plantas de açazeiro sob déficit hídrico mitigando o estresse oxidativo, por meio
426 da regulação na atividade da atividade catalítica da superóxido dismutase, catalase e
427 peroxidase do ascorbato. Araujo et al. (2021) verificaram que a inoculação com *B. subtilis*
428 elevou produtividade em plantas de soja em condições de baixa disponibilidade de
429 nutrientes. Tal fato foi corroborado por Lima et al. (2020) em palma de óleo sob redução em
430 50% de fertilizantes químicos. Lima et al. (2021) relataram que o *B. subtilis* modificou a
431 arquitetura radicular em palmas de óleo. Os autores enfatizaram que essas modificações no
432 sistema radicular favoreceram o acúmulo de nutrientes, além de obter mudas de qualidade
433 para plantio permanente com baixo custo de produção.

434 Apesar de estudos relacionados às modificações induzidas por rizobactérias na
435 arquitetura do sistema radicular terem sido desenvolvidas para várias culturas, pouco se
436 conhece acerca de modificações na arquitetura radicular em *E. oleracea*. Assim, o objetivo
437 deste trabalho é compreender a dinâmica no crescimento e alteração do sistema radicular de
438 mudas de açaizeiro inoculados com *Bacillus subtilis* (UFRA 92).

439 **2 HIPÓTESE**

440 O *Bacillus subtilis* (UFRA 92) ou seus exsudatos melhorem as características da
441 arquitetura radicular, moldando o sistema radicular para uma aquisição mais efetiva de água
442 e nutrientes.

443 **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

444 **3.1 Material vegetal**

445 Sementes do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart. cultivar BRS-Pará) foram semeadas
446 em bandejas de polietileno contendo como substrato fibra de coco triturado. Aos 32 dias
447 após a germinação, as plântulas que apresentaram duas folhas expandidas e altura próxima
448 de 13 cm foram transplantadas para sacos de polietileno (15 x 25 cm) contendo substrato
449 composto de 60% de Latossolo e 40% de esterco de frango curtido. O cultivo foi realizado
450 no viveiro da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém (PA), sob clima AMI de
451 acordo com Köppen-Geiger. As plantas foram irrigadas diariamente por gotejamento
452 autocompensante para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do
453 solo próximo da capacidade de campo (Klar et al. 1966).

454 **3.2 Obtenção e inoculação de *Bacillus subtilis* (UFRA 92)**

455 O isolado de *Bacillus subtilis* utilizado neste estudo, seguido por seu código no
456 GenBank-NCBI (UFRA 92 – MN17593) foi isolado da rizosfera do açaizeiro. Atualmente,
457 isolado é armazenado e preservado na coleção de microrganismos do Laboratório de
458 Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-PA, Brasil.

459 A rizobactéria foi cultivada em meio sólido 523 (Kado; Heskett, 1970) durante 48 h
460 a 28 °C. A suspensão bacteriana foi preparada com água destilada e esterilizada e a
461 concentração foi ajustada em espectrofotômetro para $A_{540} = 0,6$ (10^8 UFC.mL⁻¹).

462 Para o estabelecimento dos tratamentos, as plântulas (aos 32 dias) tiveram suas raízes
463 seccionadas para padronização do comprimento radicular em 7 cm. Assim, o tratamento de
464 bioinoculação foi caracterizado pela imersão das plântulas em 500 mL da suspensão
465 bacteriana por 30 min e, posteriormente, o transplântio foi realizado em sacos polietileno
466 contendo substrato (60% de Latossolo e 40% de esterco de frango curtido), sendo realizada

467 duas inoculações em intervalo de quinze dias. Cada plântula recebeu 50 mL da suspensão
468 bacteriana, via sistema de rega manual. Para o tratamento controle (ausência de *B. subtilis*),
469 foram utilizados 500 mL de água destilada e esterilizada. A rega para esse tratamento foi
470 utilizada 50 mL/plântula de água destilada.

471 **3.3 Determinação da arquitetura do sistema radicular**

472 As imagens das raízes foram obtidas utilizando-se um scanner de leito (Epson XL
473 10000). Os dados de imagem da raiz foram analisados pelo *software* WinRHIZO Pro 2007a
474 (Régent Instrum. Quebec, Canadá), gerando estimativas de comprimento total da raiz, área
475 da superfície raiz, diâmetro médio da raiz, número de pontas radiculares e ramificação
476 radicular como descrito anteriormente (Arsenault et al., 1995; Himmelbauer; Loiskandl;
477 Kastanek, 2004). Além disso, foram feitas avaliações do diâmetro da raiz dividindo em cinco
478 classes (0-1,0 mm; 1- 2,0 mm; 2-3,0 mm; 3-4,0 mm; e > 4,5 mm) e o comprimento, superfície
479 e volume das raízes de cada classe foram avaliados como descrito anteriormente (Lima et al.
480 2021).

481 **3.4 Determinação do status nutricional**

482 As amostras de raízes foram secas em estufas de circulação forçada de ar (72h à 65
483 °C), moídas (< 5 mm) em moinho tipo Wiley, pesadas e enviadas ao Laboratório de
484 Agrônômico de Análises Nutricionais (LABOMINAS), Manhuaçu, MG, para a
485 determinação dos teores de nutrientes, conforme descrito por Silva (2009). Os teores dos
486 macronutrientes: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e dos
487 micronutrientes: zinco (Zn), manganês (Mn), ferro (Fe) e cobre (Cu) no tecido vegetal foram
488 extraídos por digestão ácida em micro ondas, envolvendo a aplicação de 2 mL de HNO₃ + 2
489 mL de H₂O + 5 mL de água ultrapura em 250 mg de amostras, conforme descrito por (Araújo
490 et al. 2002). As amostras digeridas foram lidas e quantificadas em relação ao teor nutricional,
491 por meio de espectrômetro e destilador.

492 Com base na produção de biomassa e na concentração de nutrientes em folhas nas
493 mudas de açaizeiro, foram obtidos dados de acúmulo e da eficiência do uso de nutrientes
494 (Kist et al., 2015). Os acúmulos dos nutrientes (AN) P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Fe e Cu na
495 raiz (ANPA) foram estimados pela multiplicação dos valores de teores desses nutrientes
496 pelos valores de biomassa seca, conforme a expressão $AN_x = \text{teor} \times MS$, onde x é o nutriente
497 em estudo e MS a massa seca. A eficiência do uso nutricional (EUN) foi obtida pela razão
498 da biomassa seca pelos teores de nutrientes, calculada por meio da expressão $EU_x = MS/\text{teor}$
499 (Moll; Kamprath; Jackson, 1982).

500 3.5 Análise estatística

501 O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi inteiramente
 502 casualizado. Para os experimentos sobre morfologia, topologia e classe de diâmetro da raiz
 503 as unidades experimentais foram compostas por cinco repetições por tratamento. Os ensaios
 504 de determinação de macro e micronutrientes e eficiência nutricional foram realizadas, com
 505 quatro repetições por tratamento. As diferenças entre as médias foram examinadas pelo teste
 506 *t*. ($P \leq 0.05$). Todos os dados foram analisados usando o software R (versão 4.1.0 para
 507 Windows).

508 Uma análise de componentes principais (ACP) foi realizada para os dados de
 509 morfologia, topologia e macro e micronutrientes, sendo os valores normalizados através da
 510 relação entre plantas bioestimuladas com *B. subtilis* (UFRA 92) e o tratamento controle.

511 4 RESULTADOS

512 4.1 Arquitetura do sistema radicular

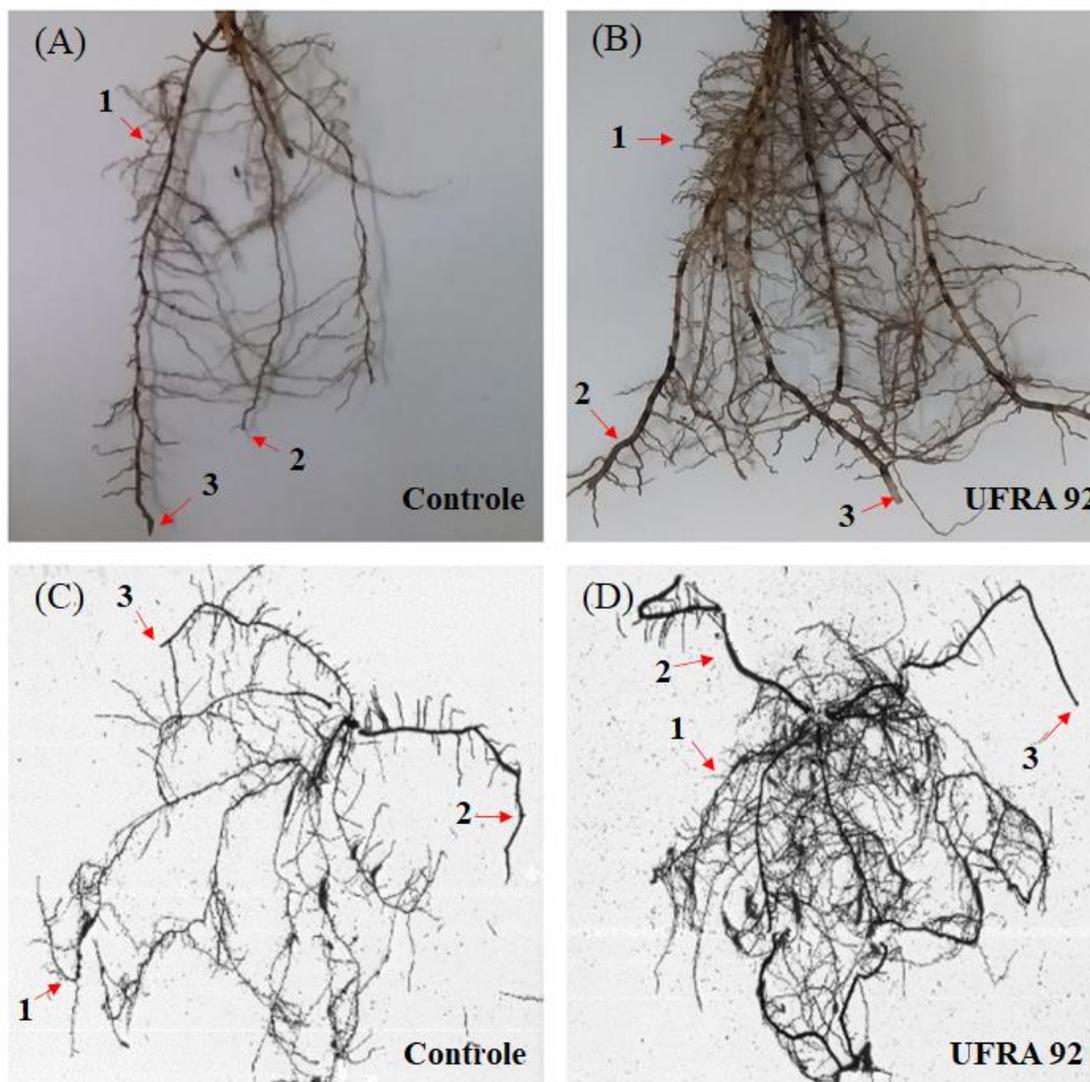
513 O sistema radicular das mudas de açaizeiro, aos cinco meses de idade, apresentou
 514 comprimento médio de 10,3 cm, área total de superfície de 127 cm² e 0,5 mm de volume
 515 radicular. Nas mudas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92), houve alterações na arquitetura
 516 do sistema radicular, com incremento de 57% no comprimento total das raízes, 130% na área
 517 total de superfície, 63% no diâmetro médio, 57% na densidade, 195% no volume, 36% no
 518 número de pontas e 62% no número de ramificações em comparação ao controle (Tabela 1).
 519 As imagens obtidas das raízes bioestimuladas com *B. subtilis* (UFRA 92) mostram as
 520 diferenças nas raízes em relação ao controle (Figura 1).

521 **Tabela 1.** Comparações da arquitetura do sistema radicular de mudas de açaizeiro inoculadas
 522 com e sem *B. subtilis* (UFRA 92), analisada usando o software WinRHIZO.

Morfologia					
Tratamentos	Comprimento total das raízes (cm)	Área total de superfície (cm²)	Diâmetro médio (mm)	Densidade (cm m³)	Volume total (cm³)
Controle	10,28	126,6	0,48	1.028	1,44
UFRA 92	16,15*	291,9*	0,79*	1.615*	4,25*

Topologia		
	Número de pontas	Ramificações
Controle	5.581	5.064
UFRA 92	7.572*	8.210*

523 Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste *t* são significativamente diferentes das plantas
 524 controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de cinco repetições.



525 **Figura 1.** [A e B - Imagem e C e D - Scanner]. Arquitetura do sistema radicular em mudas de açairoseiro aos
 526 cinco meses de idade sem inoculação e com a inoculação do *B. subtilis* (UFRA 92). [1] Ramificações, [2]
 528 Pontas e [3] Diâmetro médio das raízes.

529

530

O comprimento total, a área superficial e o volume total da raiz também foram
 531 determinados de acordo com a classe de diâmetro da raiz, em que essas variáveis foram
 532 calculadas individualmente em intervalos 0-1, 1-2, 2-3, 3-4 e > 4,5 mm de diâmetro (Figura
 533 2). Mudas de açairoseiro inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) apresentaram efeito
 534 significativo para comprimento de raízes em todas as classes de diâmetro (1-2 mm, 2-3 mm,
 535 3-4 mm e maior que 4,5 mm) com exceção da classe 0-1 mm. O crescimento de raízes em
 536 mudas inoculadas aumentou em função do aumento do diâmetro das raízes, variando entre
 537 46% e 965% em relação ao controle.

538

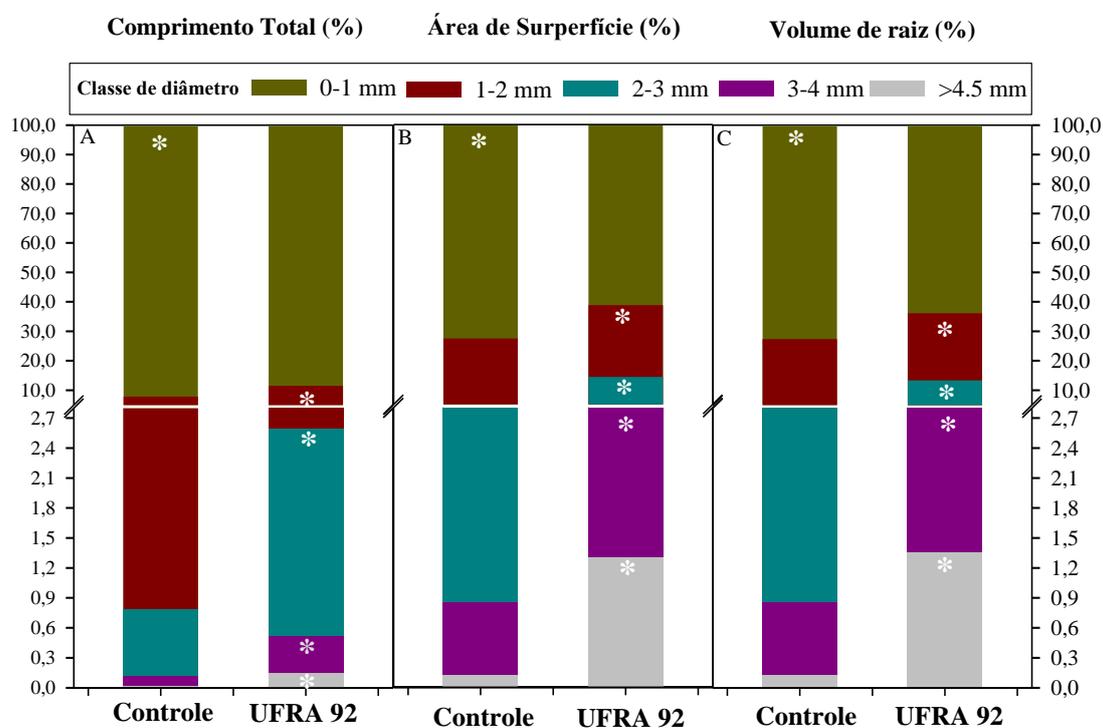
539

540

O padrão de aumento nos valores da área de superfície e volume radicular em plantas
 inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) foi semelhante ao observado no comprimento total
 da raiz em todas as classes de diâmetro, com exceção da classe 0-1 mm (Figura 2 B e C). As

541 plantas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) apresentaram incrementos em 41%, 235%,
 542 311% e 959% de raízes nas classes de diâmetro de 1-2, 2-3, 3-4 e > 4,5 mm, respectivamente.
 543 Da mesma forma, o padrão permaneceu para o volume da raiz, mas a porcentagem de raízes
 544 mais espessas aumentou significativamente, em relação ao controle (Figura 2 C). Raízes
 545 compreendidas nos diâmetros de 1-2, 2-3 e 3-4 mm compuseram um total de 32%, 213% e
 546 334% para plantas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92), respectivamente. Para diâmetros
 547 maiores que 4,5 mm, o aumento foi de 999% nas plantas bioestimuladas com rizobactéria
 548 (UFRA 92) em relação ao controle.

549 Os parâmetros de comprimento, área de superfície e volume entre as classes de
 550 diâmetro radicular sugerem que a inoculação do *B. subtilis* (UFRA 92) altera a proporção de
 551 raízes finas e espessas em mudas de açaizeiro como modo de adaptabilidade precoce para as
 552 condições de campo.



553

554 **Figura 2.** Comprimento, superfície e volume subdivididos proporcionalmente em todos os diâmetros
 555 analisados em mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) e não inoculadas
 556 (controle). Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes
 557 das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como média de cinco repetições.

558

559 4.2 Teor de nutrientes

560 O *B. subtilis* (UFRA 92) promoveu incrementos no acúmulo de macro e
 561 micronutrientes nas raízes das mudas de açaizeiro (Tabela 2). Mudas inoculadas com UFRA
 562 92 apresentaram incrementos de 134% em K, 70% em Mg, 238% em P, 315% em Ca 246%
 563 em S, 230% em Cu, 152% em Fe, 240% em Mn e, 150% em Zn, em relação ao tratamento

564 controle. Ademais, o isolado UFRA 92 atua diretamente na solubilização de P, K e Zn e
565 produção de sideróforos.

566 **Tabela 2.** Acúmulo de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em mudas de
567 açazeiro (*Euterpe oleracea*) sem inoculação, e com inoculação do *B. subtilis* (UFRA 92).

Macronutrientes (g kg^{-1})					
	K	Mg	P	Ca	S
Controle	0,93	0,43	0,34	0,88	1,25
UFRA 92	2,18*	0,73*	1,15*	3,66*	4,33*
Micronutrientes (mg kg^{-1})					
	Cu	Fe	Mn	Zn	
Controle	11,5	529,15	17,8	12,6	
UFRA 92	37,99*	1336,5*	60,61*	31,52*	

568 Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas
569 controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como média de cinco repetições.

570

571 4.3 Eficiência no uso de nutrientes

572 As plantas de açazeiro bionoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) apresentaram maior
573 eficiência no uso de macro e micronutrientes, em comparação as plantas controle. O macro
574 e micronutrientes tiveram aumentos em 384% para K, em 154% para Mg, em 58% para P,
575 em 108% para Ca, em 139% para S, 123% para Cu, em 400% para Fe, em 33% para Mn e,
576 em 50% para Zn, em relação as plantas controle (Tabela 3).

577 **Tabela 3.** Eficiência do uso de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em
578 mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) sem inoculação, e com inoculação do *B. subtilis*
579 (UFRA 92).

Macronutrientes (g kg^{-1})					
	K	Mg	P	Ca	S
Controle	0,45	2,51	1,94	0,86	0,59
UFRA 92	2,18*	6,39*	3,07*	1,77*	1,41*
Micronutrientes (mg kg^{-1})					
	Cu	Fe	Mn	Zn	
Controle	0,35	0,01	0,09	0,12	
UFRA 92	0,78*	0,05*	0,12*	0,18*	

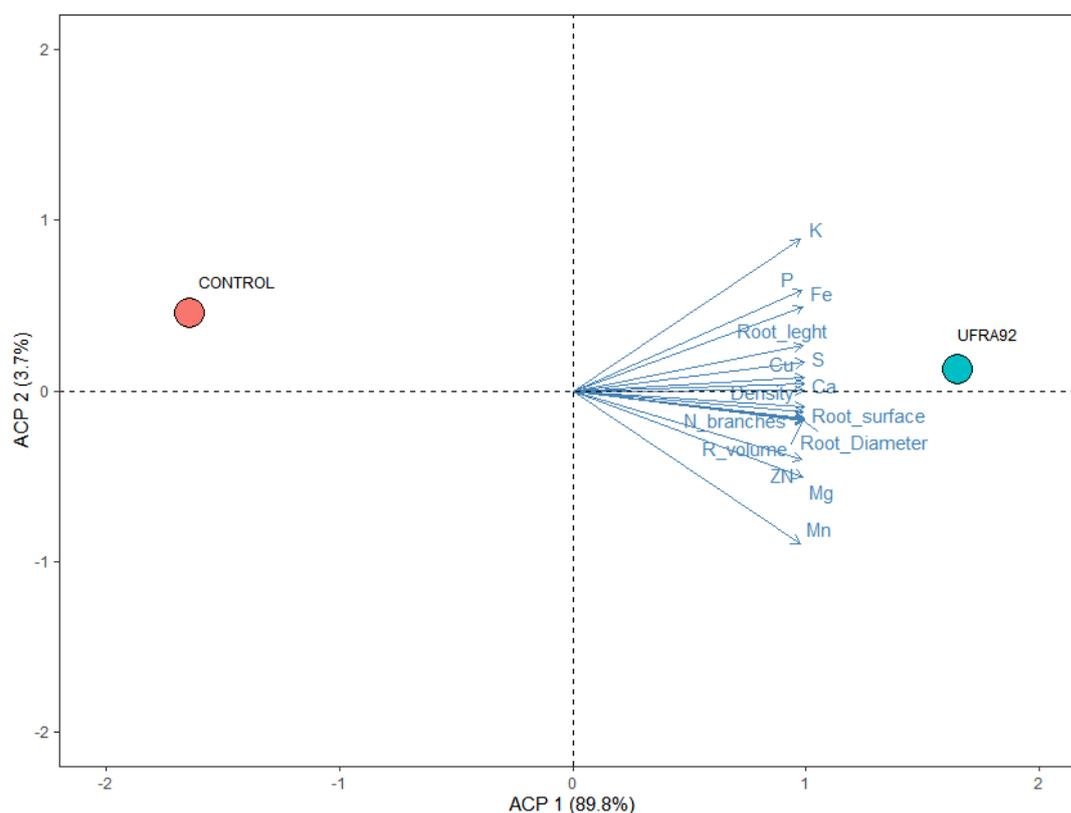
580 Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas
581 controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como média de cinco repetições.

582

583 4.4 Análise de componentes principais (ACP)

584 A análise de componentes principais realizada com os dados de morfologia,
585 topologia, macro e micronutrientes, revelou dois componentes principais que explicaram

586 93,5% da variabilidade total dos dados, sendo 89,8% para componente principal 1 (ACP 1)
 587 e 3,7% para a componente principal 2 (ACP 2). A CP1 foi influenciada principalmente por
 588 K, P, Fe, diâmetro das raízes, densidade, volume total, comprimento total das raízes, área
 589 total de superfície, número de pontas e ramificação com autovetores positivos. A CP2 foi
 590 influenciada negativamente pelo diâmetro das raízes, área total de superfície, volume total,
 591 comprimento total das raízes, densidade, S, Zn e K em plantas não tratadas (Figura 3).



592

593 **Figura. 3.** Análise de componentes principais do acúmulo de macro e micronutrientes e variáveis de
 594 morfologia e topologia em mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) sem inoculação, e com inoculação do *B.*
 595 *subtilis* (UFRA 92).

596

597 5 DISCUSSÃO

598

599 Os resultados apresentados neste estudo sustentam a hipótese de que o *Bacillus*
 600 *subtilis* (UFRA 92) promove alterações específicas na arquitetura radicular que favorecem a
 601 absorção de nutrientes e a eficiência do uso de nutrientes (NUE). As modificações na
 602 arquitetura radicular ocasionada pela bioestimulação da rizobactéria UFRA 92 bioinoculadas
 603 na raiz evidenciam a acúmulo de matéria seca investida no crescimento radicular, tais
 604 benefícios impactaram nos processos relacionados absorção de água e nutrientes.

605

606 As plantas inoculadas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) aumentaram o comprimento
 total de raízes em 57% e o número de ramificações (raízes laterais) em 62% em plantas

607 cultivadas em casa de vegetação, bem como o volume radicular em 195% e a densidade de
608 comprimento em 57% em mudas de açazeiro (Tabela 1), indicando sistema radicular mais
609 longo e ramificado. Resultados semelhantes foram relatados em palmeiras por Castro et al.
610 (2019) e Lima et al. (2021) em experimentos em casa de vegetação. Um sistema radicular
611 mais longo e ramificado induzido pelo *Bacillus subtilis* (UFRA 92) permitiram que as raízes
612 atingissem as camadas mais profundas do solo, favorecendo melhor ancoragem (Lynch,
613 1995; El Zemrany et al., 2006) e, conseqüentemente, aumentos na aquisição de nutrientes
614 com baixa mobilidade no solo (Sharma et al. 2013; Goswami et al. 2014; Verma et al. 2015;
615 Marques et al. 2018).

616 Os benefícios na morfologia radicular em mudas de açazeiro induzidas por *B.*
617 *subtilis* (UFRA 92) foram importante na aquisição do fósforo (P) em 238%, potássio (K) em
618 134% e ferro (Fe) em 152% nas plantas inoculadas (Tabela 2), pois a relativa imobilidade
619 desses nutrientes torna sua aquisição dependente de maior exploração do solo pelas raízes,
620 isso é consistente com nossos resultados encontrados para comprimento total das raízes em
621 57%, área de superfície em 130% e volume em 195% (Tabela 1) (Richardson et al. 2009;
622 Ramaekers et al. 2010; Li et al. 2014; Zahid et al. 2015; Marques et al. 2022). O aumento na
623 área de superfície radicular está relacionada à absorção de nutrientes, pois uma maior área
624 superficial pode ajudar a planta a obter nutrientes que estão deficientes ou apresente baixa
625 mobilidade no solo (Sharma et al. 2013; Goswami et al. 2014; Verma et al. 2015; Marques
626 et al. 2018). Em um ambiente desfavorável, o crescimento radicular (para maior exploração
627 do solo) é de suma importância, assim como o uso de rizobactérias benéficas favorece a
628 adaptabilidade às variações ambientais (Rogers e Benfey 2015; Tron et al. 2015), mostrando
629 ser uma tecnologia promissora para maximizar a produtividade das plantas (Ristova et al.
630 2013; Kong et al. 2014; Rogers and Benfey 2015).

631 Outra explicação plausível para absorção dos nutrientes de baixa mobilidade do solo
632 pode estar relacionada no aumento do comprimento de raiz na classe de diâmetro (1-2 mm),
633 tal resultado evidencia maior prolongamento em extensão do sistema radicular no solo
634 (Eissenstat 1991), maior capacidade de absorção (Moretti et al. 2020) e maior interceptação
635 radicular dos nutrientes (134% para K, 238% para P e 152% para Fe). Sendo as raízes finas
636 mais plásticas em relação raízes espessas, geralmente apresentam renovação rápida e
637 constante (Zangaro et al. 2014; Giehl et al. 2014), fato esse que confere facilidade em realizar
638 a exploração da fertilidade do solo e absorver maior quantidade de água e nutrientes do que
639 as raízes mais espessas (Hodge 2004; Giehl et al. 2014; Erktan et al. 2018), o que poderia
640 explicar a maior tolerância à restrição hídrica (Vacheron et al. 2013; Castro et al. 2019b) e

641 eficiência no uso dos nutrientes (Meena et al. 2017; Lima et al. 2021; Cardoso et al. 2021)
642 atribuída a bioinoculação.

643 As plantas bioinoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) aumentaram a proporção de
644 raízes com menor diâmetro em 40% (Figura 2), o que possibilitou essas plantas aumentar a
645 condutância hidráulica e a superfície de contato com água do solo, sendo uma característica
646 de aumento da produtividade durante períodos de seca prolongada (Comas et al. 2013).
647 Mudanças de açazeiro inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) apresentaram aumento de raízes
648 dentro a classe de diâmetro (<2 mm) em 46% para comprimento de raízes total, em 36% para
649 área de superfície e, em 41% para volume, em relação as plantas controle (Figura 2). Castro
650 et al. (2019) relataram que a inoculação do *B. subtilis* (UFRA 92), manteve o potencial
651 hídrico (Ψ_w) em 75% da capacidade de campo (CC), indicando maior eficiência na absorção
652 de água pelas raízes, onde o maior sistema radicular contribuiu para aumentar a aérea de
653 contato das raízes com o solo e aumentou a absorção de água e translocação de nutrientes.

654 O açazeiro tem o sistema radicular monocotiledôneo que consiste em raízes
655 fasciculada e raízes adventícias (Cannon 1949). Essas raízes são constituídas por uma raiz
656 primária, adventícia e laterais, que se distribuem em classes de diâmetros consideradas finas
657 (0-2 mm) e espessas (>3 mm) (Castellanos et al. 2001; Lima et al. 2012), como observado
658 na muda controle no presente estudo. Entretanto, a inoculação com *B. subtilis* (UFRA 92)
659 em mudas de açazeiro aumentou o número de classes de diâmetros de 0-1, 1-2, 2-3, 3-4 e >
660 4,5 mm. A adição de novas classes de diâmetro, principalmente para classe de maior
661 diâmetro (> 4,5 mm), favoreceu o transporte de água e nutrientes do solo de forma eficiente
662 e por serem mais lignificadas as raízes são menos vulneráveis a dessecação e danos físicos
663 (Fitter 1987). Além disso, pode ter evitado o colapso do solo devido à sua massa, resistência
664 à flexão e rigidez (Freschet et al. 2021). Em conjunto, esses demonstram maior produção de
665 raízes atribuída ao efeito promovido pelo bioinoculante (UFRA 92), auxiliando na absorção
666 dos nutrientes e água ao longo prazo, contribuindo para crescimento em ambientes
667 heterogêneos e em constante mudança (Freschet et al. 2021).

668 As modificações na arquitetura radicular em plantas inoculadas com *B. subtilis*
669 (UFRA 92), pode estar associado a produção de AIA pelo bioinoculado que é capaz de
670 estimular atividade do meristema radicular, alongamento e diferenciação das células
671 radiculares, bem como o desenvolvimento de raízes laterais a partir do periciclo (Duca et al.
672 2014) que, em combinação, podem aumentar o comprimento e o volume da raiz, como
673 observados em nossos resultados (Tabela 1). Lima et al. (2020), reportaram que palma de
674 óleo inoculada com *B. amyloliquefaciens* (UFRAB01) proporcionaram acúmulo de AIA, o

675 qual induziu o crescimento radicular das plantas de palma de óleo favorecendo maior área
676 específica de absorção e conseqüente exploração do solo, beneficiando o processo de
677 absorção de água e de nutrientes, resultando no maior acúmulo de biomassa nas mudas que
678 foram bioinoculadas.

679 Combinado com os efeitos positivos na indução do AIA nas raízes do açazeiro, é
680 possível que a bioinoculação do *Bacillus subtilis* (UFRA 92) tenha reduzido os níveis de
681 etileno nas raízes pela atividade da enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC)
682 desaminase. Essa enzima regula a síntese de etileno clivando seu precursor ácido, ACC
683 (Belimov et al. 2009; Siddikee et al. 2011), diminuindo assim os efeitos negativos do etileno
684 sobre o crescimento e permitindo o crescimento do sistema radicular em plantas inoculadas.

685 O crescimento precoce das raízes aos cinco meses de idades (Figura 1B), em plantas
686 bioestimuladas com UFRA 92, pode estar associada ao equilíbrio entre as auxinas e
687 citocininas pelo processo de indução do isolado. O efeito positivo no desenvolvimento das
688 raízes, sugere que o *B. subtilis* (UFRA 92) disponibiliza a citocinina para controlar a taxa de
689 diferenciação entre raízes - retroalimentação (Dello Ioio et al. 2007), otimizando o
690 crescimento radicular permitindo superar limitações ambientais como déficit hídrico e/ou
691 deficiência nutricional. Isso pode ser demonstrado no comprimento total (em 46% para 1-2
692 mm, em 215% para 2-3 mm, em 323% para 3-4 mm e, em 965% para > 4,5 mm – Figura
693 2A), a área superficial (em 41% para 1-2 mm, em 235% para 2-3 mm, em 311% para 3-4
694 mm e, em 959% para > 4,5 mm-Figura 2B) e o volume total (em 32% para 1-2 mm, em
695 213% para 2-3 mm, em 334% para 3-4 mm e, em 999% para > 4,5 mm ; Figura 2C) da raiz,
696 de acordo com a classe de diâmetro da raiz.

697 Todas essas mudanças induzidas pelo *B. subtilis* (UFRA 92) na arquitetura radicular
698 em mudas de açazeiro foi intimamente ligada à atividade fotossintética das folhas, o
699 bioinoculante induziu um aumento de 53% do carbono (C) fixado pela atividade
700 fotossintética (Capítulo 2 – Figura 4A), o qual sugerem uma translocação para o solo, onde
701 o *B. subtilis* (UFRA 92) associado às raízes usou para beneficiar o crescimento das plantas
702 e metabolização. Resultados semelhantes forma encontrados em açazeiro, coqueiro e arroz,
703 em que uma estimativa de até 33%, 48% e 60% do carbono (C) fixado pela fotossíntese
704 (Hernández et al. 2015; Castro et al. 2019a; Cardoso et al. 2021). Análogo a isso, Cardoso
705 et al. (2021), relataram uma possível estimulação da atividade fotossintética em resposta à
706 inoculação com *Bacillus cereus* em plantas de coqueiro, que forneceu N biologicamente
707 fixado e substâncias promotoras de crescimento benéficas como ácido indolacético em 190%
708 e ácido giberélico em 31%. Todos esses achados corroboram com acúmulo da biomassa das

709 raízes (Figura 1) e na eficiência na absorção dos nutrientes (em 134% para K, em 238% para
710 P, em 315% para Ca e, em 152% para Fe – Tabela 2).

711 O aumento da área de superfície e número de pontas e ramificações da raiz é o
712 primeiro passo para melhorar o uso eficiente de nutrientes (NUE) que sustentam o
713 crescimento e a produtividade das plantas (Singh et al. 2013; Prieto et al. 2017), como
714 observados em nossos resultados (Tabela 1 e 3). A eficiência no uso de nutrientes (NUE)
715 depende da capacidade da planta de absorver nutrientes de forma eficiente do solo, mas
716 também depende do transporte interno, armazenamento e remobilização de nutrientes (Prieto
717 et al. 2017). A bioinoculação do *B. subtilis* (UFRA 92) no solo pode ter promovido maior
718 aquisição de nutrientes (e.g., transporte, armazenamento e mobilização) e,
719 conseqüentemente, maior eficiência de utilização desses, resultando em maior biomassa
720 acumulada das raízes (Figura 1).

721 O uso de microrganismos como bioinoculante é uma alternativa promissora na
722 redução das perdas por nutrientes em solo e redução dos impactos ambientais ocasionadas
723 pelo uso excessivo de fertilizantes químicos (Meena et al. 2017). De modo geral, sob
724 condições naturais, a inoculação do *Bacillus subtilis* (UFRA 92) promoveu a eficiência de
725 uso de macro e micronutrientes em *Euterpe oleracea*. O conteúdo de macro e
726 micronutrientes aumentou nas mudas de açazeiro bioinoculadas com *Bacillus subtilis*
727 (UFRA 92) devido principalmente aos incrementos em 195% na área de superfície e, em
728 130% no volume radicular (Tabela 1). O estado nutricional das mudas de açazeiro,
729 demonstrado pelo acúmulo em 134% para potássio (K), em 70% para magnésio (Mg), em
730 238% para fósforo (P), em 315% para cálcio (Ca), em 246% para enxofre (S), em 230% para
731 cobre (Cu), em 152% para ferro (Fe), em 240% para manganês (Mn) e, em 150% para zinco
732 (Zn), em relação ao tratamento controle (Tabela 2). Os resultados podem estar associados
733 também na capacidade das rizobactérias de enriquece o solo com os principais nutrientes,
734 como nitrogênio (N), fixando-o da atmosfera, fósforo (P) e potássio (K) solubilizando-os do
735 solo (Richardson et al. 2009; Miransari 2013; Patel et al. 2015; Pii et al. 2015; Zahid et al.
736 2015). Elas também auxiliam na biodisponibilidade de Zn solubilizando-o de vários
737 minérios como $Zn_3(PO_4)_2$, $ZnCO_3$ e ZnO (Sirohi et al. 2015). Na produção de sideróforos,
738 que são compostos quelantes de ferro de baixo peso molecular com grande afinidade e
739 seletividade para se ligar e formar um complexo de Fe (III), reduzindo Fe^{3+} a Fe^{2+} (Hider
740 and Kong 2010; Ghazy e El-Nahrawy 2021).

741 Conforme observado na tabela 3, os incrementos foram significativos em 384% para
742 K, em 154% para Mg, em 58% para P, em 108% para Ca, em 139% para S, 123% para Cu,

743 em 400% para Fe, em 33% para Mn e, em 50% para Zn, em relação as plantas controle. A
744 eficiência do NUE nas plantas de açaizeiro por indução do isolado *Bacillus subtilis* (UFRA
745 92), sugerem o estabelecimento de cultivos economicamente viáveis, pois a quantidade de
746 nutrientes absorvidos e acumulados determinou a eficiência nutricional das plantas (Ruiz et
747 al. 2019).

748 **6 CONCLUSÃO**

749 A bioinoculação com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) alterou a arquitetura do sistema
750 radicular de mudas de açaizeiro. Que resulta na maior taxa de absorção de água e
751 contribuindo para a obtenção de mudas de qualidade para o campo em menos tempo e menor
752 custo de produção. O uso de microrganismos é uma alternativa promissora para melhor
753 desenvolvimento de raízes em de mudas de açaizeiro e reduzir as perdas por nutrientes no
754 ambiente.

755

756 **REFERÊNCIAS**

- 757 Alberto C, Veloso C, Danilo C, et al (2010) Influência da aplicação de doses potássio e boro na
758 formação do açaizeiro em Latossolo Amarelo do Nordeste Paraense. 3–6
- 759 Ambreetha S, Chinnadurai C, Marimuthu P, Balachandar D (2018) Plant-associated *Bacillus*
760 modulates the expression of auxin-responsive genes of rice and modifies the root architecture.
761 *Rhizosphere* 5:57–66. <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2017.12.001>
- 762 Araujo FF, Bonifacio A, Bavaresco LG, et al (2021) *Bacillus subtilis* changes the root architecture
763 of soybean grown on nutrient-poor substrate. *Rhizosphere* 18:100348.
764 <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2021.100348>
- 765 Araújo FRR, Viégas I de JM, da Cunha RLM, de Vasconcelos WLF (2016) Efeito da omissão de
766 nutrientes no crescimento e estado nutricional de mudas de açaizeiro. *Pesqui Agropecu Trop*
767 46:374–382. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4640770>
- 768 Arsenault L, Poulcur S, Guay C, Messier R (1995) WinRHIZO™, a Root-measuring System with a
769 Unique Over- lap Correction Method
- 770 Bavaresco LG, Osco LP, Araujo ASF, et al (2020) *Bacillus subtilis* can modulate the growth and root
771 architecture in soybean through volatile organic compounds. *Theor Exp Plant Physiol* 32:99–
772 108. <https://doi.org/10.1007/S40626-020-00173-Y>
- 773 Belimov AA, Dodd IC, Hontzas N, et al (2009) Rhizosphere bacteria containing 1-
774 aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via
775 both local and systemic hormone signalling. *New Phytol* 181:413–423.
776 <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2008.02657.X>
- 777 Blake C, Christensen MN, Kovács ÁT (2020) Molecular Aspects of Plant Growth Promotion and
778 Protection by *Bacillus subtilis*. *Mol Plant-Microbe Interact* X:MPMI-08-20-0225.
779 <https://doi.org/10.1094/mpmi-08-20-0225-cr>
- 780 Cannon WA (1949) A Tentative Classification of Root Systems. *Ecology* 30:542–548.
781 <https://doi.org/10.2307/1932458>
- 782 Cardoso AF, Alves EC, da Costa SDA, et al (2021) *Bacillus cereus* Improves Performance of
783 Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. *Front*
784 *Plant Sci* 12:. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.649487/FULL>
- 785 Castellanos J, Jaramillo VJ, Sanford RL, Kauffman JB (2001) Slash-and-burn effects on fine root
786 biomass and productivity in a tropical dry forest ecosystem in México. *For Ecol Manage*
787 148:41–50. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00523-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00523-5)
- 788 Castro GL., Rêgo MC., Silvestre WV., et al (2019a) Açaí palm seedling growth promotion by
789 rhizobacteria inoculation. *Brazilian J Microbiol* 51:205–216. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2>
- 791 Castro GLS, da Silva Júnior DD, Viana RG, et al (2019b) Photosynthetic apparatus protection and
792 drought effect mitigation in açaí palm seedlings by rhizobacteria. *Acta Physiol Plant* 41:1–12.
793 <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2952-4>
- 794 Cattanio JH, Anderson AB, Carvalho MS (2002) Floristic composition and topographic variation in
795 a tidal floodplain forest in the Amazon Estuary. *Rev Bras Botânica* 25:419–430.
796 <https://doi.org/10.1590/s0100-84042002012000006>
- 797 CEM-PA (1997) Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará. Normas técnicas e padrões para
798 a produção de mudas fiscalizadas no Estado de Pará. 40
- 799 Comas L, Becker S, Cruz VM V., et al (2013) Root traits contributing to plant productivity under
800 drought. *Front Plant Sci* 0:442. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2013.00442>

- 801 Dello Ioio R, Linhares FS, Scacchi E, et al (2007) Cytokinins Determine Arabidopsis Root-Meristem
802 Size by Controlling Cell Differentiation. *Curr Biol* 17:678–682.
803 [https://doi.org/10.1016/J.CUB.2007.02.047/ATTACHMENT/FF773720-FDA0-4A77-A207-](https://doi.org/10.1016/J.CUB.2007.02.047/ATTACHMENT/FF773720-FDA0-4A77-A207-410B0AE351E3/MMC1.PDF)
804 [410B0AE351E3/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/J.CUB.2007.02.047/ATTACHMENT/FF773720-FDA0-4A77-A207-410B0AE351E3/MMC1.PDF)
- 805 Den Herder G, Van Isterdael G, Beeckman T, De Smet I (2010) The roots of a new green revolution.
806 *Trends Plant Sci* 15:600–607. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.009>
- 807 Duca D, Lorv J, Patten CL, et al (2014) Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie*
808 *van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*
- 809 Earl AM, Losick R, Kolter R (2008) Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends Microbiol.*
- 810 Eissenstat D (1991) On the relationship between specific root length and the rate of root proliferation:
811 a field study using citrus rootstocks. *New Phytol* 118:63–68. [https://doi.org/10.1111/J.1469-](https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1991.TB00565.X)
812 [8137.1991.TB00565.X](https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1991.TB00565.X)
- 813 Erktan A, McCormack ML, Roumet C (2018) Frontiers in root ecology: recent advances and future
814 challenges. *Plant Soil* 424:1–9. <https://doi.org/10.1007/S11104-018-3618-5/FIGURES/1>
- 815 Farias Neto JT (2019) BRS Pai d'égua : cultivar de açaí para terra firme com suplementação hídrica.
816 8
- 817 Fitter AH (1987) AN ARCHITECTURAL APPROACH TO THE COMPARATIVE ECOLOGY OF
818 PLANT ROOT SYSTEMS. *New Phytol* 106:61–77. [https://doi.org/10.1111/j.1469-](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04683.x)
819 [8137.1987.tb04683.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04683.x)
- 820 Freschet GT, Roumet C, Comas LH, et al (2021) Root traits as drivers of plant and ecosystem
821 functioning: current understanding, pitfalls and future research needs. *New Phytol* 232:1123–
822 1158. <https://doi.org/10.1111/NPH.17072>
- 823 Ghazy N, El-Nahrawy S (2021) Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and
824 *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis*
825 in maize plant. *Arch Microbiol* 203:1195–1209. [https://doi.org/10.1007/S00203-020-02113-](https://doi.org/10.1007/S00203-020-02113-5/TABLES/4)
826 [5/TABLES/4](https://doi.org/10.1007/S00203-020-02113-5/TABLES/4)
- 827 Giehl RFH, Gruber BD, Von Wirén N (2014) It's time to make changes: modulation of root system
828 architecture by nutrient signals. *J Exp Bot* 65:769–778. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERT421>
- 829 Goswami D, Dhandhukia P, Patel P, Thakker JN (2014) Screening of PGPR from saline desert of
830 Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiol Res*
831 169:66–75. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2013.07.004>
- 832 Haling RE, Yang Z, Shadwell N, et al (2016) Root morphological traits that determine phosphorus-
833 acquisition efficiency and critical external phosphorus requirement in pasture species. *Funct*
834 *Plant Biol* 43:815–826. <https://doi.org/10.1071/FP16037>
- 835 Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd_Allah E (2019) *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting
836 rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi J Biol Sci* 26:1291–1297.
837 <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2019.05.004>
- 838 Hernández M, Dumont MG, Yuan Q, Conrad R (2015) Different bacterial populations associated
839 with the roots and rhizosphere of rice incorporate plant-derived carbon. *Appl Environ Microbiol*
840 81:2244–2253. [https://doi.org/10.1128/AEM.03209-](https://doi.org/10.1128/AEM.03209-14/SUPPL_FILE/ZAM999116128SO1.PDF)
841 [14/SUPPL_FILE/ZAM999116128SO1.PDF](https://doi.org/10.1128/AEM.03209-14/SUPPL_FILE/ZAM999116128SO1.PDF)
- 842 Hider RC, Kong X (2010) Chemistry and biology of siderophores. *Nat Prod Rep* 27:637–657.
843 <https://doi.org/10.1039/B906679A>
- 844 Himmelbauer ML, Loiskandl W, Kastanek F (2004) Estimating length, average diameter and surface
845 area of roots using two different Image analyses systems. In: *Plant and Soil*

- 846 Hodge A (2004) The Plastic Plant: Root Responses to Heterogeneous Supplies of Nutrients. Source
847 New Phytol 162:9–24. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01015.x>
- 848 Hodges M (2002) Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium
849 assimilation. In: Journal of Experimental Botany
- 850 IBGE 2019 (2019) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Maio 2019
- 851 Jungk A (2001) Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil. J Plant Nutr Soil Sci
852 164:121–129. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200104\)164:2<121::AID-](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200104)164:2<121::AID-JPLN121>3.0.CO;2-6)
853 [JPLN121>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200104)164:2<121::AID-JPLN121>3.0.CO;2-6)
- 854 Kado CI, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium,
855 Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. Phytopathology 60:969–976.
856 <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969>
- 857 Kasim WA, Osman ME, Omar MN, et al (2013) Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-
858 Growth-Promoting Bacteria. J Plant Growth Regul 32:122–130.
859 <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9283-7>
- 860 Kist V, Silveira G Da, Costa PM de A, et al (2015) Nutrient use efficiency in sugarcane cultivars.
861 Científica 43:117. <https://doi.org/10.15361/1984-5529.2015v43n2p117-125>
- 862 Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A (1966) Determinação da umidade do solo pelo
863 método das pesagens. An da Esc Super Agric Luiz Queiroz 23:15–30.
864 <https://doi.org/10.1590/S0071-12761966000100003>
- 865 Kong X, Zhang M, De Smet I, Ding Z (2014) Designer crops: optimal root system architecture for
866 nutrient acquisition. Trends Biotechnol 32:597–598.
867 <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2014.09.008>
- 868 Li K, Pidatala VR, Shaik R, et al (2014) Integrated metabolomic and proteomic approaches dissect
869 the effect of metal-resistant bacteria on maize biomass and copper uptake. Environ Sci Technol
870 48:1184–1193. <https://doi.org/10.1021/ES4047395>
- 871 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2021) Rhizobacteria modify root architecture and improve
872 nutrient uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. Rhizosphere 100420.
873 <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2021.100420>
- 874 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2020) Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria
875 enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. Sci Hortic (Amsterdam) 264:109161.
876 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- 877 Lima TTS, Miranda IS, Vasconcelos SS (2012) Fine-root production in two secondary forest sites
878 with distinct ages in Eastern Amazon. Acta Amaz 42:95–104. [https://doi.org/10.1590/S0044-](https://doi.org/10.1590/S0044-59672012000100012)
879 [59672012000100012](https://doi.org/10.1590/S0044-59672012000100012)
- 880 Lynch JP (2007) Roots of the Second Green Revolution. Aust J Bot 55:493–512.
881 <https://doi.org/10.1071/BT06118>
- 882 Marques D, Pereira M, Bianchini H, Batista D (2018) Tomato genotypes grown under phosphorus
883 deficiency stress. Open Access J Agric Res 3:. <https://doi.org/10.23880/OAJAR-16000153>
- 884 Marques DJ, Clarete Da Silva E, Andrés J, et al (2022) Variation in the dynamic of absorption and
885 efficiency of phosphorus use in tomato. Sci Reports 2022 121 12:1–14.
886 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08337-3>
- 887 Meena VS, Meena SK, Verma JP, et al (2017) Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM)
888 strategies to improve nutrients use efficiency: A review. Ecol Eng 107:8–32.
889 <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2017.06.058>

- 890 Miransari M (2013) Soil microbes and the availability of soil nutrients. *Acta Physiol Plant* 35:3075–
891 3084. <https://doi.org/10.1007/S11738-013-1338-2/TABLES/2>
- 892 Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA (1982) Analysis and Interpretation of Factors Which
893 Contribute to Efficiency of Nitrogen Utilization 1. *Agron J*.
894 <https://doi.org/10.2134/agronj1982.00021962007400030037x>
- 895 Moretti LG, Crusciol CAC, Kuramae EE, et al (2020) Effects of growth-promoting bacteria on
896 soybean root activity, plant development, and yield. *Agron J* 112:418–428.
897 <https://doi.org/10.1002/AGJ2.20010>
- 898 Oliveira MSP, Farias Neto JT (2004) Cultivar BRS-Pará: Açaizeiro para Produção de Frutos em
899 Terra Firme. *Embrapa, Comun Técnico* 114:1–3
- 900 Parolin P, De Simone O, Haase K, et al (2004) Central amazonian floodplain forests: Tree adaptations
901 in a pulsing system. *Bot. Rev.* 70:357–380
- 902 Patel RR, Thakkar VR, Subramanian BR (2015) A *Pseudomonas guariconensis* strain capable of
903 promoting growth and controlling collar rot disease in *Arachis hypogaea* L. *Plant Soil* 390:369–
904 381. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2436-2>
- 905 Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, et al (2015) Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial
906 influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review.
907 *Biol. Fertil. Soils* 51:403–415
- 908 Prieto KR, Echaide-Aquino F, Huerta-Robles A, et al (2017) Endophytic bacteria and rare earth
909 elements; promising candidates for nutrient use efficiency in plants. *Plant Macronutr Use Effic*
910 *Mol Genomic Perspect Crop Plants* 285–306. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811308-0.00016-8>
- 912 Ramaekers L, Remans R, Rao IM, et al (2010) Strategies for improving phosphorus acquisition
913 efficiency of crop plants. *F Crop Res* 117:169–176. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2010.03.001>
- 914 Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C (2009) Acquisition of phosphorus and
915 nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 2009
916 3211 321:305–339. <https://doi.org/10.1007/S11104-009-9895-2>
- 917 Ristova D, Rosas U, Krouk G, et al (2013) RootScope: a landmark-based system for rapid screening
918 of root architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 161:1086–1096.
919 <https://doi.org/10.1104/PP.112.210872>
- 920 Rogers ED, Benfey PN (2015) Regulation of plant root system architecture: implications for crop
921 advancement. *Curr Opin Biotechnol* 32:93–98. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2014.11.015>
- 922 Rondina ABL, Tonon BC, Lescano LEAM, et al (2019) Plants of Distinct Successional Stages Have
923 Different Strategies for Nutrient Acquisition in an Atlantic Rain Forest Ecosystem.
924 <https://doi.org/101086/701353> 180:186–199. <https://doi.org/10.1086/701353>
- 925 Ruiz S, Koebernick N, Duncan S, et al (2019) Significance of root hairs at the field scale – modelling
926 root water and phosphorus uptake under different field conditions. *Plant Soil* 2019 4471
927 447:281–304. <https://doi.org/10.1007/S11104-019-04308-2>
- 928 Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA (2013) Phosphate solubilizing microbes: Sustainable
929 approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springerplus* 2:1–14.
930 <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587/FIGURES/3>
- 931 Siddikee MA, Glick BR, Chauhan PS, et al (2011) Enhancement of growth and salt tolerance of red
932 pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with
933 halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity.
934 *Plant Physiol Biochem* PPB 49:427–434. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2011.01.015>

- 935 Silvestre WVD, Pinheiro HA, Souza ROR de M, Palheta LF (2016) Morphological and physiological
936 responses of açaí seedlings subjected to different watering regimes. *Rev Bras Eng Agrícola e*
937 *Ambient* 20:364–371. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n4p364-371>
- 938 Singh RK, Malik N, Singh S (2013) Improved nutrient use efficiency increases plant growth of rice
939 with the use of IAA-overproducing strains of endophytic *Burkholderia cepacia* strain RRE25.
940 *Microb Ecol* 66:375–384. <https://doi.org/10.1007/S00248-013-0231-2>
- 941 Sirohi G, Upadhyay A, Shankar Srivastava P, Srivastava S (2015) PGPR mediated zinc
942 biofertilization of soil and its impact on growth and productivity of wheat. *J Soil Sci Plant Nutr*
943 15:202–216. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000017>
- 944 Todorova S, Kozhuharova L (2010) Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis*
945 strains isolated from soil. *World J Microbiol Biotechnol*. [https://doi.org/10.1007/s11274-009-](https://doi.org/10.1007/s11274-009-0290-1)
946 0290-1
- 947 Tron S, Bodner G, Laio F, et al (2015) Can diversity in root architecture explain plant water use
948 efficiency? A modeling study. *Ecol Modell* 312:200–210.
949 <https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2015.05.028>
- 950 Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, et al (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root
951 system functioning. *Front Plant Sci* 4:356. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2013.00356/BIBTEX>
- 952 Verma P, Yadav AN, Khannam KS, et al (2015) Assessment of genetic diversity and plant growth
953 promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat (*Triticum aestivum*) from the
954 northern hills zone of India. *Ann Microbiol* 65:1885–1899. [https://doi.org/10.1007/S13213-](https://doi.org/10.1007/S13213-014-1027-4/FIGURES/5)
955 014-1027-4/FIGURES/5
- 956 Zahid M, Kaleem Abbasi M, Hameed S, Rahim N (2015) Isolation and identification of indigenous
957 plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on
958 improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Front Microbiol* 6:.
959 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>
- 960 Zangaro W, De Almeida Alves R, De Souza PB, et al (2014) Succession and environmental variation
961 influence soil exploration potential by fine roots and mycorrhizal fungi in an Atlantic ecosystem
962 in southern Brazil. *J Trop Ecol* 30:237–248. <https://doi.org/10.1017/S0266467414000078>
- 963
- 964
- 965
- 966
- 967
- 968
- 969
- 970
- 971
- 972
- 973
- 974

975 **CAPÍTULO II**

976

977 **ALTERAÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS INDUZIDAS POR *Bacillus***
978 ***subtilis* E SEU IMPACTO NO CRESCIMENTO EM *Euterpe oleracea***

979

980

981

982

983

984

985

986

987

988

989

990

991

992

993

994

995

996

997

998

999

1000

1001

1002

1003

1004

1005

LISTA DE ABREVIATURAS

- AIA** - Ácido indolacético
A - Taxa de assimilação líquida de CO₂
2OG - 2 oxoglutarato
ABA - Ácido abscísico
ACP- Análise de componentes principais
ADP- Adenosina difosfato
Ala – Alanina
Asp- Aspartato
ATP- Adenosina trifosfato
BRs - Brassinosteróides
Ca – Cálcio
Chla - Clorofila *a*
Chla/Chlb - Razão entre clorofila *a* e clorofila *b*
Chla+b - Clorofila *a* + clorofila *b*
Chlb - Clorofila *b*
Ci - Concentração intercelular de CO₂
CitB - Aconitato hidratase A
CitZ - Citrato sintase
Cu - Cobre
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
E - Taxa de transpiração
Eno -Enolase
ETR - Taxa de transporte de elétrons
FabA - Aldolase de frutose-bifosfato
Fe – Ferro
Fm - Fluorescência máxima
Fo - Fluorescência inicial
FumC - Fumarato hidratase classe II
Fv/Fo - Atividade potencial do fotossistema II
Fv'/Fm' - Eficiência fotoquímica efetiva
GA - Ácido giberélico
GABA - Ácido gama-aminobutírico
GapB - Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GCMS - Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa
GluC- Proteína de captação de glicose
g_s - Condutância estomática ao vapor d'água

Icd - Isocitrato desidrogenase – NADP
Ile – Isoleucina
K – Potássio
Lys – Lisina
Mdh - Malato desidrogenase
Met- Metionina
MF - Massa fresca
Mg – Magnésio
Mn - Manganês
MS - Massa seca
N - Nitrogênio
NCBI - Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia
OdhB - complexo 2-oxoglutarato desidrogenase
P- Fósforo
Pfk - 6-fosfato isomerase dependente de ATP
Pgi - Glicose-6-fosfato isomerase
Pgk- Fosfoglicerato quinase 2
Pgm2 - 2,3-bisfosfoglicerato
PGPRs - Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas
Pi - Fósforo inorgânico
PSI - Fotossistema I
PSII - Fotossistema II
Pyk -Piruvato quinase
qN - Coeficiente de dissipação não fotoquímica
qP- Coeficiente de dissipação fotoquímica
ROS - Espécies reativas de oxigênio
S – Enxofre
SdhA- Succinato desidrogenase
Ser – Serina
SucC- Succinato-CoA ligase [formadora de ADP] subunidade beta
TCA - Ciclo do ácido tricarboxílico
Thr -Treonina
Trp - Triptofano
UFC - Unidade Formadora de Colônia
UFRA 92 - *Bacillus subtilis*
ysnE - N-acetiltransferase
Zn – Zinco

LISTA DE FIGURAS

1008

- 1009 **Figura 1.** Níveis de Sacarose[A]; Frutose [B]; Glicose [C]; Amido [D]; Malato [E]; e Fumarato [F], em plantas
1010 de açaizeiro bioestimuladas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os valores
1011 determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os
1012 valores são apresentados com médias de quatro repetições.....62
1013
- 1014 **Figura 2.** Análise de componentes principais - ACP para as varáveis de crescimento, biomassa, trocas gasosas,
1015 fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, perfil metabólico e macro e micronutrientes
1016 em *Euterpe oleracea* inoculada com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) e não inoculada.....65
- 1017 **Figura 3.** Avaliação do crescimento de plantas de *Euterpe oleracea* inoculadas com *Bacillus subtilis* (UFRA
1018 92). [A] Aspecto visual da parte aérea e raiz das mudas de açaizeiro e [B, C, D, E, F e G] parâmetros
1019 biométricos em mudas de açaizeiro inoculada com isolado de *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os
1020 asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das
1021 plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de cinco repetições.....66
- 1022 **Figura 4.** Avaliação do comportamento da [A] taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), [B] condutância
1023 estomática ao vapor de água (*g_s*), [C] concentração intercelular de CO₂ (*C_i*) e [D] transpiração (*E*)
1024 em mudas de açaizeiro inoculadas com o isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam
1025 que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle
1026 ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como médias de quatro repetições.....67
1027
- 1028 **Figura 5.** [A] Fluorescência inicial (*F_o*), [B] fluorescência máxima (*F_m*), [C] atividade potencial do PSII
1029 (*F_v/F_o*), [D] eficiência fotoquímica efetiva do PSII (*F_v'/F_m'*), [E] coeficientes de extinção
1030 fotoquímica (*q_p*), [F] não fotoquímica (*q_N*) e [G] taxa de transferência de elétrons (ETR) em mudas
1031 de açaizeiro inoculadas com o isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os
1032 valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$).
1033 Os valores são apresentados com médias de quatro repetições.....68
1034
- 1035 **Figura 6.** [A] Teores totais de clorofila *a*, [B] clorofila *b*, [C] clorofila *a* + clorofila *b*, [D] razão entre *Chl a* e
1036 *Chl b* e [E] carotenoides em mudas de açaizeiro inoculadas com o isolado *Bacillus subtilis* (UFRA
1037 92). Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes
1038 das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de quatro repetições.....69
1039
- 1040
- 1041
- 1042
- 1043
- 1044
- 1045
- 1046
- 1047
- 1048
- 1049
- 1050

LISTA DE TABELAS

1051

1052

1053 **Tabela 1:** Metabólitos encontrados na parte aérea de *Euterpe oleracea* bioestimuladas com *Bacillus subtilis*
1054 (UFRA 92) e não bioestimuladas.....64
1055

1056 **Tabela 2.** Acúmulo de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em folhas de mudas de açazeiro
1057 (*Euterpe oleracea*) sem inoculação (controle), e com inoculação do *Bacillus subtilis* (UFRA 92)..70
1058

1059 **Tabela suplementar.** Metabólitos de folhas tratadas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) usados para a análise
1060 multivariada e sua contribuição para a separação de cada componente principal.....78

1061

1062

1063 **ALTERAÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS INDUZIDAS POR *Bacillus***
1064 ***subtilis* (UFRA 92) E SEU IMPACTO NO CRESCIMENTO EM *Euterpe oleracea***

1065 **RESUMO**

1066 O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) na agricultura está
1067 ganhando cada vez mais força e chamando a atenção científica para interpretar as interações
1068 moleculares entre rizobactérias e plantas. Embora o *Bacillus subtilis* tenham demonstrado
1069 melhorar a fitossanidade e o crescimento em palmeiras, as alterações moleculares
1070 subjacentes à promoção do crescimento permanecem pouca conhecidas. Assim, este trabalho
1071 objetivou investigar a ação do *Bacillus subtilis* (UFRA 92) no metabolismo primário em
1072 *Euterpe oleracea*. Os tratamentos consistiam em plantas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA
1073 92) e plantas controle (não inoculadas). Os dados de biometria e biomassa, trocas gasosas,
1074 trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, níveis de metabólitos,
1075 perfil metabólico e nutrientes foram examinados pelo teste t. ($P \leq 0.05$). Os resultados
1076 evidenciam que a bioinoculação com *B. subtilis* (UFRA 92) alterou a concentração de
1077 aminoácidos e os principais precursores para síntese de fitohormônios, 39% de ascorbato,
1078 39% de adenina e 69% de triptofano, alteração na concentração de 49% de 2 oxoglutarato,
1079 90% de citrato, 48% de malato e 27% de succinato que são intermediários do ciclo dos ácidos
1080 tricarboxílico e o teor de carboidratos de 35% de frutose, 36% de glicose 25% de sacarose e
1081 34% para trealose e seus derivados (24% de glicerato, 22% de glicolato, 41% de maltose,
1082 37% de rafinose, 68% de ribose, 25% e, 34% para trealose) em plantas de açazeiro quando
1083 bioestimuladas. A bioinoculação com *Bacillus subtilis* em plantas do açazeiro promoveu
1084 significativa alteração no metabolismo do carbono e consequente alteração no crescimento
1085 e desenvolvimento da planta. A regulação no metabolismo dos aminoácidos beneficiou o
1086 metabolismo celular, através da síntese proteica, regulação da divisão celular e na
1087 disponibilidade de energia para plantas bioinoculadas. A eficiência na utilização dos níveis
1088 de carbono e do nitrogênio desempenham importante papel no crescimento, na fixação do
1089 carbono via processo fotossintético (aumento no conteúdo de carboidratos), maior respiração
1090 celular e maior absorção de macro e micronutrientes nas plantas bioinoculadas. Portanto, o
1091 *B. subtilis* interferiu nas vias que coordenam o desenvolvimento e a nutrição da planta para
1092 aumentar a taxa de aquisição de nutrientes e promover a promoção do crescimento em
1093 *Euterpe oleracea*.

1094 **Palavras-chaves:** Açai, Rizobactéria, Produção de Crescimento, Regulação metabólica,
1095 Regulação fotossintética

1096 **METABOLIC AND PHYSIOLOGICAL CHANGES induced by *Bacillus subtilis***
1097 **(UFRA 92) AND IMPACT ON GROWTH IN *Euterpe oleracea***

1098 **ABSTRACT**

1099 The use of plant growth-promoting bacteria (PGPR) in agriculture is gaining more and more
1100 strength and drawing scientific attention to interpret the molecular interactions between
1101 rhizobacteria and plants. Although *Bacillus subtilis* has been shown to improve plant health
1102 and growth in palm trees, the molecular changes underlying growth promotion remain
1103 enigmatic. Thus, this work aimed to investigate the action of *Bacillus subtilis* (UFRA 92) on
1104 primary metabolism in *Euterpe oleracea*. The treatments consisted of plants inoculated with
1105 *B. subtilis* (UFRA 92) and control plants (uninoculated). Biometric and biomass data, gas
1106 exchange, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic pigments, metabolite
1107 levels, metabolic profile, and nutrients were examined by the t-test. ($P \leq 0.05$). The results
1108 show that the bioinoculation with *B. subtilis* (UFRA 92) altered the content of amino acids
1109 and the main precursors for the synthesis of phytohormones, 39% of ascorbate, 39% of
1110 adenine, and 69% of tryptophan, alteration in the concentration of 49% of 2 oxoglutarate,
1111 90% citrate, 48% malate and 27% succinate which are intermediates of the tricarboxylic acid
1112 cycle and the carbohydrate content of 35% fructose, 36% glucose 25% sucrose and 34% for
1113 trehalose and their derivatives (24% glycerate, 22% glycolate, 41% maltose, 37% raffinose,
1114 68% ribose, 25% and 34% trehalose) in açai plants when stimulated. Bio-inoculation with
1115 *Bacillus subtilis* in açai plants causes a significant change in carbon metabolism and the
1116 consequent change in plant growth and development. Regulation in amino acid metabolism
1117 benefited cellular metabolism, through protein synthesis, regulation of cell division, and
1118 energy availability for bioinoculated plants. Efficiency in the use of carbon and nitrogen
1119 levels plays an important role in growth, carbon fixation via photosynthetic process (increase
1120 in carbohydrate content), greater cellular respiration, and greater absorption of macro and
1121 micronutrients in bioinoculated plants. Therefore, *B. subtilis* interfered with pathways that
1122 coordinate plant development and nutrition to increase the rate of nutrient acquisition and
1123 promote growth in *Euterpe oleracea*.

1124 **Keywords:** Açai, Rhizobacteria, Growth production, Metabolic regulation, Photosynthetic
1125 regulation

1126

1127

1128 7 INTRODUÇÃO

1129 O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) se tornou uma cultura próspera na Amazônia,
1130 com significativo aumento de produção ao longo das últimas décadas, com o estado do Pará
1131 figurando como maior produtor nacional (IBGE, 2019). Entretanto, o cultivo de *E. oleracea*,
1132 se mostra desafiador devido à sua alta demanda nutricional (Araújo et al. 2016) e alta
1133 sensibilidade ao déficit hídrico (Silvestre et al. 2017; Oliveira et al. 2019). Além disso, as
1134 sementes de açaí, a sua principal via de propagação, apresentam taxa de germinação lenta e
1135 desuniforme, mudas com baixo vigor e qualidade principalmente devido à incidência de
1136 manchas foliares causada pela antracnose (Castro et al. 2017; dos Santos et al. 2022).

1137 Vários estudos relatam a utilização das rizobactérias para promover o crescimento de
1138 palmeiras, como em açaizeiro (Castro et al. 2019), palma de óleo (Lima et al. 2021) e
1139 coqueiro (Cardoso et al. 2021). Naturalmente, as rizobactérias encontradas nos solos,
1140 mantêm interações mutualísticas com as raízes das plantas permitem que as plantas cresçam
1141 e tolerem vários estresses bióticos e abióticos (Dimkpa et al. 2009; Yang et al. 2009). A
1142 aplicação de rizobactérias (e.g., *Bacillus* sp., *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. subtilis* e
1143 *Brevibacillus* sp.) via biofertilização pode alterar o desempenho fotossintético, hormonal,
1144 nutricional e alterar algumas características anatômicas das plantas (Lucy et al. 2004; Lwin
1145 et al. 2012; Samaniego-Gámez et al. 2016; Lima et al. 2020; Costa-Santos et al. 2021;
1146 Cardoso et al. 2021; Fonseca et al. 2022). Apesar dos inúmeros benefícios do *B. subtilis* em
1147 promover o crescimento de plantas, a compreensão dos mecanismos moleculares que
1148 controlam as interações benéficas é ainda incipiente.

1149 Pesquisas recentes têm permitido o avanço na compreensão dos mecanismos
1150 moleculares subjacentes à promoção de crescimento durante o processo de interação planta-
1151 rizobactéria. A partir das técnicas de metabolômica, por exemplo tem sido possível realizar
1152 de maneira robusta a exploração das alterações na abundância de metabólitos e das vias
1153 metabólicas durante o processo de interação planta-microrganismo (Nephali et al. 2021;
1154 Othibeng et al. 2022). Os metabólitos são os produtos finais do processo regulatório da célula
1155 e seus níveis podem ser considerados como a última resposta do sistema biológico a fatores
1156 genéticos ou mudanças ambientais (Fiehn 2002). A identificação das alterações ocorridas no
1157 perfil metabólico pode indicar o caminho para melhorar as respostas aos bioestimulantes
1158 biológicos.

1159 Outras ferramentas auxiliam nessa compreensão, tais como genômica,
1160 transcriptômica e proteômica (Gunnaiah et al. 2012; Li et al. 2014; Zhao et al. 2022). Os
1161 resultados dessas pesquisas relatam diversos genes que estão envolvidos em respostas à

1162 promoção crescimento ou possíveis mecanismos de sinalização e regulação de vias
1163 metabólicas como genes relacionados à produção de AIA (*ysnE* em pepino x *B.*
1164 *amyloliquefaciens*), sideróforos (*dhb* na bananeira x *B. subtilis*), fixação de nitrogênio (*nifU*,
1165 *nifS*, *nifV* e *nifF* na bananeira x *B. subtilis*), solubilização de fosfato (*phyC* na bananeira x
1166 *B. subtilis*) (Shao et al. 2015; Franco-Sierra et al. 2020). Zhang et al. (2015) relataram grupos
1167 de genes envolvidos na produção de energia para formação do biofilme durante o processo
1168 de interação milho - *B. amyloliquefaciens*, os genes estavam relacionados a via da glicólise
1169 (e.g., proteína de captação de glicose - *GluC*, glicose-6-fosfato isomerase *Pgi*, 6-fosfato
1170 isomerase dependente de ATP - *Pfk*, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase - *GapB*, aldolase
1171 de frutose-bifosfato - *FabA*, fosfoglicerato quinase 2 - *Pgk*, 2,3-bisfosfoglicerato - *Pgm2*,
1172 enolase - *Eno* e piruvato quinase - *pyk*) e ácido tricarbóxico (e.g. citrato sintase - *CitZ*,
1173 aconitato hidratase A - *CitB*, Isocitrato desidrogenase – NADP - *Icd*, complexo 2-
1174 oxoglutarato desidrogenase - *OdhB*, Succinato-CoA ligase - formadora de ADP - subunidade
1175 beta - *SucC*, succinato desidrogenase - *SdhA*, fumarato hidratase classe II - *FumC* e malato
1176 desidrogenase *Mdh*).

1177 Apesar do conhecimento benéfico do *B. subtilis* na promoção do crescimento em
1178 mudas açazeiro (Castro et al. 2019), o estudo abordou questões relacionadas aos aspectos
1179 fisiológicos (e.g., parâmetros biométricos, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* e
1180 nutrição) da planta durante o processo de interação. Com a utilização da metabolômica é
1181 possível observar aprimoramento da fotossíntese, produção de energia, crescimento das
1182 raízes para uma melhor absorção dos nutrientes e água e precursores para biossíntese de
1183 fitohormônios. As identificações das alterações ocorridas no metabolismo primário em
1184 mudas de açazeiro podem indicar o potencial do bioestimulante para auxiliar no manejo
1185 sustentável do açazeiro.

1186

1187 **8 HIPÓTESE**

1188 *Bacillus subtilis* (UFRA 92) regula positivamente a via do metabolismo primário, o
1189 qual resulta em maior eficiência fotossintética e nutricional para promover o crescimento em
1190 mudas de açazeiro.

1191 **9 OBJETIVOS**

1192 Este trabalho objetivou elucidar quais vias do metabolismo primário em *Euterpe*
1193 *oleracea* são alteradas pela inoculação da planta com *Bacillus subtilis*, acompanhando as
1194 alterações no teor de metabólitos e avaliando o crescimento da planta durante o processo de

1195 interação com o microrganismo. Além disso, objetivou-se, investigar os efeitos da interação
1196 na eficiência fotossintética e absorção de nutrientes.

1197 **10 MATERIAIS E MÉTODOS**

1198 **10.1 Material vegetal**

1199 Sementes do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart. cultivar BRS-Pará) foram semeadas
1200 em bandejas de polietileno contendo como substrato fibra de coco triturado. Aos 32 dias
1201 após a germinação, as plântulas que apresentaram duas folhas expandidas e altura próxima
1202 de 13 cm foram transplantadas para sacos de polietileno (15 x 25 cm) contendo substrato
1203 composto de 60% de Latossolo e 40% de esterco de frango curtido. O cultivo foi realizado
1204 no viveiro da Universidade Federal Rural da Amazônia em Belém (PA), sob clima AMI de
1205 acordo com Köppen-Geiger. As plantas foram irrigadas diariamente por gotejamento
1206 autocompensante para repor a água perdida pela evapotranspiração e manter a umidade do
1207 solo próximo da capacidade de campo (Klar et al., 1966).

1208

1209 **10.2 Obtenção e inoculação de *Bacillus subtilis* (UFRA 92)**

1210 O isolado de *Bacillus subtilis* utilizado neste estudo, seguido por seu código no
1211 GenBank-NCBI (UFRA 92 – MN17593) foi isolado da rizosfera do açaizeiro. Atualmente,
1212 isolado é armazenado e preservado na coleção de microrganismos do Laboratório de
1213 Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-PA, Brasil.

1214 A rizobactéria foi cultivada em meio sólido 523 (Kado; Heskett, 1970) durante 48 h
1215 a 28 °C. A suspensão bacteriana foi preparada com água destilada e esterilizada e a
1216 concentração foi ajustada em espectrofotômetro para $A_{540} = 0,6$ (10^8 UFC.mL⁻¹).

1217 Para o estabelecimento dos tratamentos, as plântulas (aos 32 dias) tiveram suas raízes
1218 seccionadas para padronização do comprimento radicular em 7 cm. Assim, o tratamento de
1219 bioinoculação foi caracterizado pela imersão das plântulas em 500 mL da suspensão
1220 bacteriana por 30 min e, posteriormente, o transplantio foi realizado em sacos polietileno
1221 contendo substrato (60% de Latossolo e 40% de esterco de frango curtido), sendo realizada
1222 duas inoculações em intervalo de quinze dias. Cada plântula recebeu 50 mL da suspensão
1223 bacteriana, via sistema de rega manual. Para o tratamento controle (ausência de *B. subtilis*),
1224 foram utilizados 500 mL de água destilada e esterilizada. A rega para esse tratamento foi
1225 utilizada 50 mL/plântula de água destilada.

1226

1227

1228 **10.3 Avaliação de crescimento**

1229 O crescimento e acúmulo de biomassa foram avaliados aos cinco meses após a
1230 germinação das sementes (aos 45 dias). A altura das plantas e o comprimento da raiz foram
1231 mensurados com régua graduada, enquanto para o diâmetro do coleto foi determinado com
1232 um paquímetro digital (precisão de 0,02 mm). O índice de robustez foi calculado pela razão
1233 entre a altura da planta e o diâmetro do coleto. O número de folhas foi avaliado através da
1234 contagem direta das folhas emitidas. Todos os dados avaliados conforme recomendação de
1235 Castro et al. (2019).

1236

1237 **10.4 Determinação de parâmetros de trocas gasosas e de fluorescência da clorofila *a***

1238 A assimilação líquida de CO₂ (A), a condutância estomática ao vapor d'água (g_s), a
1239 concentração interna de CO₂ (C_i) e a taxa de transpiração foliar (E) foram medidas
1240 simultaneamente aos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, na segunda folha
1241 fisiologicamente madura e completamente expandida, do ápice para a base, aos cinco meses
1242 após a inoculação da rizobactéria nas mudas de açaizeiro. Para tal, utilizou-se um analisador
1243 de gases a infravermelho em sistema aberto (IRGA – *Infrared Gas Analyzer*), dotado de uma
1244 câmara de área amostral de 2 cm², modelo LI 6400XT (LI-COR, Lincoln, EUA), com
1245 fluorômetro acoplado (LI-6400-40, LI-COR, Lincoln, EUA). As medições foram realizadas
1246 no período das 8:00 às 10:00 h, sob uma concentração interna externa de CO₂ de 400 μmol
1247 mol⁻¹ e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 900 μmol de fótons m⁻² s⁻¹. O
1248 intervalo de medição de 08:00 às 10:00 h foi ajustado de acordo com os resultados obtidos a
1249 partir de curva diurna de trocas gasosas para a espécie (Silvestre et al. 2016). Todas as
1250 medições foram realizadas sob média de temperatura do ar de 31 ± 2 °C, umidade relativa
1251 do ar de 63 ± 2%, PAR incidente de 600 ± 100 μmol m⁻² s⁻¹ e déficit de pressão de vapor do
1252 ar de 1,9 ± 0,2kPa.

1253 A determinação da fluorescência da clorofila *a* ocorreu em folhas adaptadas ao
1254 escuro após a medição dos parâmetros com IRGA. As folhas foram inicialmente expostas a
1255 um fraco pulso de luz vermelho-distante (0,03 μmol m⁻² s⁻¹), para a determinação da
1256 fluorescência inicial (F_0). Em seguida, um pulso de luz saturante com irradiância de 6000
1257 μmol de fótons m⁻² s⁻¹ e tempo de um segundo foi aplicado para estimar a fluorescência
1258 máxima emitida (F_m). A fluorescência mínima das folhas adaptadas à luz (F_0') e a
1259 fluorescência máxima da clorofila (F_m') foram determinadas utilizando o mesmo
1260 equipamento coletando concomitantemente os dados das trocas gasosas. A eficiência

1261 fotoquímica máxima de PSII ($F_v/F_m = [(F_m - F_0)/F_m]$), de eficiência de captura de energia
 1262 de excitação por centros de reação abertos PSII ($F_v'/F_m' = [(F_m' - F_s)/F_m']$), dos
 1263 coeficientes de extinção fotoquímica (q_L) e não fotoquímica ($q_N = 1 - q_P$) e taxa de
 1264 transporte de elétrons (ETR), também foi estimado como DaMatta e Rena (2002).

1265 **10.5 Determinação dos pigmentos fotossintéticos**

1266 Para a determinação dos pigmentos utilizou-se protocolo descrito por Porra et al.
 1267 (1989) por meio de um leitor de microplacas (OptiMax Tunable Microplate Reader). Em
 1268 uma microplaca de 96 poços, foram adicionados em cada poço 20 μ L do extrato etanólico
 1269 fresco, 40 μ L do mix etanólico (contendo etanol 98%, 80% e 50% na proporção 2:1:2,
 1270 respectivamente) e 120 μ L de etanol 98%. Posteriormente foram feitas leituras em três
 1271 comprimentos de onda, 665, 645 e 480 nm, correspondendo a clorofilas *Chl a*, *Chl b* e
 1272 carotenoides, respectivamente. Os teores de clorofilas foram determinados por meio das
 1273 equações abaixo e expressos em mg g^{-1} de massa fresca (MF).

$$1274 \quad \text{Chl } a = (5,48 \times \text{Abs}_{665}) - (2,16 \times \text{Abs}_{645}) \text{ } \mu\text{g/poço}$$

$$1275 \quad \text{Chl } b = (9,67 \times \text{Abs}_{645}) - (3,04 \times \text{Abs}_{665}) \text{ } \mu\text{g/poço}$$

1276

1277 **10.6 Determinação do status nutricional**

1278 As amostras de folhas foram secas em estufas de circulação forçada de ar (72 h a 65
 1279 $^{\circ}\text{C}$), moídas (< 5 mm) em moinho tipo Wiley, pesadas e enviadas ao laboratório de
 1280 agrônomo de análises nutricionais (LABOMINAS), Manhuaçu, MG, para a determinação
 1281 dos teores de nutrientes, conforme descrito por Silva (2009). As concentrações de
 1282 macronutrientes (nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e
 1283 enxofre (S)) e micronutrientes (zinco (Zn), manganês (Mn), ferro (Fe) e cobre (Cu)) no
 1284 tecido vegetal foram extraídos por digestão ácida em microondas, envolvendo a aplicação
 1285 de 2 mL de HNO_3 + 2 mL de H_2O + 5 mL de água ultrapura em 250 mg de amostras,
 1286 conforme descrito por (Araújo et al. 2002). As amostras digeridas foram lidas e quantificadas
 1287 em relação ao teor nutricional, por meio de espectrômetro e destilador.

1288 **10.7 Coleta do material e análise bioquímica**

1289 Para avaliar se o *B. subtilis* (UFRA 92) promoveu alterações no metabolismo
 1290 primário, as folhas de mudas de açaizeiro foram embaladas em papel alumínio,

1291 imediatamente mergulhadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer, -80 °C, até
1292 análise. O material foi liofilizado a - 20 °C por 2 dias.

1293 Alíquotas de aproximadamente 10 mg de material liofilizado de folhas de *Euterpe*
1294 *oleracea*, foram extraídos em 700 µL metanol e agitados em vórtex por 10 segundos.
1295 Posteriormente, foram agitados em 750 rpm, por 20 minutos a 80 °C e centrifugados logo
1296 em seguida em 13.000 rpm por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e transferido
1297 para um micro tubo de 2 mL. Posteriormente, foram adicionados 375 µL de clorofórmio
1298 (CHCl₃) e 750 µL de H₂O ultrapura ao sobrenadante e agitado em vórtex por 10 segundos.
1299 Em seguida, foram centrifugados a 13.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. A fase superior (polar
1300 e transparente) foi recolhida para um novo micro tubo e armazenada a - 20 °C para posterior
1301 quantificação de: açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose), ácidos orgânicos (fumarato
1302 e malato), aminoácidos solúveis totais, prolina e nitrato. O precipitado (*pellet*), formado a
1303 partir da extração em metanol, foi lavado com 1000 µL de etanol 70% para posterior
1304 quantificação de proteínas solúveis e amido como descrito por Lisec (2006) e algumas
1305 modificações descritas.

1306 **10.8 Quantificação de glicose, frutose e sacarose**

1307 Glicose, frutose e sacarose foram estimadas usando o ensaio de substrato enzimático
1308 contínuo, como descrito por Fernie (2001), a partir de alíquota de 5 µL do extrato metanólico
1309 obtido anteriormente, foi adicionado em meio de reação de 205 µL [150 µL de tampão
1310 HEPES (KOH 0,1 M + 3 mM MgCl₂ em pH 7,0); 4,65 µL de ATP 109 mM (60 mg mL⁻¹);
1311 4,65 µL de NADP⁺ 48,4 mM (36 mg mL⁻¹); 0,77 µL de Glicose-6-fosfato desidrogenase
1312 (G6PDH – 700 U mL⁻¹) e 45 µL de H₂O ultra pura] em microplaca por poço. Foi realizada
1313 a leitura das amostras em um leitor de microplaca (Molecular Devices, Sunny Valle, EUA)
1314 em comprimento de onda de 340 nm. A cinética foi avaliada por meio da formação NADPH,
1315 devido a adição de 1,5 U de Hexocinase (1,5 U em 5 µL), sendo possível estimar a
1316 quantidade de glicose presente no extrato. Após a estabilização da reação, foi adicionado 0,7
1317 U de Phosphoglucose isomerase (PGI – 0,7 U em 5 µL), formando novamente NADPH,
1318 permitindo estimar agora o teor de frutose nas amostras. Por fim, após a estabilização da
1319 reação foi adicionado na reação 5 U de Invertase (5 U em 5 µL) para que a quantidade de
1320 sacarose fosse estimada, a partir da sua isomerização e posteriormente oxidação da glicose
1321 e frutose com a formação de NADPH. Todos os cálculos foram baseados na equação:

$$1322 \quad \mu\text{mol de NADPH} = \frac{\Delta OD}{(2,85 \times 6,22)}$$

1323 Os valores foram corrigidos de acordo com a massa inicial das amostras e os
1324 resultados expressos em mmol de glicose, frutose e sacarose kg⁻¹ massa seca (MS).

1325

1326 **10.9 Quantificação de amido**

1327 Para a determinação de amido, o precipitado (*pellet*) da extração metanólica foi
1328 solubilizado por aquecimento a 95 °C, em 400 µL NaOH (0,1 M). Em seguida, 61,25 µL de
1329 solução de ácido acético (1 M) foram adicionados às amostras para neutralização e posterior
1330 degradação do amido. A degradação do amido, ocorreu a partir da adição de 40 µL do extrato
1331 neutralizado adicionado a 60 µL do mix de degradação [59 µL de tampão acetato de sódio
1332 (50 mM, pH 4,9) + 1 µL de amilo glucosidase (170 U mL⁻¹) + 0,012 µL de α-amilase (325
1333 U mL⁻¹)]. A reação de degradação ocorreu em *overnight* a 37 °C.

1334 Após a etapa de degradação e a formação de resíduos de glicose a partir de amido
1335 presente nas amostras, 10 µL do extrato obtido da degradação foi adicionado em meio de
1336 reação de 200 µL [150 µL de tampão HEPES (KOH 1 M + 30 mM MgCl₂ em pH 7,0); 4,65
1337 µL de ATP 109 mM (60 mg mL⁻¹); 4,65 µL de NADP⁺ 48,4 mM (36 mg mL⁻¹); 0,77 µL de
1338 Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH – 700 U mL⁻¹) e 40µL de H₂O ultra pura] em
1339 microplaca de 96 poços. Foi realizada a leitura das amostras em comprimento de onda de
1340 340 nm. A cinética foi avaliada por meio da formação NADPH, devido a adição de 2 U de
1341 Hexocinase (2 U em 5 µL), sendo possível estimar o conteúdo de amido determinado como
1342 equivalentes de glicose (Hendriks et al. 2003), conforme a fórmula abaixo:

$$1343 \quad \mu\text{mol de NADPH} = \frac{\Delta OD}{(2,85 \times 6,22)}$$

1344 Os valores foram corrigidos de acordo com a massa inicial das amostras e os
1345 resultados expressos em mmol de equivalente glicose kg⁻¹ massa seca (MS).

1346

1347 **10.10 Quantificação de fumarato e malato**

1348 A concentração de fumarato e malato foi determinada em alíquotas de 10 µL do
1349 extrato metanólico que foram pipetados em microplaca contendo 80 µL do meio de reação
1350 composto por: 50 µL de tampão Tricine [10 mM] em KOH 0,2 M MgCl₂, pH 9.0; 10 µL de
1351 brometo de metil tiazolil difenil tetrazólio (MTT) [10 mM], 2 µL de etossulfato fenazina
1352 (PES) [20 mM]; 10 µL de Triton [10%]; 10 µL dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
1353 (NAD⁺) [30 mM] e 3 µL de água ultrapura. Após, foi realizada a leitura da absorbância a
1354 570 nm por 5 minutos. Posteriormente foi adicionado 1 U de malato desidrogenase (5 µL) e

1355 a absorvância foi lida até a cinética se tornar estável. Subsequente, foram adicionados 0,1 U
1356 de fumarase (5 µL) e absorvância foi lida até a estabilidade. Para a determinação de fumarato
1357 e malato foi feito uma curva de calibração utilizando fumarato e malato como padrão, em
1358 concentrações que variaram de 0 a 20 mM (Nunes-Nesi et al. 2007).

1359 **10.11 Análise do perfil metabólico**

1360 Para determinação de metabólitos foram utilizados os procedimentos descritos por
1361 Lisec et al. (2006). Aproximadamente 50 mg de massa fresca foram colocadas em micro
1362 tubos de 1,5 mL de capacidade e extraída em uma mistura refrigerada de água, metanol e
1363 clorofórmio (1:2,5:1, v/v/v) e 60 µL de ribitol (0,2 mg/mL). As amostras foram agitadas
1364 vigorosamente em vórtex por 10 s e posteriormente incubadas a 4 °C sob agitação (1246 g),
1365 por 1 h. Decorrido esse tempo, as amostras foram centrifugadas a 16200 g, por 5 min a 4 °C.
1366 O sobrenadante foi transferido para um novo micro tubo, adicionando-se 750 µL de água
1367 ultrapura. Posteriormente, as amostras foram agitadas em vórtex durante 10 s seguindo-se a
1368 uma nova centrifugação a 16200 g, por 15 min, a 4 °C. A camada superior (fase polar) foi
1369 recolhida em alíquotas de 200 µL e adicionada em um novo tubo. Posteriormente as amostras
1370 foram secas a vácuo e armazenadas em freezer, -80 °C. Para a derivatização, adicionou-se
1371 40 µL do reagente de metoxiamação a cada amostra, procedendo-se agitação a 16200 g
1372 por 2 h, a 37 °C. Em seguida foi adicionado 70 µL de N-Methyl-N-(trimethylsilyl)
1373 trifluoroacetamide (MSTFA) e padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) às
1374 amostras, procedendo-se à agitação 1246 g, por 30 min, a 37 °C. As amostras foram
1375 transferidas para frascos de vidro e analisadas por cromatografia gasosa associada à
1376 espectrometria de massa (GCMS).

1377 Os cromatogramas e os espectros de massa gerados foram analisados utilizando o
1378 software TAGFINDER (Luedemann et al. 2008), e a identificação e anotação dos dados
1379 apresentados conforme recomendações de Fernie et al. (2011).

1380

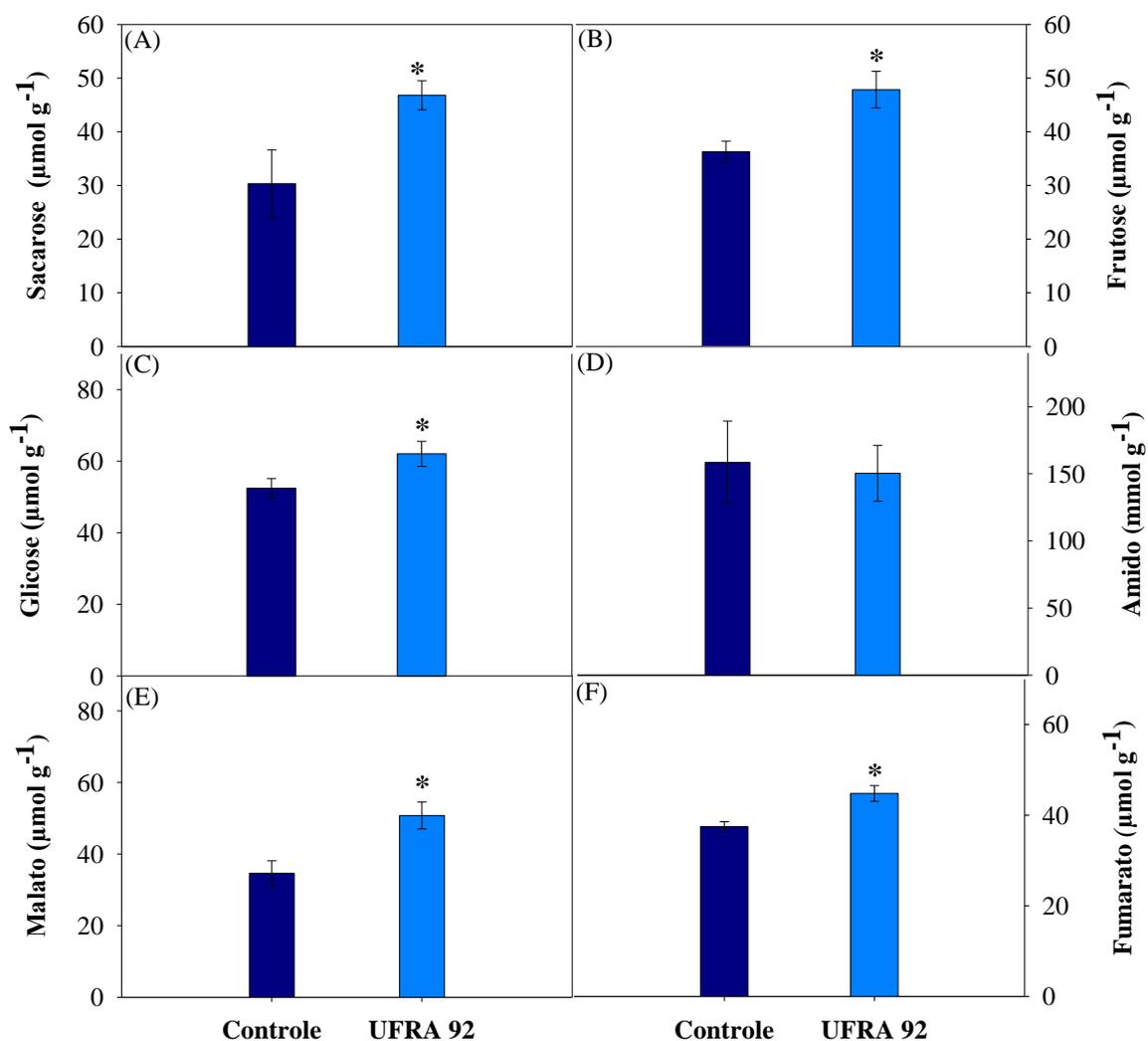
1381 **10.12 Análise estatística**

1382 O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi inteiramente
1383 casualizado. Para avaliação do crescimento e biomassa das plantas, foram utilizadas cinco
1384 repetições por tratamento. Os ensaios de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e
1385 pigmentos fotossintéticos foi composta por quatro repetições por tratamento. A unidade
1386 experimental destinada à análise de metabólitos foi composta por 50 mg de material vegetal,
1387 por reação, com quatro repetições por tratamento. A análise de componentes principais foi

1388 realizada utilizando-se todas as variáveis obtidas na análise de perfil metabólico, e os valores
1389 normalizados através da relação entre planta bioinoculadas com *Bacillus subtilis* e o
1390 tratamento controle. As diferenças entre as médias foram examinadas pelo teste *t*. ($P \leq 0.05$).
1391 Todos os dados foram analisados usando o software R (versão 4.1.0 para Windows).

1392 **11 RESULTADOS**1393 **11.1 Níveis de metabólitos**

1394 As plantas bioestimuladas com UFRA 92 apresentaram aumentos nas concentrações
 1395 de sacarose (34%), frutose (32%), glicose (18%), malato (46%) e fumarato (20%) em relação
 1396 às plantas controle (Figura 1A, B, C e F). Por outro lado, não houve variação na concentração
 1397 de amido nas folhas entre plantas inoculadas e o controle (Figura 1D).



1398

1399 **Figura 1.** Concentrações foliares de sacarose[A]; frutose [B]; glicose [C]; amido [D]; malato [E]; e fumarato
 1400 [F], em plantas de açaizeiro bioestimuladas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os
 1401 valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores
 1402 são apresentados com médias de quatro repetições.

1403

1404

1405

1406

1407

1408

1409 11.2 Perfil metabólico em folhas de açazeiro

1410 Para identificar outras alterações à nível metabólico relacionado ao metabolismo
1411 primário e ao crescimento da planta de *Euterpe oleracea* bioinoculada, foi realizada a
1412 caracterização do perfil metabólico (Tabela 2). Os principais metabólitos que tiveram sua
1413 concentração relativa alterada, na parte aérea das plantas com inoculação de *B. subtilis*
1414 (UFRA 92), foram os aminoácidos: β -alanina em 32%, alanina em 42%, asparagina em 73%,
1415 aspartato em 22%, GABA em 48%, glutamato em 51%, glutamina em 16%, glicina em 30%,
1416 isoleucina em 21%, leucina em 20%, serina em 36%, treonina em 33%, triptofano em 69%
1417 e valina em 38%, em relação as plantas controle (Tabela 1). Registra-se que os aminoácidos
1418 lisina, fenilalanina e prolina foram os únicos cuja concentração relativa não sofreram
1419 influência da bioestimulação do *B. subtilis* (UFRA 92) em folhas de açazeiro (Tabela 1).

1420 De maneira geral, o conteúdo relativo de ácidos orgânicos foi aumentado nas plantas
1421 inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) em relação as plantas controle. Os níveis em 2
1422 oxoglutarato, ascorbato, citrato, malato, ácido málico, ácido fosfórico, piroglutamato e
1423 succinato foram aumentados em folhas em aproximadamente 49%, 39%, 90%, 48%, 25%,
1424 62%, 23% e 27% respectivamente (Tabela 1). Detectou-se a presença elevadas dos níveis de
1425 açúcares e de seus derivados. O incremento foi superior a 35% para frutose, 36% para
1426 glicose, 24% para glicerato, 22% para glicolato, 41% para maltose, 37% para rafinose, 68%
1427 para ribose, 25% para sacarose e 34% para trealose (Tabela 1).

1428

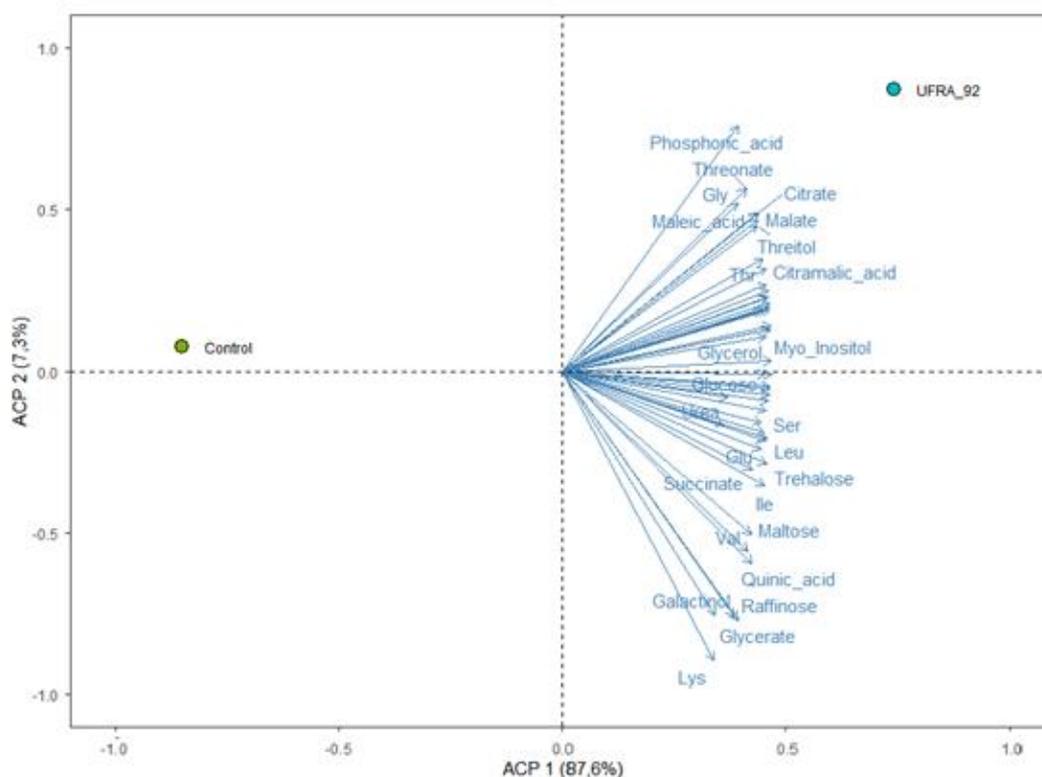
1429 **Tabela 1:** Metabólitos foliares em plantas de *Eutерpe oleracea* bioestimuladas com *Bacillus*
 1430 *subtilis* (UFRA 92) e não bioestimuladas (controle).

	Metabólitos	Controle	UFRA 92
Aminoácidos	β-alanina	0,92	1,21*
	Alanina	0,81	1,15*
	Asparagina	0,64	1,11*
	Aspartato	0,83	1,01*
	Ácido gama-aminobutírico	0,77	1,14*
	Glutamato	0,82	1,24*
	Glutamina	0,94	1,09*
	Glicina	0,86	1,12*
	Isoleucina	0,87	1,06*
	Leucina	0,90	1,08
	Lisina	0,83	0,78
	Fenilalanina	0,81	0,77
	Prolina	0,93	0,89
	Serina	0,85	1,16*
	Treonina	0,81	1,08*
	Triptofano	0,62	1,05*
	Valina	0,77	1,06*
Ácidos orgânicos	2 Oxoglutarato	0,72	1,07*
	Ascorbato	0,87	1,21*
	Ácido citramálico	0,82	1,08*
	Citrato	0,62	1,18*
	Dehydroascorbate	0,90	1,02*
	Malato	0,82	1,21*
	Ácido málico	0,91	1,14*
	Ácido fosfórico	0,77	1,25*
	Piroglutamato	0,96	1,18*
	Succinato	0,88	1,12*
Açúcares	Frutose	0,88	1,19*
	Glicopironase	0,87	1,12*
	Glicose	0,89	1,21*
	Glicerato	1,01	1,25*
	Glicolato	0,88	1,07*
	Maltose	0,79	1,11*
	Rafinose	0,82	1,12*
	Ribose	0,62	1,04*
	Sacarose	0,89	1,11*
	Trealose	0,91	1,22*
Outros	Adenina	0,89	1,24*
	Catequina	0,79	1,13*
	Galactinol	0,98	1,18*
	Glicerol	0,85	1,07*
	Mio-Inositol	0,92	1,16*
	Chiquimato	0,83	0,76
	Taxifolina	0,85	1,26*
	Treitól	0,84	1,09*
	Treonato	0,90	1,12*
	Ureia	0,90	1,08*

1431 O asterisco indica que houve diferença significativa em nível de ($P \leq 0,05$) pelo Teste t entre as plantas tratadas
 1432 com *B. subtilis* (UFRA 92) e as plantas do controle. Os valores são apresentados com médias de quatro
 1433 repetições.

1434 11.3 Análise de componentes principais (ACP)

1435 Com os dados obtidos do perfil metabólico de plantas de *E. oleracea* bioestimulada,
 1436 é possível identificar dois componentes principais na Figura 2, que explicaram 94,9% da
 1437 variabilidade total dos dados, sendo 87,6% para componente principal 1 (CP1) e 7,3% para
 1438 a componente principal 2 (CP2). Análise evidenciou uma distribuição distinta da atividade
 1439 microbiana associada à promoção de crescimento em plantas de *E. oleracea* em resposta à
 1440 inoculação com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) em relação às plantas controle.



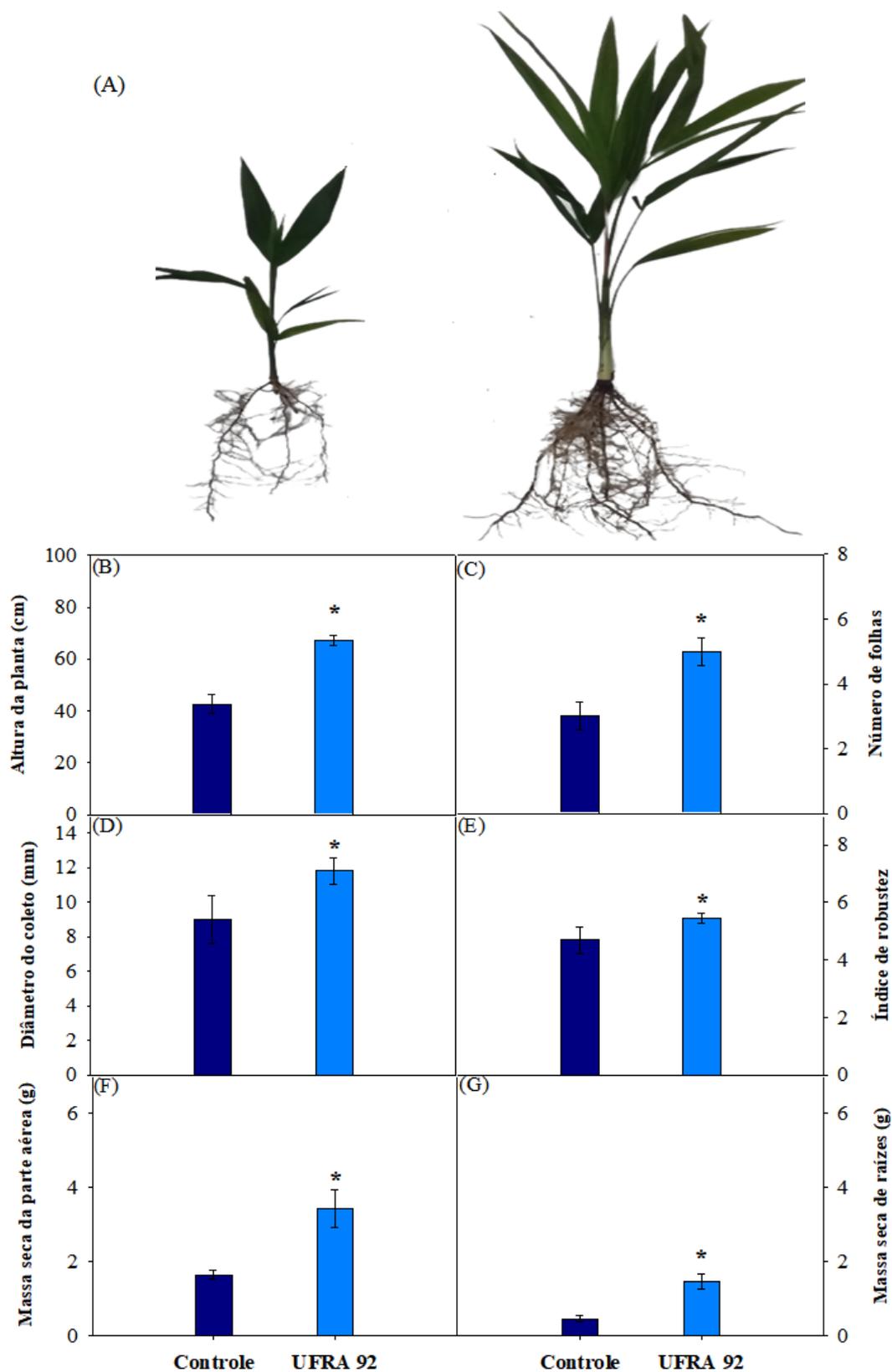
1441

1442 **Figura 2.** Análise de componentes principais - ACP para as variáveis de crescimento, biomassa, trocas gasosas,
 1443 fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, perfil metabólico e macro e micronutrientes em *Euterpe*
 1444 *oleracea* inoculada com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) e não inoculada (controle).

1445 11.4 Análise de crescimento

1446 O isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92) induziu aumento em 57% para a altura da
 1447 planta, 66% no número de folhas, 31% no diâmetro do coleto e 16% no índice de robustez
 1448 (Figura 3B, C, D e E), respectivamente, em comparação às plantas controle. Para as variáveis
 1449 de biomassa, foram observados aumentos de 108% para massa seca da parte aérea e 217%
 1450 na massa seca da raiz em relação ao controle (Figura 3F e G).

1451

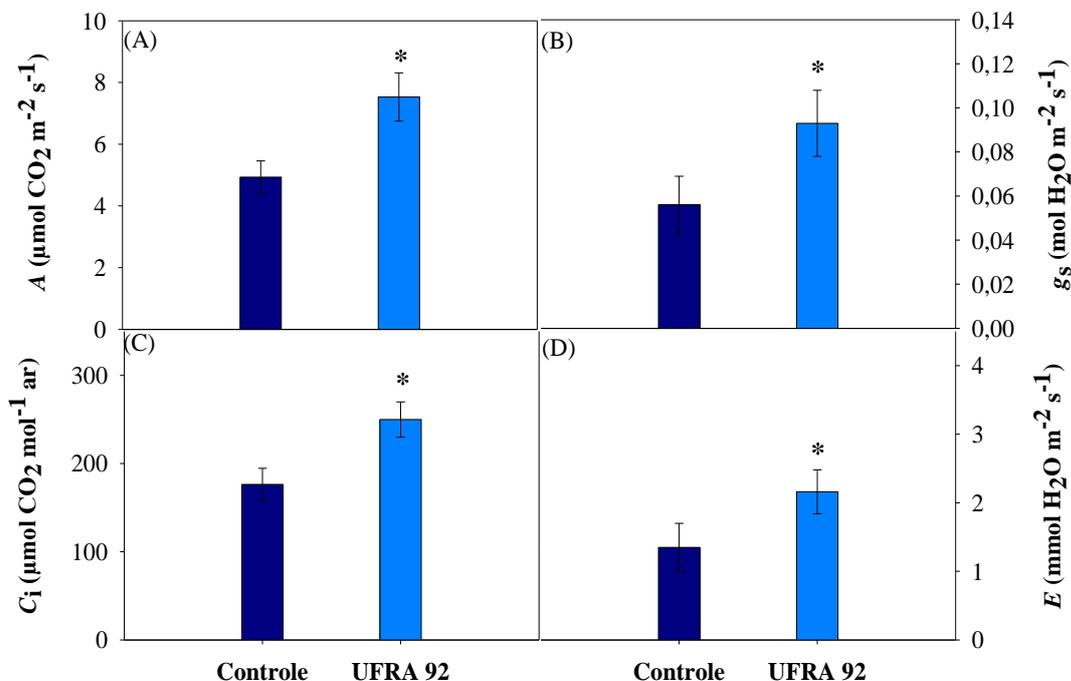


1452
1453
1454
1455
1456
1457

Figura 3. Avaliação do crescimento de plantas de *Euterpe oleracea* inoculadas com *Bacillus subtilis* (UFRA 92). [A] Aspecto visual da parte aérea e raiz das mudas de açaizeiro e [B, C, D, E, F e G] parâmetros biométricos em mudas de açaizeiro inoculada com isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de cinco repetições.

1458 **11.5 Fotossíntese, fluorescência da clorofila *a* e pigmentos**

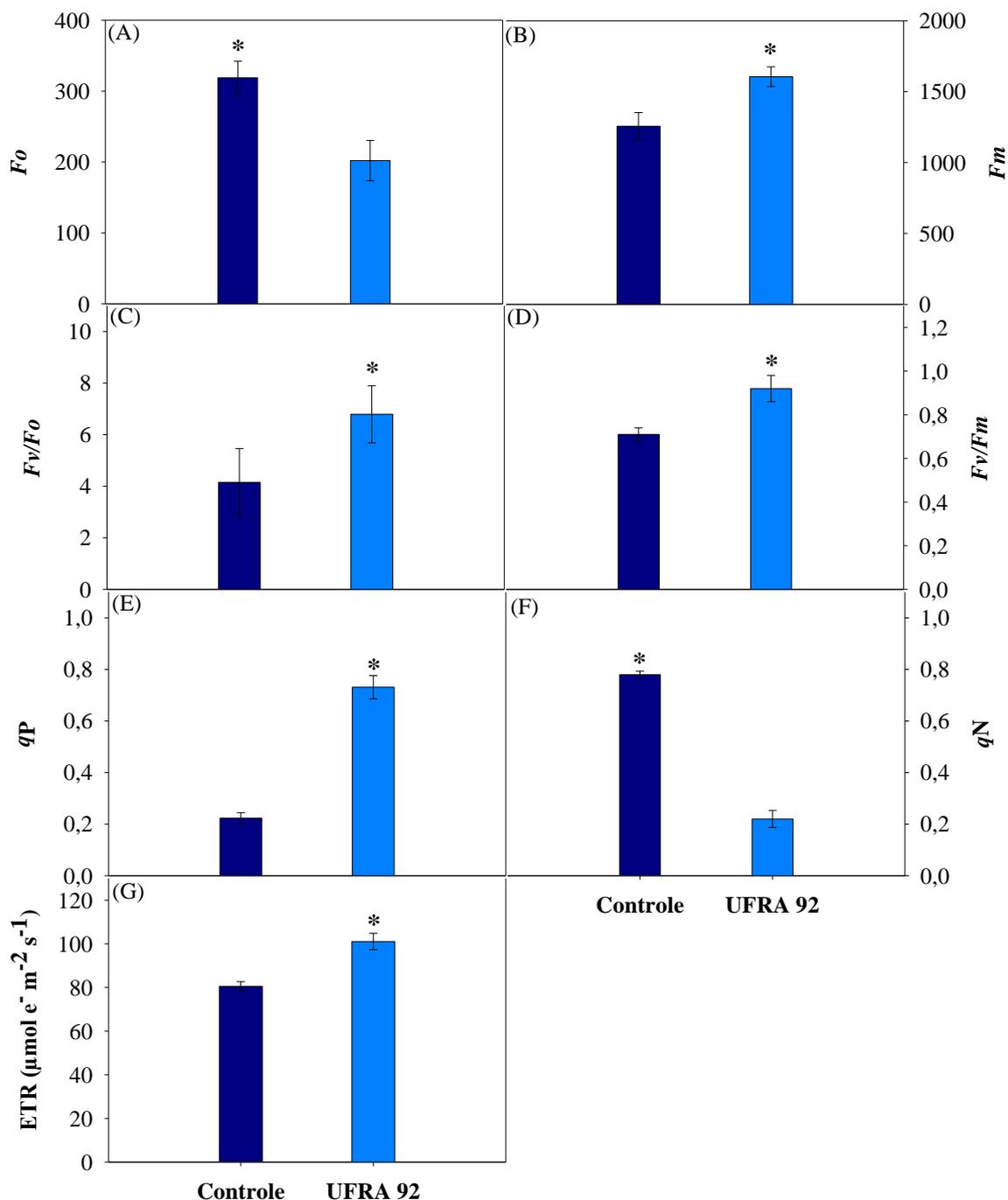
1459 Com relação às plantas inoculadas com o isolado UFRA 92, foi observado que houve
 1460 aumento de 53% na *A* (Figura 4A), 66% na g_s (Figura 4B), 40% na C_i (Figura 4C) e 60% na
 1461 *E* (Figura 4D) em comparação às plantas controle.



1462

1463 **Figura 4.** Avaliação do comportamento da [A] taxa de assimilação líquida de CO_2 (*A*), [B] condutância
 1464 estomática ao vapor de água (g_s), [C] concentração intercelular de CO_2 (C_i) e [D] transpiração (*E*) em mudas
 1465 de açaizeiro inoculadas com o isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os valores
 1466 determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são
 1467 apresentados como médias de quatro repetições.

1468 O isolado UFRA 92 induziu reduções médias de 58% para *Fo* e de 72% para *qN* em
 1469 relação às plantas controle (Figura 5A e F). Por outro lado, as médias de todas as outras
 1470 variáveis foram maiores nas plantas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92). Esses aumentos
 1471 foram de 28% para *Fm*, 63% para *Fv/Fo*, 30% para *Fv'/Fm'*, 232% para *qP* e 25% para
 1472 *ETR* em relação às plantas controle (Figura 5B, C, D, E e G).

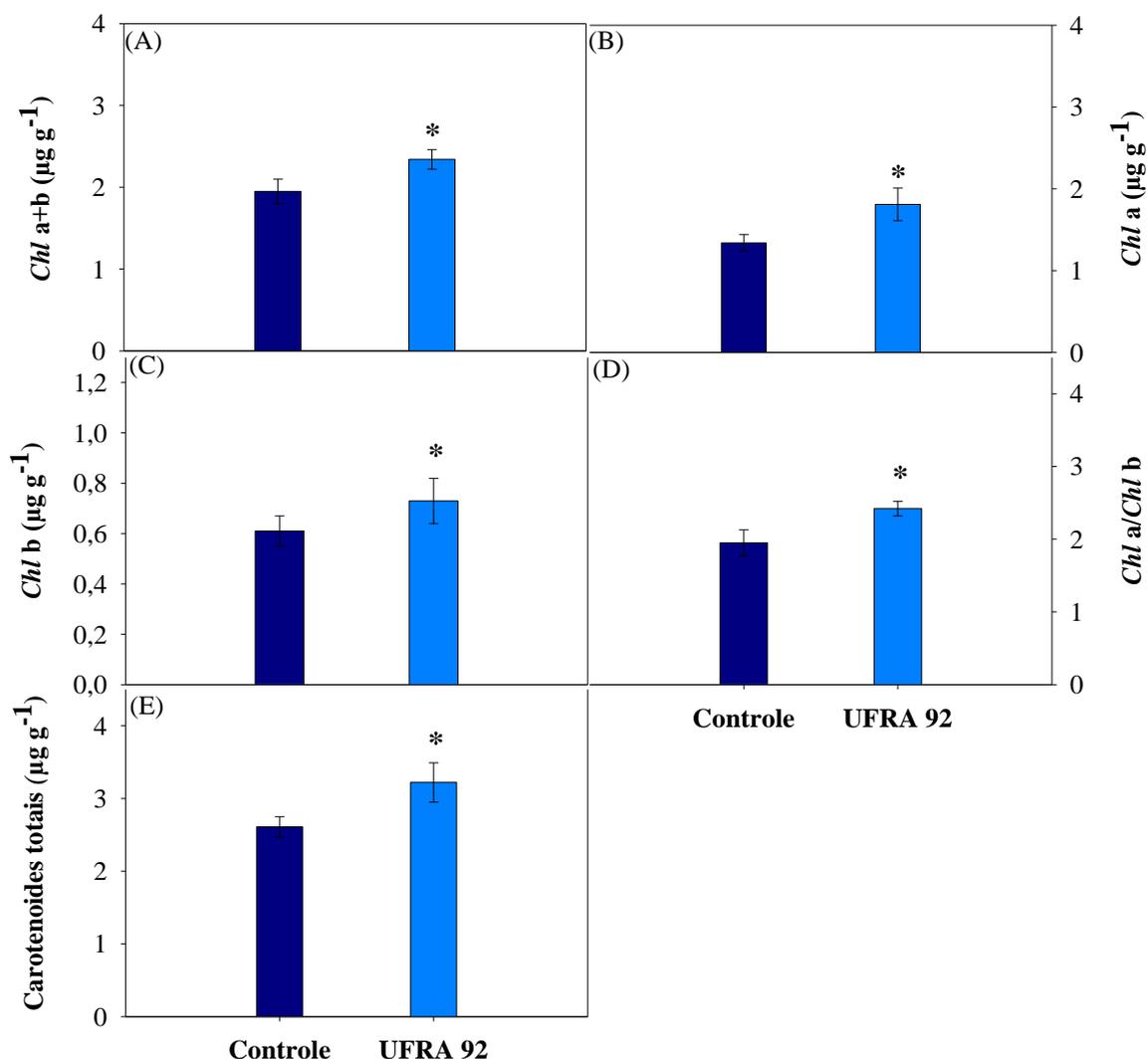


1473
1474
1475
1476
1477
1478
1479

Figura 5. [A] Fluorescência inicial (F_o), [B] fluorescência máxima (F_m), [C] atividade potencial do PSII (F_v/F_o), [D] eficiência fotoquímica efetiva do PSII (F_v/F_m), [E] coeficientes de extinção fotoquímica (q_P), [F] não fotoquímica (q_N) e [G] taxa de transferência de elétrons (ETR) em mudas de açaizeiro inoculadas com o isolado *Bacillus subtilis* (UFRA 92). Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste *t* são significativamente diferentes das plantas controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de quatro repetições.

1480
1481
1482
1483

A aplicação de *B. subtilis* (UFRA 92) em mudas de açaizeiro induziu incrementos nos teores de clorofilas e carotenoides. Esse incremento positivo foi de 35% para *Chla*, em 19% para *Chlb*, em 20% para *Chla+b*, em 15% para a razão *Chla/Chlb* e, em 23% para carotenoides em comparação ao tratamento controle (Figura 6).



1484
 1485 **Figura 6.** [A] Teores totais de clorofila *a* +clorofila *b*, [B] clorofila *a*, [C] clorofila *b*, [D] razão entre *Chl a* e
 1486 *Chl b* e [E] carotenoides totais em mudas de açaizeiro inoculadas com o isolado *B. subtilis* (UFRA 92). Os
 1487 asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas
 1488 controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados com médias de quatro repetições.
 1489

1490 11.6 Teor de nutrientes

1491 O *B. subtilis* promoveu alteração no acúmulo de macro e de micronutrientes na parte
 1492 aérea (Tabela 2). Mudas inoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92) apresentaram incrementos
 1493 de 22,31 % em N, 85% em K, 79% em Mg, 191% em P, 123% em Ca, 98% em S, 123% em
 1494 Cu, 216% em Mn e, 190% em Zn em relação ao tratamento controle (Tabela 2). Por outro
 1495 lado, não observamos aumento no teor de Fe nas folhas das plantas, em comparação ao
 1496 tratamento controle.

1497

1498 **Tabela 2.** Acúmulo de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em folhas de
 1499 mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) sem inoculação (controle), e com inoculação do
 1500 *Bacillus subtilis* (UFRA 92).

	Macronutrientes (g kg^{-1})					
	N	K	Mg	P	Ca	S
Controle	13,31	6,01	1,11	1,42	3,21	4,64
UFRA 92	16,28*	11,13*	1,99*	4,14*	7,15*	9,19*
	Micronutrientes (mg kg^{-1})					
	Cu	Fe	Mn	Zn		
Controle	7,95	285,49*	33,7	23,16		
UFRA 92	16,26*	232,1	106,4*	67,39*		

1501 Os asteriscos indicam que os valores determinados pelo Teste t são significativamente diferentes das plantas
 1502 controle ($P \leq 0,05$). Os valores são apresentados como média de cinco repetições.

1503
 1504
 1505

12 DISCUSSÃO

1506 A utilização de *B. subtilis* (UFRA 92) promoveu o crescimento das plantas de *E.*
 1507 *oleracea*. A inoculação da rizobactéria induziu alterações no metabolismo primário do
 1508 açaizeiro, e conseqüentemente, modelou o desempenho fotossintético e absorção de
 1509 nutrientes, o que resultou em maior crescimento das plantas bioinoculadas. A eficiência da
 1510 atividade fotossintética em plantas bioestimuladas, resultou na síntese dos açúcares,
 1511 aminoácidos e ácidos orgânicos que influenciam diretamente na conservação da energia
 1512 durante todo processo de crescimento das plantas bioinoculadas. A respiração celular foi
 1513 influenciada principalmente pelo acúmulo de biomassa da parte aérea e raiz, maior fixação
 1514 de carbono e maior atividade do metabolismo energético da planta induzidos principalmente
 1515 pelos aminoácidos alanina (Ala), aspartato (Asp), serina (Ser) e Triptofano (Trp).

1516 A bioinoculação com *B. subtilis* (UFRA 92) aumentou o teor de alanina (Ala) e
 1517 aspartato (Asp), os aminoácidos estão envolvidos na via de assimilação/fixação de carbono
 1518 (Tabela 1), um dos processos essenciais na promoção do crescimento. Assim, podemos
 1519 sugerir que aumentos nos níveis de Ala e Asp contribuíram para um aumento do pool de
 1520 carbono interno, que foi usado nas reações fotossintéticas (Figura 4) em comparação às
 1521 plantas controle, apoiando assim a promoção do crescimento (Figura 3). Além disso, o Asp
 1522 também desempenha um papel importante na manutenção do crescimento das plantas,
 1523 servindo como substrato/precursor para a biossíntese de quatro aminoácidos essenciais,
 1524 como a treonina (Thr), lisina (Lys), isoleucina (Ile) e metionina (Met) através da via da
 1525 família Asp (Galili 2011). Os níveis aumentados de Thr e Ile podem ser resultado da
 1526 regulação positiva da via da família Asp em plantas tratadas com *B. subtilis* (Tabela 1).
 1527 Resultados semelhantes foram observados em plantas de milho bioestimuladas com *Bacillus*
 1528 sp. (Othibeng et al. 2022).

1529 Outras mudanças nos níveis de aminoácidos incluíram aumento em 36% para serina
1530 (Ser) e 69% para triptofano (Trp) em plantas de açaizeiro inoculadas com *B. subtilis* (UFRA
1531 92), sob condições normais, essas alterações sugerem uma possível utilização ativa desses
1532 metabólitos no meio celular. Esses aminoácidos podem ser usados no processo de síntese de
1533 proteínas, promovendo assim o crescimento das plantas e a função celular (Dubouzet et al.
1534 2013; Erland and Saxena 2019). A síntese de proteínas contribui significativamente para o
1535 crescimento das plantas (Figura 1F e G), a indução de *B. subtilis* (UFRA 92) em estimular
1536 os níveis dos aminoácidos, poder estar relacionado na produção de proteínas que
1537 desempenham papéis críticos em vias metabólicas, como catálise de reação, replicação de
1538 DNA e transporte de moléculas dentro e fora das células e servem como blocos de construção
1539 das membranas celulares (Ishihara et al. 2015; Othibeng et al. 2022). Além disso, os
1540 aminoácidos relacionam-se ao seu envolvimento ativo no metabolismo energético. A Ser e
1541 Trp podem ser degradados em piruvato, onde é utilizado no TCA para gerar energia e
1542 promover o crescimento das plantas (Hildebrandt et al. 2015).

1543 O aumento de triptofano pode ter induzido a via de biossíntese de AIA na planta, pois
1544 quando as mudas de açaizeiro foram bioinoculadas, provavelmente, houve regulação na
1545 expressão do gene *ysnE* que codifica a acetiltransferase na via de síntese do AIA dependente
1546 de triptofano (Eichenberger et al. 2003; Zhang et al. 2015), fato esse que pode estar atrelado
1547 ao aumento no crescimento e no acúmulo de biomassa. Resultados semelhantes foram
1548 encontrados para o *B. amyloliquefaciens* (UFRA01) inoculado em palma de óleo (Lima et
1549 al. 2020), que resultou na eficiência na absorção de água e nutrientes, contribuindo para
1550 promover o crescimento das plantas.

1551 Todos os benefícios refletiram diretamente em 57% para altura (Figura 3B) em
1552 plantas bioinoculadas. O *B. subtilis* (UFRA 92) induziu o maior diâmetro do coleto em
1553 (Figura 3) nas mudas de açaizeiro, parâmetro que está relacionado ao maior vigor das mudas,
1554 como observado em mudas de coco inoculadas com *Bacillus cereus* (Cardoso et al. 2021).
1555 O crescimento da parte aérea, assim como o número de folhas e aumento da biomassa
1556 radicular pode ser atribuído à aplicação do bioinoculante de induzir a síntese de giberelinas
1557 e citocininas que regula a expansão foliar e síntese de clorofilas (Dodd et al., 2010; Kang et
1558 al., 2014; Liu et al., 2013; Schmülling, 2002). A maior área foliar influencia diretamente na
1559 maior captação de luz e assimilação de CO₂ (Zhang et al. 2017). No presente estudo, o *B.*
1560 *subtilis* (UFRA 92) induziu aumento na assimilação líquida de CO₂ (A) em relação as plantas
1561 controle.

1562 A absorção eficiente do magnésio (Mg^{2+}) em plantas de açaizeiro inoculadas com
1563 *Bacillus subtilis* (UFRA 92) beneficiou o processo de fotossíntese e produção de biomassa
1564 (Wang et al. 2020b). Essas observações estão de acordo com aumento do número de folhas
1565 e biomassa da parte aérea e raiz (Figura 3B, F e G). Em estudo com planta de arroz, a
1566 inoculação do *B. pumilis* proporcionou maior disponibilidade de Mg^{2+} , resultando em
1567 maiores teores de clorofila foliar sob condições estresse de NaCl (Khan et al. 2016). O
1568 acúmulo em 22% de nitrogênio (N) nas folhas (Tabela 2) influenciou positivamente no maior
1569 conteúdo de clorofilas (35% para *Chla*, 19% para *Chlb*, 20% para *Chla+b*, 15% para
1570 *Chla/Chlb* – Figura 4A, B, C e D) nas folhas das mudas bioinoculadas com *B. subtilis* (UFRA
1571 92), o qual pode ser atribuído a capacidade de fixação do N pelo bionoculado. Resultados
1572 semelhantes foram observados em mudas de palma de óleo inoculadas com *B. subtilis* -
1573 UFRA 92 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM 32113 (Lima et al. 2021)

1574 O fósforo (P) é o elemento essencial na composição das proteínas, ácidos nucleicos,
1575 membranas e moléculas de energia, como ATP, GTP e NADPH (Acevedo et al. 2014). Um
1576 dos mecanismos de ação das rizobactérias para promover o crescimento é a solubilização de
1577 fosfato (Velázquez and Rodríguez-Barrueco 2007). No presente estudo, o maior teor de
1578 fósforo (em 191 % - Tabela 2) nas folhas contribuiu para o crescimento e acúmulo de
1579 biomassa (108% para massa seca da parte aérea e 217% para massa seca da raiz – Figura 3F
1580 e G) nas mudas bioinoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92). O *B. subtilis* (UFRA 92) foi
1581 positivo em promover solubilização de fosfato se beneficiando dos ácidos orgânicos (e.g.
1582 25% em ácido málico – Tabela 1), como observado em palma de óleo inoculadas com
1583 rizobactérias (Amir et al. 2006).

1584 A maior abertura estomática induzida pela inoculação do *B. subtilis* (UFRA 92),
1585 observados em nossos resultados favoreceu a entrada de CO_2 nas folhas, porém levou a uma
1586 maior perda de água pela transpiração em relação ao controle (Figura 4D). Entretanto, a
1587 maior taxa de transpiração induzida pelo *B. subtilis* (UFRA 92) pode ser atribuída, além da
1588 abertura estomática, a maior área foliar total e menor razão raiz/parte aérea. Quando a água
1589 é abundante e a radiação solar incidente nas folhas favorece a alta atividade fotossintética,
1590 há elevada demanda por CO_2 dentro da folha, e os poros estomáticas se abrem amplamente,
1591 diminuindo a resistência estomática à difusão do CO_2 (Flexas et al. 2012). Nessas condições,
1592 há elevada perda de água por transpiração, porém, uma vez que o suprimento hídrico é
1593 abundante, torna-se vantajoso para a planta intercambiar a água por produtos da fotossíntese,
1594 resultando em ganho no crescimento (Fan et al. 2015). Resultados semelhantes forma

1595 observados em plantas de açaizeiro inoculadas com *Burkholderia pyrrocinia* (Castro et al.
1596 2019).

1597 O maior valor em 53% para *A* pode ser atribuído ao aumento na condutância dos
1598 estômatos (*g_s*) em 60%, transpiração (*E*) em 60% (Figura 4), no qual permite a difusão de
1599 vapor d'água para atmosfera e promove o influxo CO₂ para o tecido fotossintetizante que,
1600 conseqüentemente, promove aumento da fotossíntese líquida. Resultados semelhantes foram
1601 encontrados para outras rizobactérias (*Burkholderia* sp., *Bacillus safensis*, *Pseudomonas*
1602 *fluorescens*) promotoras de crescimento e o *B. subtilis* (UFRA 92) inoculados em plantas de
1603 açaizeiro (Castro et al. 2019). Esses benefícios influenciaram a produção de fotoassimilados,
1604 como sacarose, glicerato e trealose (Tabela 1), os quais podem ser alocados para órgãos
1605 heterotróficos das plantas para sustentar o crescimento ou serem convertidos em produtos
1606 de reservas (Shi et al. 2010), fato esse que contribuir para o crescimento do sistema radicular
1607 ou ser utilizados pelas rizobactérias pelos exsudatos radiculares (Bais et al. 2006), de forma
1608 a favorecer a atração de outros microrganismos.

1609 O aumento em 36% para glicose (Tabela 1) em folhas de açaizeiro bioinoculadas
1610 com *Bacillus subtilis* (UFRA 92) resultou na conservação de energia para promover o
1611 crescimento das mudas de açaizeiro (Figura 3). O aumento na concentração de glicose
1612 observados nas plantas bioinoculadas aumentam o nível de expressão das vias geradoras de
1613 energia (Prasanna et al. 2004). O acúmulo diferencial em 39% para adenina nas plantas
1614 (Tabela 1) o que sugere a biossíntese da citocininas (Kakimoto 2003). Observações
1615 semelhantes foram relatadas por Liu et al. (2013) em que o acúmulo de citocininas induzido
1616 por *B. subtilis* estimulou a biomassa radicular de *Platyclusus orientalis* em 13,9% e
1617 aumentou a concentração de citocininas em 47,52% nas folhas em relação aos respectivos
1618 controles sob condições de estresse hídrico. O desenvolvimento da parte aérea induzido pelo
1619 *B. subtilis* (UFRA 92) foi diretamente associado com desenvolvimento do sistema radicular.

1620 A condutância estomática em mudas de açaizeiro inoculadas com *B. subtilis* (UFRA
1621 92) aumentou em 66%, em relação ao controle (Figura 4B), o qual sugere uma mudança no
1622 comportamento estomático que pode ser atribuído pelo aumento do malato em 145% e
1623 potássio (K) em 85% nas folhas. O malato é um metabólito central envolvido em uma
1624 multiplicidade de vias metabólicas das plantas, estando associado ao metabolismo
1625 mitocondrial e desempenhando papéis importantes nos movimentos estomáticos (Medeiros
1626 et al. 2016) e no controle parcial sobre a absorção de nutrientes (Weisskopf et al. 2006). O
1627 potássio (K) estar relacionado com a ativação enzimática, transporte de carboidratos e
1628 regulação da abertura estomática (Pan et al. 2017), como observados no presente estudo,

1629 onde a bioinoculação do *B. subtilis* (UFRA 92) induziu o acúmulo de K nas folhas e
1630 influenciaram positivamente no crescimento das mudas de açazeiro. O acúmulo de K⁺ e
1631 malato nas plantas bionoculadas influenciaram no aumento da taxa de difusão de CO₂ através
1632 dos estômatos, o qual favoreceu o aumento da A em 53% (Figura 4A), observados nas plantas
1633 com *B. subtilis* (UFRA 92).

1634 Foi demonstrado que plantas com alto acúmulo de malato exibem um aumento na A
1635 e *gs* e no crescimento em plantas (Araújo et al. 2011; Medeiros et al. 2016) isso é consistente
1636 com nossos resultados encontrados de A, *gs* (Figura 4), no teor dos ácidos orgânicos (e.g.,
1637 malato e fumarato – Tabela 1) e nos dados biométricos (Figura 3).

1638 O aumento do conteúdo de clorofilas (*Chla* e *Chlb*) e carotenoides em plantas
1639 inoculadas pode ter contribuído para a maior eficiência na absorção de luz, transferência de
1640 energia, transferência de elétrons e maior controle na dissipação do excedente de energia
1641 térmica (Samaniego-Gómez et al. 2016). No presente estudo, foram observados incrementos
1642 em 30% na eficiência fotoquímica efetiva do PSII (Fv'/Fm'), 63% na atividade potência do
1643 PSII (Fv/Fo), 25% na taxa de transferência de elétrons (ETR) e, em 232% no coeficiente de
1644 dissipação fotoquímica (qP), os quais indicam maior capacidade de utilização de luz e maior
1645 eficiência dos fotossistemas I e II, o qual pode ter contribuído para menor geração e
1646 dissipação de energia de excitação não fotoquímica (qN), conforme observados na figura 5,
1647 para o tratamento bioestimulado.

1648 O nível elevado de ascorbato (Tabela 1) em mudas de açazeiro pode estar
1649 correlacionada com a biossíntese dos fitohormônios giberelinas, etileno e ácido abscísico,
1650 pois o ascorbato é um cofator necessário para a biossíntese de giberelinas, auxinas, etileno e
1651 ácido abscísico (Barth et al. 2006; Ye et al. 2012; Zhang 2013). Portanto, podemos sugerir
1652 que o aumento na concentração do ascorbato encontrado em folhas bioinoculadas por *B.*
1653 *subtilis* (UFRA 92) atuou diretamente direta ou indiretamente na promoção de crescimento
1654 em mudas de açazeiro aumentando todos os parâmetros biométricos (Figura 3) e na
1655 fotossíntese, estimulando positivamente a biossíntese desses fitohormônios. Outra função do
1656 ácido ascórbico é atuar na proteção de organelas e células da ação de espécies reativas de
1657 oxigênio principalmente em condição de estresse hídrico (Latif et al. 2016; Mukhtar et al.
1658 2016; Naz et al. 2016).

1659 A alteração encontra no perfil de ácidos orgânico, nas plantas bioinoculadas por *B.*
1660 *subtilis* (UFRA 92), evidenciam que o de oxidação desses ácidos estão diretamente
1661 relacionados a modulação do metabolismo celular resultando em maior crescimento da
1662 planta do açazeiro. Além disso, os compostos relacionados ao TCA em maior abundância

1663 nas plantas inoculadas com UFRA 92 desempenham papéis importantes na fotossíntese,
1664 fotorrespiração, metabolismo do nitrogênio, transporte redutor e manutenção do equilíbrio
1665 redox fotossintético (Araújo et al. 2012). Resultados semelhantes foram encontrados para as
1666 PGPRs inoculada em *Mesembryanthemum crystallinum* L., que resultou em eficiência
1667 fotossintética nas plantas (Kataoka et al. 2021).

1668 Os resultados obtidos, indicam acoplamento entre o metabolismo do carbono na parte
1669 aérea e o no crescimento do sistema radicular das plantas bioinoculadas. Já que por sua vez,
1670 encontramos nas folhas aumento de 53% da taxa fotossintética, aumento de 40% na
1671 respiração e aumento de 217% para massa seca da raiz (Figura 4A, 4D e 3G). As alterações
1672 na concentração intercelular de CO₂ (C_i), evidenciam que o bionoculado aumentar a
1673 atividade de carboxilação da Rubisco através da regulação da abertura estomática que
1674 favorecer a fixação de CO₂ mesofílico. Resultados semelhantes foram encontrados para *B.*
1675 *subtilis*, *B. safensis*, *Burkholderia pyrrocinia* e *Pseudomonas fluorescens* inoculados em
1676 plantas de açaizeiro (Castro et al. 2019). O estímulo da fotossíntese em plantas induzidas
1677 por *B. subtilis* (UFRA 92) é evidenciada pelo aumento da exportação de triose causada pela
1678 disponibilidade em 62% do fósforo inorgânico (P_i), o qual induz a atividade da cadeia de
1679 transporte de elétrons para fosforilação de ATP e evitando uma atividade reduzida no
1680 fotossistema I (Bukhov 2004). No presente estudo, a maior teor de fósforo em 191% nas
1681 folhas contribuiu para o crescimento e acúmulo de biomassa nas mudas inoculada com *B.*
1682 *subtilis* (UFRA 92) os resultados enfatizam a eficiência do isolado para solubilização de
1683 fosfato, como observado em palma de óleo inoculadas com *B. subtilis* (Lima et al. 2021).

1684 O aumento de glutamato em 48% e glutamina em 51% foram associadas à regulação
1685 do movimento estomático (Medeiros et al. 2018; Yoshida et al. 2019) em plantas de açaizeiro
1686 bioinoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92). Aqui, esses metabólitos foram correlacionados
1687 positivamente com g_s em mudas de açaizeiro (Figura 4B). Em encontro, o acúmulo de malato
1688 e potássio aumentaram a g_s em plantas de açaizeiro favorecendo uma maior abertura
1689 estomática, além de favorecer a entrada de CO₂ nas folhas, influencia diretamente na maior
1690 perda de água pela transpiração (Silva et al. 2017).

1691 Nossos resultados demonstram que plantas inoculadas com isolado *B. subtilis*
1692 (UFRA 92) induziram o acúmulo do aminoácido GABA (Tabela 1). Possivelmente, esse
1693 acúmulo está relacionado à manutenção do balanço carbono-nitrogênio, observados no
1694 acúmulo em 48% para glutamato e 42% para asparagina (Tabela 1), ambos aminoácidos são
1695 responsáveis pelo armazenamento e transporte de nitrogênio (Mifflin e Habash 2002;
1696 Ohyama et al. 2017). Além disso, o aumento do GABA (Tabela 1) contribui no metabolismo

1697 de aminoácidos, carboidratos e à regulação do crescimento das plantas (Ramesh et al. 2015a,
1698 b; Shelp e Zarei 2017). Carillo (2018), relatou que o GABA apresenta potencial para atuar
1699 como um osmólito eficaz sem efeitos tóxicos, o qual atua sequestrando as espécies reativas
1700 de oxigênio (ROs) em plantas expostas ao estresse abiótico.

1701 O aumento em 49% para 2 oxoglutarato (2OG) (Tabela 1) em plantas bioestimuladas
1702 com UFRA 92, sugerem uma coordenação eficiente entre o metabolismo do nitrogênio e
1703 carbono. A coordenação é induzida principalmente por microrganismo como *Escherichia*
1704 *coli* (Chubukov et al. 2014), fato que se assemelha com os resultados encontrados em plantas
1705 bioestimuladas com *B. subtilis*. Além disso, tal efeito positivo pode estar correlacionado em
1706 maximizar a utilização de nutrientes e o crescimento celular em plantas de açaizeiro. Huergo
1707 and Dixon (2015), relataram que o 2 oxoglutarato atua como um metabólito chave na via
1708 alternativa de energia, pois é capaz de coordenar a regulação do metabolismo do nitrogênio
1709 e do carbono de forma eficiente. O 2 OG é um intermediário do ciclo do TCA e é usado
1710 como um esqueleto de carbono para assimilação de nitrogênio. Como tal, 2 oxoglutarato
1711 reflete o balanço eficiente de carbono e nitrogênio em plantas (Commichau et al. 2006;
1712 Chubukov et al. 2014; Huergo e Dixon 2015). É importante mencionar que o 2 OG é um
1713 regulador direto das enzimas piruvato quinase e PEP carboxilase, citrato sintase e oxidase
1714 alternativa associadas ao fluxo de açúcar e ácidos orgânicos e controle de redox entre o
1715 citosol e mitocôndria (Hodges 2002).

1716 O aumento significativo de 27% para succinato (Tabela 1) em folhas de plantas
1717 inoculadas com UFRA 92 sugerem uma regulação positiva no crescimento das plantas
1718 (Figura 3), pois seu excesso em plantas de açaizeiro está relacionado ao estímulo da
1719 produção de ATP mitocondrial (Ergen and Budak 2009; Budak et al. 2013). O succinato atua
1720 como um intermediário primário na produção de ATP na via ciclo de TCA e desempenha
1721 um papel vital na produção de energia e na regulação do ciclo do TCA mitocondrial (Ferne
1722 et al. 2004) . Entretanto, o nível elevado de succinato encontrados em plantas tratadas com
1723 PGRs e PGPRs demonstraram melhor tolerância ao estresse hídrico e isso foi potencialmente
1724 atribuído a eficiência da regulação do ciclo do TCA, o qual produziu mais energia sob
1725 condições de limitação de água (Khan et al. 2019).

1726 A análise de componentes principais (ACP) é frequentemente usada para distinguir
1727 a significância da relação entre muitos parâmetros da planta avaliados. Esse método de
1728 análise multivariada visa explicar a correlação entre um grande conjunto de variáveis
1729 (Beheshtizadeh et al. 2013). A ACP confirmou que as principais características da planta
1730 que foram induzidas pelo *B. subtilis* (UFRA 92) estavam envolvidas em promover o

1731 crescimento das plantas. Essa estrutura hipotética derivada de dados sugere uma religação
1732 do metabolismo da planta para a regulação e coordenação de eventos celulares (e do
1733 organismo), incluindo produção de energia aprimorada, síntese proteica acelerada, regulação
1734 da biossíntese de fitohormônios, como os principais mecanismos pelo qual o bioestimulante
1735 *B. subtilis* (UFRA 92) estimula o crescimento das plantas de açazeiro (Othibeng et al. 2022).

1736

1737 **13 CONCLUSÃO**

1738 A bioinoculação com *Bacillus subtilis* em plantas do açazeiro promoveu
1739 significativa alteração no metabolismo do carbono e consequente alteração no crescimento
1740 da planta. O perfil metabólico das plantas inoculadas evidencia regulação do nível
1741 metabólico da planta quando submetida ao tratamento. O metabolismo do carbono e do
1742 nitrogênio foram fortemente alterados. Esses fatos estimulam a via respiratória e a
1743 biossíntese de fitohormônios, uma vez que, existem flutuações na concentração de ácidos
1744 orgânicos e precursores para síntese de AIA. A regulação no metabolismo dos aminoácidos
1745 subsidia o metabolismo celular, através da síntese proteica, regulação da divisão celular e na
1746 disponibilidade de energia para plantas bioinoculadas. A eficiência na utilização dos níveis
1747 de carbono e do nitrogênio desempenham importante papel no crescimento, na fixação do
1748 carbono via processo fotossintético (aumento no conteúdo de carboidratos), maior respiração
1749 celular e maior absorção de macro e micronutrientes nas plantas bioinoculadas. Todas essas
1750 alterações resultam em maior crescimento e no aumento da biomassa da planta além de
1751 elevar o vigor das mudas de açazeiro bioinoculadas com *B. subtilis* (UFRA 92).

1752 **14 Material suplementar**

1753 **Tabela suplementar.** Metabólitos de folhas tratadas com *B. subtilis* (UFRA 92) usados para
 1754 a análise multivariada e sua contribuição para a separação de cada componente principal.

	Metabólitos	PC1	PC2
Aminoácidos	β-alanina	0,990	-0,140
	Alanina	0,990	0,050
	Asparagina	0,990	-0,090
	Aspartato	0,950	-0,130
	GABA	0,990	-0,150
	Glutamato	0,950	0,170
	Glutamina	0,980	-0,160
	Glicina	0,840	-0,370
	Isoleucina	0,970	0,250
	Leucina	0,970	0,150
	Lisina	0,720	0,640
	Fenilalanina	0,630	-0,770
	Prolina	0,670	-0,720
	Serina	0,980	0,150
	Treonina	0,960	-0,250
	Triptofano	0,980	0,070
Valina	0,880	0,400	
Ácidos orgânicos	2 Oxoglutarato	0,990	-0,090
	Ascorbato	0,970	-0,190
	Ácido citramálico	0,970	-0,230
	Citrato	0,940	-0,350
	Malato	0,930	-0,350
	Ácido málico	0,930	-0,330
	Ácido Fosfórico	0,840	-0,540
	Piroglutamato	0,970	0,090
	Succinato	0,910	0,220
Açúcares	Frutose	0,970	-0,140
	Glicopironase	0,960	0,130
	Glicose	0,970	0,010
	Glicerato	0,840	0,550
	Glicolato	0,950	0,110
	Maltose	0,900	0,360
	Rafinose	0,920	0,540
	Ribose	1,000	0,010
	Sacarose	0,990	-0,140
Trealose	0,980	0,200	
Outros	Adenina	0,980	-0,090
	Catequina	0,980	-0,180
	Galactinol	0,730	0,540
	Glicerol	0,970	-0,080
	Mio-Inositol	1,000	-0,020
	Chiquimato	0,360	-0,890
	Taxifolina	0,990	0,030
	Treitól	0,930	-0,320
	Treonate	0,880	-0,400
Ureia	0,770	0,120	

1755

1756 **REFERÊNCIAS**

- 1757 Acevedo E, Galindo-Castañeda T, Prada F, et al (2014) Phosphate-solubilizing microorganisms
1758 associated with the rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Colombia. *Appl Soil*
1759 *Ecol* 80:26–33. <https://doi.org/10.1016/J.APSSOIL.2014.03.011>
- 1760 Amir HG, Shamsuddin ZH, Halimi MS, et al (2006) Enhancement in Nutrient Accumulation and
1761 Growth of Oil Palm Seedlings Caused by PGPR Under Field Nursery Conditions.
1762 <http://dx.doi.org/10.1080/00103620500194270> 36:2059–2066.
1763 <https://doi.org/10.1080/00103620500194270>
- 1764 Araújo FRR, Viégas I de JM, da Cunha RLM, de Vasconcelos WLF (2016) Efeito da omissão de
1765 nutrientes no crescimento e estado nutricional de mudas de açaizeiro. *Pesqui Agropecu Trop*
1766 46:374–382. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4640770>
- 1767 Araújo GCL, Gonzalez MH, Ferreira AG, et al (2002) Effect of acid concentration on closed-vessel
1768 microwave-assisted digestion of plant materials. In: *Spectrochimica Acta - Part B Atomic*
1769 *Spectroscopy*
- 1770 Araújo WL, Nunes-Nesi A, Nikoloski Z, et al (2012) Metabolic control and regulation of the
1771 tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues. *Plant Cell Environ*
1772 35:1–21. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2011.02332.X>
- 1773 Araújo WL, Nunes-Nesi A, Osorio S, et al (2011) Antisense inhibition of the iron-sulphur subunit of
1774 succinate dehydrogenase enhances photosynthesis and growth in tomato via an organic acid-
1775 mediated effect on stomatal aperture. *Plant Cell*. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.081224>
- 1776 Bais HP, Weir TL, Perry LG, et al (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with
1777 plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.*
- 1778 Barth C, De Tullio M, Conklin PL (2006) The role of ascorbic acid in the control of flowering time
1779 and the onset of senescence. In: *Journal of Experimental Botany*
- 1780 Beheshtizadeh H, Rezaie A, Rezaie A, Ghandi A (2013) Principal component analysis and
1781 determination of the selection criteria in bread wheat (*Triticum aestivum* L .) genotypes. *Int J*
1782 *Agric Crop Sci* 2024–2027
- 1783 Budak H, Akpınar BA, Ünver T, Turktas M (2013) Proteome changes in wild and modern wheat
1784 leaves upon drought stress by two-dimensional electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS. *Plant*
1785 *Mol Biol* 83:89–103. <https://doi.org/10.1007/S11103-013-0024-5/FIGURES/4>
- 1786 Bukhov NG (2004) Dynamic light regulation of photosynthesis (a review). *Russ. J. Plant Physiol.*
- 1787 Cardoso AF, Alves EC, da Costa SDA, et al (2021) *Bacillus cereus* Improves Performance of
1788 Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. *Front*
1789 *Plant Sci* 12:. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.649487/FULL>
- 1790 Carillo P (2018) GABA shunt in durum wheat. *Front. Plant Sci.*
- 1791 Castro GL., Rêgo MC., Silvestre WV., et al (2019) Açaí palm seedling growth promotion by
1792 rhizobacteria inoculation. *Brazilian J Microbiol* 51:205–216. [https://doi.org/10.1007/s42770-](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
1793 [019-00159-2](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
- 1794 Castro GLS, Júnior DDS, Bueno ACSO, Silva GB (2017) Anthracnose in açaí palm leaves reduces
1795 leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence. *Trop Plant Pathol* 42:13–20.
1796 <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0118-0>
- 1797 Chubukov V, Gerosa L, Kochanowski K, Sauer U (2014) Coordination of microbial metabolism.
1798 *Nat. Rev. Microbiol.*
- 1799 Commichau FM, Forchhammer K, Stülke J (2006) Regulatory links between carbon and nitrogen

- 1800 metabolism. *Curr. Opin. Microbiol.*
- 1801 Costa-Santos M, Mariz-Ponte N, Dias MC, et al (2021) Effect of *Bacillus* spp. and *Brevibacillus* sp.
1802 on the Photosynthesis and Redox Status of *Solanum lycopersicum*. *Hortic* 2021, Vol 7, Page
1803 24 7:24. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE7020024>
- 1804 Dimkpa C, Weinand T, Asch F (2009) Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress
1805 conditions. *Plant, Cell Environ* 32:1682–1694. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x>
- 1807 Dodd IC, Zinovkina NY, Safronova VI, Belimov AA (2010) Rhizobacterial mediation of plant
1808 hormone status. *Ann. Appl. Biol.* 157:361–379
- 1809 dos Santos GR, de Moraes AJG, Cavalcante A de P de S, da Silva GB (2022) First report of leaf
1810 anthracnose caused by *Colletotrichum chrysophilum* on açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in
1811 Brazil. *J Gen Plant Pathol* 88:212–216. <https://doi.org/10.1007/s10327-022-01059-4>
- 1812 Dubouzet JG, Matsuda F, Ishihara A, et al (2013) Production of indole alkaloids by metabolic
1813 engineering of the tryptophan pathway in rice. *Plant Biotechnol J* 11:1103–1111.
1814 <https://doi.org/10.1111/PBI.12105>
- 1815 Eichenberger P, Jensen ST, Conlon EM, et al (2003) The σ E regulon and the identification of
1816 additional sporulation genes in *Bacillus subtilis*. *J Mol Biol* 327:945–972.
1817 [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(03\)00205-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(03)00205-5)
- 1818 Ergen NZ, Budak H (2009) Sequencing over 13 000 expressed sequence tags from six subtractive
1819 cDNA libraries of wild and modern wheats following slow drought stress. *Plant Cell Environ*
1820 32:220–236. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3040.2008.01915.X>
- 1821 Erland LAE, Saxena P (2019) Auxin driven indoleamine biosynthesis and the role of tryptophan as
1822 an inductive signal in *Hypericum perforatum* (L.). *PLoS One* 14:e0223878.
1823 <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0223878>
- 1824 Fan X, Hu H, Huang G, et al (2015) Soil inoculation with *Burkholderia* sp. LD-11 has positive effect
1825 on water-use efficiency in inbred lines of maize. *Plant Soil* 390:337–349.
1826 <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2410-z>
- 1827 Fernie AR., Roscher A, Ratcliffe RG, and Kruger NJ (2001) Fructose 2,6-bisphosphate activates
1828 pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to
1829 hexose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta* 212, 250–63.
1830 doi:10.1007/s004250000386.
- 1831 Fernie AR, Aharoni A, Willmitzer L, et al (2011) Recommendations for reporting metabolite data.
1832 *Plant Cell*
- 1833 Fernie AR, Carrari F, Sweetlove LJ (2004) Respiratory metabolism: Glycolysis, the TCA cycle and
1834 mitochondrial electron transport. *Curr. Opin. Plant Biol.*
- 1835 Fiehn O (2002) Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol* 2002
1836 481 48:155–171. <https://doi.org/10.1023/A:1013713905833>
- 1837 Flexas J, Barbour MM, Brendel O, et al (2012) Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An
1838 unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci.* 193–194:70–84
- 1839 Fonseca MDC Da, Bossolani JW, de Oliveira SL, et al (2022) *Bacillus subtilis* Inoculation Improves
1840 Nutrient Uptake and Physiological Activity in Sugarcane under Drought Stress.
1841 *Microorganisms* 10:809. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040809>
- 1842 Franco-Sierra ND, Posada LF, Santa-María G, et al (2020) *Bacillus subtilis* EA-CB0575 genome
1843 reveals clues for plant growth promotion and potential for sustainable agriculture. *Funct Integr*

- 1844 Genomics. <https://doi.org/10.1007/s10142-020-00736-x>
- 1845 Galili G (2011) The aspartate-family pathway of plants. <http://dx.doi.org/104161/psb6214425>
1846 6:192–195. <https://doi.org/10.4161/PSB.6.2.14425>
- 1847 Gunnaiah R, Kushalappa AC, Duggavathi R, et al (2012) Integrated Metabolo-Proteomic Approach
1848 to Decipher the Mechanisms by Which Wheat QTL (Fhb1) Contributes to Resistance against
1849 Fusarium graminearum. PLoS One 7:e40695.
1850 <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0040695>
- 1851 Hendriks JHM, Kolbe A, Gibon Y, Stitt M, and Geigenberger P (2003) ADP-Glucose
1852 Pyrophosphorylase Is Activated by Posttranslational Redox-Modification in Response to Light
1853 and to Sugars in Leaves of Arabidopsis and Other Plant Species. *Plant Physiology* 133, 838–
1854 849. doi:10.1104/pp.103.024513.
- 1855 Hildebrandt TM, Nunes Nesi A, Araújo WL, Braun HP (2015) Amino Acid Catabolism in Plants.
1856 *Mol Plant* 8:1563–1579. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2015.09.005>
- 1857 Hodges M (2002) Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium
1858 assimilation. In: *Journal of Experimental Botany*
- 1859 Huergo LF, Dixon R (2015) The Emergence of 2-Oxoglutarate as a Master Regulator Metabolite.
1860 *Microbiol Mol Biol Rev.* <https://doi.org/10.1128/membr.00038-15>
- 1861 IBGE 2019 (2019) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Maio 2019
- 1862 Ishihara H, Obata T, Sulpice R, et al (2015) Quantifying Protein Synthesis and Degradation in
1863 Arabidopsis by Dynamic ¹³CO₂ Labeling and Analysis of Enrichment in Individual Amino
1864 Acids in Their Free Pools and in Protein. *Plant Physiol* 168:74–93.
1865 <https://doi.org/10.1104/PP.15.00209>
- 1866 Kado CI, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium,
1867 Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. *Phytopathology* 60:969–976.
1868 <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969>
- 1869 Kakimoto T (2003) Biosynthesis of cytokinins. In: *Journal of Plant Research*
- 1870 Kang SM, Khan AL, You YH, et al (2014) Gibberellin production by newly isolated strain Leifsonia
1871 soli SE134 and Its potential to promote plant growth. *J Microbiol Biotechnol* 24:106–112.
1872 <https://doi.org/10.4014/jmb.1304.04015>
- 1873 Kataoka R, Akashi M, Taniguchi T, et al (2021) Metabolomics analyses reveal metabolites affected
1874 by plant growth-promoting endophytic bacteria in roots of the halophyte mesembryanthemum
1875 crystallinum. *Int J Mol Sci* 22:11813. <https://doi.org/10.3390/IJMS22111813/S1>
- 1876 Khan A, Sirajuddin, Zhao XQ, et al (2016) Bacillus pumilus enhances tolerance in rice (Oryza sativa
1877 L.) to combined stresses of NaCl and high boron due to limited uptake of Na⁺. *Environ Exp*
1878 *Bot* 124:120–129. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.12.011>
- 1879 Khan N, Bano A, Rahman MA, et al (2019) Comparative Physiological and Metabolic Analysis
1880 Reveals a Complex Mechanism Involved in Drought Tolerance in Chickpea (Cicer arietinum
1881 L.) Induced by PGPR and PGRs. *Sci Rep.* <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38702-8>
- 1882 Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A (1966) Determinação da umidade do solo pelo
1883 método das pesagens. *An da Esc Super Agric Luiz Queiroz* 23:15–30.
1884 <https://doi.org/10.1590/S0071-12761966000100003>
- 1885 Latif M, Akram NA, Ashraf M (2016) Regulation of some biochemical attributes in drought-stressed
1886 cauliflower (Brassica oleracea L.) by seed pre-treatment with ascorbic acid. *J Hortic Sci*
1887 *Biotechnol.* <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.1117226>

- 1888 Li K, Pidatala VR, Shaik R, et al (2014) Integrated metabolomic and proteomic approaches dissect
1889 the effect of metal-resistant bacteria on maize biomass and copper uptake. *Environ Sci Technol*
1890 48:1184–1193. <https://doi.org/10.1021/ES4047395>
- 1891 Liseč J, Schauer N, Kopka J, Willmitzer L, and Fernie AR (2006) Gas chromatography mass
1892 spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nature protocols* 1, 387–96.
1893 [doi:10.1038/nprot.2006.59](https://doi.org/10.1038/nprot.2006.59).
- 1894 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2020) Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria
1895 enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. *Sci Hortic (Amsterdam)* 264:109161.
1896 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- 1897 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, et al (2021) Rhizobacteria modify root architecture and improve
1898 nutrient uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. *Rhizosphere* 100420.
1899 <https://doi.org/10.1016/J.RHISPH.2021.100420>
- 1900 Liseč J, Schauer N, Kopka J, et al (2006) Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite
1901 profiling in plants. *Nat Protoc*. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.59>
- 1902 Liu F, Xing S, Ma H, et al (2013) Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that
1903 confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Appl Microbiol*
1904 *Biotechnol*. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5193-2>
- 1905 Lucy M, Reed E, Glick BR (2004) Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria.
1906 Antonie van Leeuwenhoek 2004 861 86:1–25.
1907 <https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6E>
- 1908 Luedemann A, Strassburg K, Erban A, Kopka J (2008) TagFinder for the quantitative analysis of gas
1909 chromatography - Mass spectrometry (GC-MS)-based metabolite profiling experiments.
1910 *Bioinformatics* 24:732–737. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn023>
- 1911 Lwin KM, Myint MM, Zin W, Aung M (2012) Isolation of Plant Hormone (Indole-3-Acetic Acid-
1912 IAA) Producing Rhizobacteria and Study on their Effects on Maize Seedling. *Eng J* 16:.
1913 <https://doi.org/10.4186/ej.2012.16.5.137>
- 1914 Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot* 51:659–
1915 668. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659>
- 1916 Medeiros DB, Martins SCV, Cavalcanti JHF, et al (2016) Enhanced photosynthesis and growth in
1917 *atrac1* knockout mutants are due to altered organic acid accumulation and an increase in both
1918 stomatal and mesophyll conductance. *Plant Physiol*. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01053>
- 1919 Medeiros DB, Perez Souza L, Antunes WC, et al (2018) Sucrose breakdown within guard cells
1920 provides substrates for glycolysis and glutamine biosynthesis during light-induced stomatal
1921 opening. *Plant J*. <https://doi.org/10.1111/tpj.13889>
- 1922 Mifflin BJ, Habash DZ (2002) The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in
1923 nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. In:
1924 *Journal of Experimental Botany*
- 1925 Mukhtar A, Akram NA, Aisha R, et al (2016) Foliar-applied ascorbic acid enhances antioxidative
1926 potential and drought tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*).
1927 *Agrochimica*. <https://doi.org/10.12871/0021857201624>
- 1928 Naz H, Akram NA, Ashraf M (2016) Impact of ascorbic acid on growth and some physiological
1929 attributes of cucumber (*Cucumis Sativus*) plants under water-deficit conditions. *Pakistan J Bot*
- 1930 Nephali L, Moodley V, Piater L, et al (2021) A Metabolomic Landscape of Maize Plants Treated
1931 With a Microbial Biostimulant Under Well-Watered and Drought Conditions. *Front Plant Sci*
1932 12:977. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2021.676632/BIBTEX>

- 1933 Nunes-Nesi A, Carrari F, Gibon Y, Sulpice R, Lytovchenko A, Fisahn J, Graham J, Ratcliffe RG,
1934 Sweetlove LJ and Fernie AR (2007) Deficiency of mitochondrial fumarase activity in tomato
1935 plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function. *Plant Journal* 50, 1093–1106.
1936 doi:10.1111/j.1365-313X.2007.03115.x.
- 1937 Ohyama T, Ohtake N, Sueyoshi K, et al (2017) Amino Acid Metabolism and Transport in Soybean
1938 Plants. In: *Amino Acid - New Insights and Roles in Plant and Animal*
- 1939 Oliveira HO, de Castro GLS, Correa LO, et al (2019) Coupling physiological analysis with proteomic
1940 profile to understand the photosynthetic responses of young *Euterpe oleracea* palms to drought.
1941 *Photosynth Res* 140:189–205. <https://doi.org/10.1007/s11120-018-0597-6>
- 1942 Othibeng K, Nephali L, Myoli A, et al (2022) Metabolic Circuits in Sap Extracts Reflect the Effects
1943 of a Microbial Biostimulant on Maize Metabolism under Drought Conditions. *Plants* 11:510.
1944 <https://doi.org/10.3390/PLANTS11040510/S1>
- 1945 Pan Y, Lu Z, Lu J, et al (2017) Effects of low sink demand on leaf photosynthesis under potassium
1946 deficiency. *Plant Physiol Biochem* PPB 113:110–121.
1947 <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2017.01.027>
- 1948 Porra et al. 1989 (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations
1949 for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the
1950 concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *BBA - Bioenerg*
1951 975:. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0)
- 1952 Prasanna R, Pabby A, Singh PK (2004) Effect of glucose and light-dark environment on
1953 pigmentation profiles in the cyanobacterium *Calothrix elenkenii*. *Folia Microbiol (Praha)*
1954 49:26–30. <https://doi.org/10.1007/BF02931641>
- 1955 Ramesh SA, Tyerman SD, Xu B, et al (2015a) GABA signalling modulates plant growth by directly
1956 regulating the activity of plant-specific anion transporters. *Nat Commun.*
1957 <https://doi.org/10.1038/ncomms8879>
- 1958 Ramesh SA, Tyerman SD, Xu B, et al (2015b) Correction: Corrigendum: GABA signalling
1959 modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters.
1960 *Nat Commun.* <https://doi.org/10.1038/ncomms9293>
- 1961 Samaniego-Gómez BY, Garruña R, Tun-Suárez JM, et al (2016) *Bacillus* spp. inoculation improves
1962 photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper plants. *Chil J Agric Res*
1963 76:409–416. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000400003>
- 1964 Schmölling T (2002) New insights into the functions of cytokinins in plant development. *J Plant*
1965 *Growth Regul.* <https://doi.org/10.1007/s003440010046>
- 1966 Shao J, Li S, Zhang N, et al (2015) Analysis and cloning of the synthetic pathway of the
1967 phytohormone indole-3-acetic acid in the plant-beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9.
1968 *Microb Cell Fact* 14:1–13. <https://doi.org/10.1186/S12934-015-0323-4/FIGURES/3>
- 1969 Shelp BJ, Zarei A (2017) Subcellular compartmentation of 4-aminobutyrate (GABA) metabolism in
1970 *Arabidopsis*: An update. *Plant Signal Behav.* <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1322244>
- 1971 Shi Y, Lou K, Li C (2010) Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta*
1972 *vulgaris* L.) by endophytic bacteria. *Photosynth Res.* <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9547-7>
1973 7
- 1974 Silva PA, Cosme VS, Rodrigues KCB, et al (2017) Drought tolerance in two oil palm hybrids as
1975 related to adjustments in carbon metabolism and vegetative growth. *Acta Physiol Plant.*
1976 <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2354-4>
- 1977 Silvestre WVD, Pinheiro HA, Souza ROR de M, Palheta LF (2016) Morphological and physiological

- 1978 responses of açai seedlings subjected to different watering regimes. *Rev Bras Eng Agrícola e*
1979 *Ambient* 20:364–371. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n4p364-371>
- 1980 Silvestre WVD, Silva PA, Pahlheta LF, et al (2017) Differential tolerance to water deficit in two açai
1981 (*Euterpe oleracea* Mart.) plant materials. *Acta Physiol Plant*. [https://doi.org/10.1007/s11738-](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2301-9)
1982 [016-2301-9](https://doi.org/10.1007/s11738-016-2301-9)
- 1983 Velázquez E, Rodríguez-Barrueco C (2007) First International Meeting on Microbial Phosphate
1984 Solubilization. Springer Netherlands
- 1985 Wang Z, Hassan MU, Nadeem F, et al (2020) Magnesium Fertilization Improves Crop Yield in Most
1986 Production Systems: A Meta-Analysis. *Front Plant Sci* 10:1727.
1987 <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01727/BIBTEX>
- 1988 Weisskopf L, Abou-Mansour E, Fromin N, et al (2006) White lupin has developed a complex strategy
1989 to limit microbial degradation of secreted citrate required for phosphate acquisition. *Plant, Cell*
1990 *Environ*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01473.x>
- 1991 Yang J, Kloepper JW, Ryu CM (2009) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends*
1992 *Plant Sci* 14:1–4. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2008.10.004>
- 1993 Ye N, Zhu G, Liu Y, et al (2012) Ascorbic acid and reactive oxygen species are involved in the
1994 inhibition of seed germination by abscisic acid in rice seeds. *J Exp Bot*.
1995 <https://doi.org/10.1093/jxb/err336>
- 1996 Yoshida T, Christmann A, Yamaguchi-Shinozaki K, et al (2019) Revisiting the Basal Role of ABA
1997 – Roles Outside of Stress. *Trends Plant Sci*.
- 1998 Zhang K, Liu Z, Shan X, et al (2017) Physiological properties and chlorophyll biosynthesis in a Pak-
1999 choi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) yellow leaf mutant, pylm. *Acta Physiol Plant* 39:.
2000 <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2321-5>
- 2001 Zhang N, Yang D, Wang D, et al (2015) Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial
2002 rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 during enhanced biofilm formation regulated
2003 by maize root exudates. *BMC Genomics* 16:1–20. [https://doi.org/10.1186/S12864-015-1825-](https://doi.org/10.1186/S12864-015-1825-5/FIGURES/8)
2004 [5/FIGURES/8](https://doi.org/10.1186/S12864-015-1825-5/FIGURES/8)
- 2005 Zhang Y (2013) *Ascorbic Acid in Plants*. Springer
- 2006 Zhao Y, Zhang F, Mickan B, et al (2022) Physiological, proteomic, and metabolomic analysis
2007 provide insights into *Bacillus* sp.-mediated salt tolerance in wheat. *Plant Cell Rep* 41:.
2008 <https://doi.org/10.1007/S00299-021-02788-0>
- 2009

2010