



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

RAFAEL RODRIGO DA SILVA COSTA

**ALTERAÇÕES MORFOANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E CRESCIMENTO
DE MUDAS DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* JACQ.) INDUZIDAS POR
MICROORGANISMOS**

BELÉM

2024

RAFAEL RODRIGO DA SILVA COSTA

**ALTERAÇÕES MORFOANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E CRESCIMENTO
DE MUDAS DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* JACQ.) INDUZIDAS POR
MICROORGANISMOS**

Tese apresentada para obtenção de grau de
Doutor em Agronomia. Programa de Pós-
Graduação em Agronomia da Universidade
Federal Rural da Amazônia.

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

Coorientador: Prof. Dr. João Paulo Rodrigues Marques

BELÉM

2024

RAFAEL RODRIGO DA SILVA COSTA

**ALTERAÇÕES MORFOANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E CRESCIMENTO
DE MUDAS DE DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* JACQ.) INDUZIDAS POR
MICRORGANISMOS**

Tese apresentada para obtenção de grau de Doutor em Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia.

Aprovado em fevereiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Gisele Barata da Silva
Orientadora
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

Marcela Cristiane Ferreira Rêgo
Universidade do Estado do Pará

Fernanda Ilkiu Borges de Souza
Embrapa Amazônia Oriental

Gilson Sánchez Chia
Mejer Agroflorestral

Rodolfo Inácio Nunes Santos
Universidade Federal Rural da Amazônia

BELÉM

2024

DEDICATÓRIA

Dedico à minha mãe Rosilene Maria da Silva, que sempre me apoiou em todos os momentos e que nunca mediu esforços em me criar e educar.

Dedico a todas as pessoas que conheci e contribuíram de alguma forma no meu crescimento acadêmico e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida, por ter me proporcionado esta grande experiência acadêmica e pessoal com saúde, felicidade e força, durante esta caminhada. Ao Senhor meu Deus, sou grato por tudo em minha vida.

A Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela estrutura e qualidade de ensino e ao corpo docente e de funcionários que contribuíram no andamento das atividades.

Ao PGagro, pela oportunidade de aprendizado e contribuições, visando o aprimoramento dos estudantes de pós-graduação e preparo ao mercado de trabalho. À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado e financiamento de pesquisas.

À minha orientadora Gisele Barata da Silva, pelos seus ensinamentos, paciência, comprometimento exemplar e disposição inigualável no repasse de conhecimentos e por me instigar a aprender cada vez mais. Agradeço por ser uma mentora tão dedicada e por desempenhar um papel fundamental no meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao meu coorientador o professor João Paulo Rodrigues Marques, por ter aceitado o convite de coorientação e ter me recebido com grande empenho e comprometimento, agradeço pela sua confiança, conhecimento repassado, dedicação e amizade firmada.

Aos membros da banca de defesa, Marcela Cristiane Ferreira Rêgo, Fernanda Ilkiu Borges, Gilson Sánchez Chia e Rodolfo Inácio Nunes, que generosamente aceitaram fazer parte da banca e contribuirão no aprimoramento e qualidade desta pesquisa.

À todos os membros dedicados do Laboratório de Proteção de Plantas (LPP), cujo apoio foi essencial nas inúmeras atividades laborais e de campo. Além disso, quero destacar a formação de laços de amizade ao longo desta jornada, agradecendo por cada momento compartilhado que proporcionou não apenas aprendizado, mas também conversas enriquecedoras e risadas memoráveis. Agradeço individualmente a Alessandra Moraes, André Luís, Diego Lemos, Fernando de Souza, João Paulo Morais, Juliete Oliveira, Juliana Tavares, Luís Felipe, Maria Gomes, Maria Luiza Brito, Matheus Yan, Mauro Borges, Ricardo Lobato, Rodolfo Inácio, Rubson Leite e Verônica Paes. Cada um de vocês contribuiu de maneira única para o ambiente colaborativo e acolhedor do laboratório, proporcionando uma rica troca de conhecimentos e fortalecendo os laços de

amizade. Agradeço por todos esses momentos significativos e pela valiosa partilha de saberes ao longo dessa trajetória.

Ao grupo Agropalma pelo valioso apoio fornecido durante o planejamento e execução deste trabalho.

À pesquisadora Fernanda Ilkiu, pelo conhecimento compartilhado e por permitir o acesso ao laboratório de Botânica da Embrapa Amazônia Oriental. Também estendo meu agradecimento ao professor Elliot Kitajima e ao professor João Paulo, por disponibilizarem o uso do Laboratório de microscopia eletrônica da Esalq USP para as análises anatômicas. Agradeço a todos pelo apoio inestimável, que facilitou o progresso das análises e também fortaleceu minha experiência acadêmica.

À minha mãe Rosilene Maria da Silva, minha irmã Rafaela de Nazaré e minha namorada Glenda Tainara Barbosa e a todos os demais membros familiares que sempre me apoiaram em todos os momentos do doutorado. Sua presença e encorajamento foram pilares fundamentais, tornando essa jornada acadêmica mais significativa e possível. Agradeço de coração por todo o amor, compreensão e suporte incondicional que recebi de cada um de vocês.

RESUMO

O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma espécie oriunda do continente africano, pertencente à família das Arecaceae com grande importância, devido a comercialização dos óleos de dendê e palmiste extraídos de seus frutos e utilizados nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticos e biocombustíveis. No Brasil, o estado do Pará possui posição de destaque na produção de óleo de palma, por conta das condições edafoclimáticas favoráveis ao crescimento da cultura e pela quantidade de áreas degradadas que podem ser reaproveitadas com o cultivo do dendezeiro. Nas últimas décadas, o cultivo do dendezeiro tem expandido na região, porém processo de produção de mudas de dendezeiro requer um longo período de viveiro e altas dosagens por fertilizantes, por conta disso é necessário o uso de técnicas que favoreçam o crescimento de mudas de dendezeiro e melhorem a eficiência no uso de fertilizantes. O uso de microrganismos promotores de crescimento de plantas tende a ser uma alternativa sustentável na formação de mudas robustas e de maior precocidade e menor custo benefício, dentre estes microrganismos destacam-se fungos do gênero *Trichoderma* e rizobactérias como *Serratia marcescens* e *Bacillus amyloliquefaciens*, estes microrganismos possuem a capacidade de promover crescimento em plantas devido a diversos mecanismos diretos e indiretos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações morfoanatômicas foliares e radiculares, associadas ao desempenho fotossintético e ao desenvolvimento radicular em mudas de dendezeiro, induzida pela inoculação com microrganismos promotores de crescimento. Desta forma, foram realizados dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado, o primeiro consistiu em mudas de dendezeiro inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens*, *Serratia marcescens* e um pool de quatro isolados de *T. asperellum* (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52) e comparadas com mudas controle (não inoculadas), seis meses após a inoculação das plantas, foi observado que todos os microrganismos testados promoveram alterações morfoanatômicas e fisiológicas favoráveis ao crescimento em mudas de dendezeiro. A aplicação com estes microrganismos estimulou o aumento da espessura do limbo foliar, do mesófilo e no número e diâmetro dos elementos de vaso do metaxilema, isto pode ter contribuído com o acúmulo de clorofilas e conseqüentemente no aumento da atividade potencial do fotossistema II, na taxa de transporte de elétrons, na dissipação fotoquímica e na assimilação líquida de CO₂ em plantas bioestimuladas, resultando de modo geral na promoção de crescimento em mudas de dendezeiro. O segundo experimento teve por objetivo avaliar as alterações morfoanatômicas radiculares favoráveis à melhoria na eficiência na adubação e ao crescimento em mudas de dendezeiro inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. Mudas de dendezeiro tratadas com 50% da adubação recomendada foram inoculadas com o isolado de *Trichoderma* FT-02 e o pool com quatro isolados de *T. asperellum* (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52) e comparados com plantas não inoculadas com 50% e 100% da adubação recomendada. As plantas com 12 meses de idade bioestimuladas apresentaram espessamento do córtex, aumento no número e diâmetro dos elementos de vasos do metaxilema e do cilindro vascular, além disso o isolado de FT-02 proporcionou o aumento da área superficial e volume radicular em comparação as plantas não inoculadas. De modo geral, a inoculação com microrganismos em mudas de dendezeiro induziu alterações morfoanatômicas positivas e funcionais, que permitiu a melhoria na performance fotossintética, desenvolvimento radicular e contribuiu com a promoção de crescimento.

Palavras Chave: Inoculação, anatomia, fisiologia, crescimento radicular.

ABSTRACT

The oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is a species from the African continent, belonging to the Arecaceae family, with great importance due to the commercialization of palm kernel oils extracted from their fruits and used in the food, pharmaceutical, cosmetics and biofuels. In Brazil, the state of Pará has a prominent position in the production of palm oil, due to the edaphoclimatic conditions favorable to the crop and the number of degraded areas that can be reused with the cultivation of oil palm. In recent decades, oil palm cultivation has expanded in the region, but the process of producing oil palm seedlings requires a long period in the nursery and high doses of fertilizers, which is why it is necessary to use techniques that are favorable to the growth of oil palm seedlings and improve efficiency in the use of fertilizers. The use of plant growth-promoting microorganisms tends to be a sustainable alternative in the formation of robust seedlings, more precocious and lower cost-benefit. Among these microorganisms, fungi of the *Trichoderma* genus and rhizobacteria such as *Serratia marcescens* and *Bacillus amyloliquefaciens* stand out, these microorganisms have the ability to promote growth in plants due to several direct and indirect mechanisms. Therefore, the objective of this work was to evaluate leaf and root morphoanatomical changes, associated with photosynthetic performance and root development in oil palm seedlings, induced by inoculation with growth-promoting microorganisms. Thus, two experiments were carried out in a completely randomized design, the first consisted of oil palm seedlings inoculated with *B. amyloliquefaciens*, *S. marcescens* and a pool of four isolates of *T. asperellum* (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 and UFRA 52) and compared with control seedlings (not inoculated), six months after inoculation of the plants, it was observed that all microorganisms tested promoted morphoanatomical and physiological changes favorable to growth in oil palm seedlings. The application with these microorganisms stimulated an increase in the thickness of the leaf blade, the mesophyll and the number and diameter of the metaxylem vessel elements, this may have contributed to the accumulation of chlorophylls and consequently the increase in the potential activity of photosystem II, at the rate of electron transport, photochemical dissipation and net assimilation of CO₂ in biostimulated plants, generally resulting in the promotion of growth in oil palm seedlings. The second experiment aimed to evaluate root morphoanatomical changes favorable to improving fertilization efficiency and growth in oil palm seedlings inoculated with isolates of *Trichoderma* spp. oil palm seedlings treated with 50% of the recommended fertilization were inoculated with the *Trichoderma* FT-02 isolate and the pool with four *T. asperellum* isolates (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 and UFRA-52) and compared with non-inoculated plants with 50% and 100% of the recommended fertilization. The biostimulated 12-month-old plants showed thickening of the cortex, an increase in the number and diameter of the metaxylem vessel elements and the vascular cylinder, in addition, the FT-02 isolate provided an increase in the surface area and root volume in comparison to the plants not inoculated. In general, inoculation with microorganisms in oil palm seedlings induced positive morphoanatomical and functional changes, which allowed an improvement in photosynthetic performance, root development and contributed to the promotion of growth.

Key word: inoculation, anatomy, physiology, root growth.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
CONTEXTUALIZAÇÃO	10
REFERÊNCIAS	11
Capítulo 1: ALTERAÇÕES MORFOANATOMICAS E FISIOLÓGICAS EM MUDAS DE DENDEZEIRO INDUZIDA POR BIOESTIMULANTES	14
RESUMO.....	19
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL MÉTODOS	21
Área experimental.....	21
Material vegetal	21
Preparo e inoculação com microrganismos	21
Solubilização de fosfato.....	22
Produção de sideróforos	22
Produção de ácido indolacético AIA	22
Delineamento experimental	22
Morfometria	23
Biomassa	23
Anatomia foliar	23
Teor de pigmentos fotossintéticos	23
Trocias gasosas	24
Fluorescência da clorofila a	24
Análise estatística	24
RESULTADOS	24
Testes bioquímicos	24
Morfometria e Biomassa.....	25
Teor de pigmentos fotossintéticos	27

Trocas Gasosas	28
Fluorescência da Clorofila a	30
Anatomia Foliar	31
DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIA.....	36
Capítulo 2: ANATOMIA E CRESCIMENTO RADICULAR EM MUDAS DE <i>ELAEIS GUINEENSIS</i> INOCULADAS COM <i>TRICHODERMA</i> SPP.....	40
RESUMO.....	44
ABSTRACT	44
INTRODUÇÃO.....	45
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
Área de estudo	46
Material vegetal	47
Preparo de microrganismos	47
Delineamento experimental	48
Biometria e Biomassa	48
Dinâmica e crescimento radicular	49
Anatomia radicular	49
Análise estatística	50
RESULTADOS	50
DISCUSSÃO	56
CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS	59
CONCLUSÕES GERAIS.....	64

CONTEXTUALIZAÇÃO

O dendezeiro ou palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma espécie monocotiledônea, pertencente à família das Arecaceae, caracteriza por ser uma cultura permanente e contínua ao longo do ano com um ciclo de produção de 25 a 30 anos, possui grande importância econômica devido aos óleos extraídos a partir de seus frutos, o óleo de palma e o óleo de palmiste (BRAZILIO *et al.*; 2012; SUFRAMA, 2003; MAPA, 2018).

O dendezeiro se destaca dentre as plantas oleaginosas por apresentar a maior produtividade, com rendimentos variando entre 25 a 28 toneladas de cachos por hectare ao ano, e 4 a 6 toneladas de óleo por hectare ao ano (SUFRAMA, 2003). Atualmente o Brasil é nono maior produtor de óleo de palma no mundo sendo responsável por 395.000 toneladas de óleo ao ano (SEDAP, 2020)

A Amazônia brasileira apresenta características edafoclimáticas adequadas ao cultivo de dendezeiro, tendo o estado do Pará com uma ampla disponibilidade de áreas degradadas que podem ser aproveitadas para o cultivo desta cultura (MAPA, 2018). Com isso, a cultura da palma apresenta um grande potencial produtivo nesta região visando atender o mercado crescente de óleo de palma e de palmiste, destinados às indústrias alimentícias, farmacêuticas, cosméticos e de biodiesel (CARDOSO *et al.*; 2014).

Para garantir o crescimento de áreas de cultivo de dendezeiro na região, é necessário a implantação com mudas de alta qualidade agrônômica que podem refletir diretamente no crescimento e produtividade durante a fase adulta (BARCELOS *et al.*; 2001). Porém o processo de produção de mudas de dendezeiro demanda um longo período de 12 meses em média e necessita de uma alta demanda por fertilizantes e alto custo operacional (BARCELOS *et al.*; 2001; LIMA *et al.*; 2020).

O uso de microrganismos promotores de crescimento em plantas (PGPM) tem sido aplicado como uma alternativa na formação de mudas precoce e na redução no uso de fertilizantes, o que garante maior viabilidade econômica ao produtor (LIMA *et al.*; 2022) além de aliviarem os efeitos negativos causados por estresses abióticos e bióticos (CASTRO *et al.* 2020; SUNDRAM, 2015).

Diversos produtos à base de microrganismos são comercializados, por meio de formulações em forma de pó molhável ou em grânulos e seus efeitos variam de acordo com o isolado inoculado, a planta hospedeira, forma de manejo e as condições edafoclimáticas impostas (ZIN e BADALUDDI, 2020). Estudos com isolados nativos da

Amazônia tem mostrado resultados promissores em diferentes espécies de palmeiras como o dendezeiro (LIMA *et al.*; 2020; LIMA *et al.*; 2021), açaizeiro (CASTRO *et al.*; 2019) e coqueiro (CARDOSO *et al.*; 2021).

Esses microrganismos atuam por meio de diversos mecanismos de promoção de crescimento como a produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes, produção de sideróforos, fixação de nitrogênio, indução de resistência sistêmica, produção de compostos voláteis, que contribuem na promoção de crescimento de plantas e resultam em alterações morfoanatômicas em folhas e raízes (LOPES *et al.*; 2017; OLANREWAJU *et al.*; 2017; RÊGO *et al.*; 2014).

O *Bacillus amyloliquefaciens* induziu o aumento na síntese de hormonal de citocininas e auxinas na zona quiescente radicular (ASARI *et al.*, 2017). O que pode favorecer sobre a atividade mitótica acelerada de células nestes tecidos e resultar na diferenciação morfoanatômicas da raiz (BATISTA *et al.*, 2021).

Segundo Cardoso *et al* (2019) alterações morfoanatômicas em folhas e raízes induzida por bactérias em planta de alface pode estar atribuída a síntese de fitohormônios. Em plantas de soja bioinoculadas com *Trichoderma* houve indução do córtex e cilindro vascular de raízes, que garantem maior resistência a patógenos e a condições adversas (OLIVEIRA *et al.*; 2020). Enquanto em plantas de arroz bioestimuladas, o aumento no diâmetro dos elementos de vaso do metaxilema, favoreceu a maior condutividade hidráulica o que permite também o maior fluxo de nutrientes (RÊGO *et al.*; 2014).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações morfoanatômicas foliares e radiculares, associadas ao desempenho fotossintético e ao desenvolvimento radicular em mudas de dendezeiro, induzida pela inoculação com microrganismos promotores de crescimento.

REFERÊNCIAS

- ASARI, A; TARKOWSKA, D; ROLCIK, J; NOVÁK, O; PALMERO, D. V; BEJAI, S. MEIJER, J. 2017. Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. **Planta**. Vol.245. 15-30p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>
- BARCELOS, E.; RODRIGUES, M. R. L.; DOS SANTOS, J. A.; CUNHA, R. N. 2001. Produção de mudas de dendezeiro na Amazônia. Manaus-AM. Embrapa. Circular Técnica. 12p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/670071>.
- BATISTA, B. D; DOURADO, M. N; FIGUEREDO, E. F; HORTENCIO, R. O; MARQUES, J. P. R; PIOTTO, F. A; BONATELLI, M. L; SETLES, M. L; AZEVEDO, J. L; QUECINE, M. C. 2021. The auxin-producing *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 promotes the growth and modifies the root architecture of tomato (*Solanum lycopersium*

- cv. Micro-Tom). Archives of microbiology. Vol. 203, n. 7. 3869-3882p. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-021-02361-z>
- BRAZILIO, M; BISTACHIO, N. J; PERINA, V. C. S; NASCIMENTO, D. D. 2012. Revisão: O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Bioenergia em revistas: diálogos**. V.2, n.1. 27-45p. Disponível em: <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/51>
- CARDOSO, A. F; ALVES, E. C; COSTA, S. A; MORAES, A. J. G; SILVA JÚNIOR, D. D; LINS, P. M. P; SILVA, G. B. 2021. Bacillus cereus improves performance of brazilian green dwarf coconut palms seedlings with reduced Chemical fertilization. **Frontiers in plant Science**. Vol. 12, n.20. 12p. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649487>.
- CARDOSO, A. F; RÊGO, M. C. F; BATISTA, T. F. V; VIANA, R. G; LINS, A. L. F. A; SILVA, G. B. 2019. Morphoanatomy and chlorophyll of lettuce plants induced by rhizobacteria. **Journal of agricultural studies**. Vol. 7, n.4. 196-211p. Disponível em: <https://doi.org/10.5296/jas.v7i4.15218>
- CARDOSO, A. C. D; MANESCHY, M. C; MATLABA, V. J. 2014. Produção de óleo de palma no nordeste do estado do Pará, Brasil: desafios e subsídios para o desenvolvimento sustentável. **Estudos sociedade e agricultura**. Vol.22, n.01. 193-223p. Disponível em: <https://revistaesa.com/ojs/index.php/esa/article/view/474>
- CASTRO, G. L. S; DA SILVA JÚNIOR, D. D; VIANA, R. G; RÊGO, M. C. F; SILVA, G. B. 2019. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açai palm seedlings by rhizobacteria. **Acta Physiologiae Plantarum**. Vol. 41, n.09. 163p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2952-4>
- CASTRO, G. L. S; RÊGO, M. C. F; SILVESTRE, W. V. D; BATISTA, T. F. V; DA SILVA, G. B. 2020. Açai palm seedling growth promotion by rhizobacteria inoculation. **Brazilian journal of microbiology**. Vol. 51, n. 1. 205-216p. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-019-00159-2>.
- LIMA, J. V; TINÔCO, R. S; OLIVARES, F. L; MORAES, A. J. G; CHIA, G. S; SILVA, G. B. 2020. Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria enhances nutrient use efficiency and biomass in oil palm. **Scientia Horticulturae**. Vol. 264. 109161p. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- LIMA, J. V; TINÔCO, R. S; OLIVARES, F. L; CHIA, G. D; MELO JÚNIOR, J. A. G; SILVA, G. B. 2021. Rhizobacteria modify root architecture and improve nutriente uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. **Rhizosphere**. Vol. 19. 1-10p. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100420>.
- LIMA, J. V; TINÔCO, R. S; OLIVARES, F. L; CHIA, G. D; OLIVARES, F. L; SILVA, J. P. M. D; SILVA, G. B. 2022. Oil palm production with reduced economic costs and environmental impacts through the use of rhizobacteria. **Archives of phytopathology and plant protection**. Vol. 55, n.17. 1998-2008p. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235408.2022.2086193>
- LOPES, M; DIAS-FILHO, MB; CASTRO, THR; SILVA, GB. 2017. Light and plant growth-promoting rhizobacteria effects on Brachiaria brizantha growth and phenotypic plasticity to shade. **Grass and forage Science**. Vol.73, n.2. 493-499p. Disponível em: DOI: 10.1111/gfs.12336
- MAPA. 2018. Diagnóstico da produção sustentável da palma de óleo. Brasília-DF. 1º ed. Disponível em: http://www.abrapalma.org/pt/wp-content/uploads/2014/12/DIAGNOSTICO_PALMA.pdf
- OLANREWAJU, O. S; GLICK, B. R; BABALOLA, O. O. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World journal of microbiology and biotechnology**. Vol. 33, n. 11. 197p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>

- OLIVEIRA, C. M; ALMEIDA, N. O; ROCHA, M. R; REZENDE, M. H; CARNEIRO, R. G. S; ULHOA, C. J. 2020. Anatomical changes induced by isolate of *Trichoderma* spp. In soybean plants. **Plos one**. Vol. 15, n.11. 16p. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242480>
- RÊGO, M. C. F; BORGES, F. I; FILIPPI, M. C. C; GONÇALVES, L. A; SILVA, G. B. 2014. Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plant induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**. Vol. 2014. 10p. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/818797>
- SEDAP. 2020. Dados Agropecuários: Dendê. Secretaria De Estado De Desenvolvimento Agropecuário E Da Pesca (Acessado em 20 de dezembro de 2022). <http://www.sedap.pa.gov.br/dados-agropecuarios/agropecuaria>.
- SUFRAMA. 2003. Projeto potencialidades regionais, estudo de viabilidade econômica: Dendê. Manaus-AM. Disponível em: http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/dende.pdf
- SUNDRAM, A; MEON, S; SEMAN, I. A; OTHMAN, R. 2015. Application of arbuscular mycorrhizal fungi with *Pseudomona aeruginosa* UPMP3 reduces the development of Ganoderma basal stem rot disease in oil palm seedlings. **Mycorrhiza**. Vol. 25. 387-397p. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-014-0620-5>
- ZIN, N. A; BADALUDDIN, N. A. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. **Annals of Agricultural Sciences**. Vol. 65, n. 02. 168-178p. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.09.003>

Capítulo 1: ALTERAÇÕES MORFOANATOMICAS E FISIOLÓGICAS EM MUDAS DE DENDEZEIRO INDUZIDA POR BIOESTIMULANTES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig1** Mudanças de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes em comparação ao controle (planta não inoculada) 25
- Fig2** Morfometria em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. (A) Altura da planta, (B) diâmetro do coleto, (C) número de folhas, (D) área foliar, (E) massa seca da parte aérea, (F) massa seca da raiz e (G) massa seca total. Letras iguais indicam que não há diferença significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$) 27
- Fig 3** Quantificação de pigmentos fotossintéticos em folhas de mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. (A) Teor de clorofila a, (B) Teor de clorofila b e (C) Teor de clorofilas totais. Letras iguais indicam que não há diferença significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$) 28
- Fig4** Trocas gasosas em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. (A) taxa de assimilação líquida de CO_2 (A), (B) condutância estomática (gs), (C) concentração intercelular de CO_2 (C_i), (D) transpiração (E) e (E) taxa de carboxilação da rubisco (A/C_i). Letras iguais indicam que não há diferença significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$). 29
- Fig5** Fluorescência da clorofila a, em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. (A) Fluorescência inicial (F_0), (B) fluorescência máxima (F_m), (C) atividade potencial do fotossistema II (FV/F_0), (D) taxa de transferência de elétrons (ETR), (E) coeficiente de dissipação fotoquímica (q_P) e (F) coeficiente de dissipação não-fotoquímica (q_N). Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$) 31
- Fig6** Cortes anatômicos transversal em folhas de mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. Fibra (FI), espessura do limbo foliar (LI), elementos de vaso do metaxilema (MTX), epiderme (EP), mesofilo (ME), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL) e idioblasto (ID) 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Testes bioquímicos in vitro de isolados microbianos promotores de crescimento em plantas.	25
Tabela 2: Morfoanatomia foliar em mudas de <i>Elaeis guineensis</i> com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes. Espessura do corte transversal do limbo foliar (LI), espessura do mesofilo (ME), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), número de elementos de vaso do metaxilema (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vaso do metaxilema (DMTX).	32

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>A</i>	Taxa de assimilação líquida de CO ₂
<i>A/Ci</i>	Taxa de carboxilação da rubisco
<i>AIA</i>	Ácido indolacético
<i>ATP</i>	Adenosina trifosfato
<i>BDA</i>	Batata, dextrose e ágar
<i>Ca₃(PO₄)</i>	Fosfato tricálcico
<i>Cas</i>	Cromo Azurol S
<i>CFF</i>	Cacho do fruto fresco
<i>Ci</i>	Carbono intercelular
<i>CO₂</i>	Dióxido de carbono
<i>E</i>	Transpiração
<i>ETR</i>	Taxa de transferência de elétrons
<i>F.A.A.</i>	Formaldeído, ácido acético e álcool
<i>FeCl₃</i>	Cloreto férrico
<i>FI</i>	Fibra
<i>F_m</i>	Fluorescência máxima
<i>F_o</i>	Fluorescência inicial
<i>F_o'</i>	Fluorescência inicial adaptada
<i>F_s</i>	Fluorescência no estado estacionário
<i>F_v/F_o</i>	Atividade potencial do fotossistema II
<i>g_s</i>	Condutância estomática
<i>HClO₄</i>	Ácido perclórico
<i>ID</i>	Idioblasto
<i>KCl</i>	Cloreto de potássio
<i>LI</i>	Limbo foliar
<i>ME</i>	Mesofilo foliar
<i>MgCl₂.6H₂O</i>	Cloreto de magnésio hexahidratado
<i>MgSO₄.7H₂O</i>	Sulfato de magnésio heptahidratado
<i>MPCPs</i>	Microrganismos promotores de crescimento em plantas
<i>MTX</i>	Metaxilema
<i>NADPH</i>	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Sulfato de amônio
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa
PL	Parênquima lacunoso
PP	Parênquima paliçádico
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
qN	Coefficiente de dissipação não fotoquímica
qP	Coefficiente de dissipação fotoquímica
U.F.C.	Unidades formadoras de colônias

1 INTRODUÇÃO

2 O dendezeiro ou palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) é uma espécie oriunda da África,
3 pertencente à família das Arecaceae, a partir do fruto do dendezeiro é extraído dois tipos de óleo, o óleo
4 de palma obtido do mesocarpo do fruto e o óleo de palmiste a partir da semente, a versatilidade do uso
5 destes óleos é de grande importância para atender a demanda do mercado crescente nas diversas indústria
6 como a alimentícia, cosméticos, fármacos e de biocombustíveis (Brazilio et al 2012; Souza Junior et al
7 2017).

8 O Brasil está entre os principais produtores mundiais de dendê, com uma produção de 395.000
9 toneladas de óleo ao ano, as maiores áreas cultiváveis encontram-se na região amazônica, com destaque ao
10 estado do Pará que é o maior produtor nacional de óleo de palma, com uma produção anual de 3.200.000
11 toneladas de CFF (Sedap 2020). Dentre as espécies oleaginosas o dendê é o mais produtivo, pois
12 apresenta em média de 20 a 22 toneladas de cacho de fruto fresco (CFF) por hectare ao ano e uma produção
13 variando entre 4 a 5 toneladas de óleo por hectare ao ano (Souza Junior et al 2017; Sedap 2020).

14 O potencial produtivo de plantas de dendezeiro durante a fase adulta é resultante da maior
15 qualidade de mudas, devido a precocidade e produção na fase jovem com altura entre 80 a 125 cm e coleto
16 com diâmetro de 18 a 25 cm, desta forma o processo de produção de mudas de dendezeiro tem como
17 finalidade a formação de mudas vigorosas e desenvolvidas, com condições adequadas para serem
18 transplantadas à campo (Barcelos et al 2001; Gomes Júnior et al 2010).

19 O processo de formação das mudas de dendezeiro geralmente é longo, e necessita de uma alta
20 demanda por fertilizantes e alto custo operacional (Lima et al 2020). O uso de técnicas de manejo
21 sustentáveis na formação de mudas de qualidade faz-se necessário, para que apresentem maior desempenho
22 visando obter mudas mais vigorosas, ainda mais se levarmos em consideração as condições adversas
23 impostas como o déficit hídrico e a baixa disponibilidade de nutrientes que podem afetar as etapas iniciais
24 de desenvolvimento do dendezeiro (Lima et al 2020; Castro et al 2019).

25 O uso de microrganismos promotores de crescimento em plantas (MPCPs), são uma das
26 alternativas na formação de mudas precoces e de qualidade, pois estes microrganismos podem atuar por
27 meio de mecanismos como a solubilização de nutrientes como fósforo e potássio, produção de sideróforos,
28 fixação biológica de nitrogênio, estímulo na síntese de fitohormônios reguladores de crescimento como
29 auxinas, giberilinas e citocianinas (Olanrewaju et al 2017). Além disso, podem atuar como bio
30 controladores de pragas e doenças por meio da competição direta por espaço e alimento com
31 microrganismos fitopatogênicos e pela produção de antibióticos, enzimas líticas, compostos voláteis e
32 indução de resistência sistêmica e (Glick 2012).

33 Por meio destes mecanismos, os microrganismos induzem alterações morfoanatômicas positivas
34 ao crescimento vegetal (Larraburu e Llorente 2015), o que pode favorecer sobre a performance
35 fotossintética (Marques et al 2021). Segundo Gashash et al (2022) o aumento do parênquima paliçádico
36 tem relação direta com a melhoria do processo fotossintético. Harman et al (2019) encontraram diversos
37 genes envolvidos nas etapas fotoquímica e bioquímica das fotossínteses, assim como a síntese de proteínas
38 e pigmentos altamente expressos em plantas tratadas com *Trichoderma*.

39 Em mudas de açaizeiro, isolados bacterianos promoveram aumento nas taxas de assimilação
40 líquida de CO₂, reguladas pela condutância estomática e melhoria do aparato fotossintético (Castro et al

1 2019). Isolados de *Trichoderma* spp. promoveram aumento de pigmentos fotossintéticos, e
2 consequentemente com a fotossíntese em plantas de tomateiro (Alexandru et al 2013). O aumento da taxa
3 de assimilação líquida de CO₂ contribuiu com o acúmulo de biomassa seca em plantas de arroz inoculadas
4 com bactérias e um pool de isolados de *T. asperellum* (Nascente et al 2017).

5 Com isso, estes estudo parte da hipótese que os microrganismos promotores de crescimento
6 induzem alterações morfoanatômicas funcionais sobre a melhoria do aparato fotossintético e contribui no
7 desenvolvimento da planta hospedeira. Diante do exposto, este trabalho tem por objetivo avaliar as
8 alterações morfoanatômicas e a performance fotossintética em mudas de dendezeiro bioestimuladas.

9 MATERIAL MÉTODOS

10 Área experimental

11 O experimento foi instalado durante os meses de fevereiro a setembro de 2021 em área de casa de
12 vegetação na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), localizada no município de Belém-PA, no
13 qual apresenta característica climática do tipo AMI de acordo com Koppen-Geiger.

14 Material vegetal

15 Sementes de *Elaeis guineensis* Jacq. (Compacta x Ghana) pré-germinadas, foram semeadas e
16 permaneceram durante 30 dias em sementeira contendo fibra de coco (*Golden mix*) como substrato, as
17 plântulas com altura média de 15 cm foram inoculadas com bioestimulantes e transplantadas em sacos de
18 polietileno de 45 x 45 cm contendo terriço.

19 A plantas foram irrigadas diariamente, entre às 08 e 09 horas, a fim de manter a disponibilidade
20 de água próxima a capacidade de campo. A reposição da água perdida por evapotranspiração foi mensurada
21 a partir da metodologia descrita por Klar et al (1966), onde os sacos com substrato foram saturados com
22 água e pesados após o escoamento, em seguida o substrato foi secado em estufa de ar à temperatura de
23 105 °C durante 48 horas e pesado novamente.

24 Preparo e inoculação com microrganismos

25 Isolados bacterianos e de fungos do gênero *Trichoderma* provenientes do banco de
26 microrganismos do laboratório de proteção de plantas (LPP) da UFRA, foram cultivados e inoculados em
27 mudas de dendezeiro. A aplicação com 100 ml da suspensão microbiana foi feita durante o transplantio e
28 aos 15 e 45 dias após o plantio das mudas (Lima et al 2020).

29 Dentre os microrganismos cultivados foram selecionados dois isolados bacterianos de *Serratia*
30 *marcescens* e *Bacillus amyloliquefaciens*. Além de um pool com quatro isolados fúngicos de *Trichoderma*
31 *asperellum* (UFRA-06, UFRA -09, UFRA -12 e UFRA -52).

32 As rizobactérias foram cultivadas em placas de Petri contendo meio solidificado de 523 de Kado
33 e Heskett (1970), durante 48 horas com temperatura média de 28 °C, conforme recomendações (Filippi et
34 al 2011). Após isso, a suspensão bacteriana foi ajustada em espectrofotômetro, cuja concentração foi
35 ajustada de acordo com a correlação entre a densidade ótica e o número de unidades formadoras de colônias
36 (U.F.C./ml) para 0,2 abs. (540 nm), o que corresponde a aproximadamente a 10⁸ u.f.c.mL⁻¹ (Mafia et al
37 2009).

1 Os isolados de *Trichoderma* foram cultivados em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar)
2 incubado durante cinco dias a 28 °C, no qual será preparado uma suspensão na concentração de 10⁸ conídios
3 mL⁻¹ (Rêgo et al 2014; Sousa et al 2020).

4 Solubilização de fosfato

5 *B. amyloliquefaciens* e *S. marcescens*, foram cultivadas em placa de Petri contendo o meio Nbrp
6 solidificado composto por 10 g L⁻¹ de glicose, 2,5 g L⁻¹ de Ca₃(PO₄), 5 g L⁻¹ de MgCl₂.6H₂O, 0,25 g/L de
7 MgSO₄.7H₂O, 0,2 g L⁻¹ de KCl, 0,1 gL⁻¹ de (NH₄)₂SO₄ e 17 g L⁻¹ de ágar, com o PH ajustado para 7 para
8 o cultivo das bactérias que foram incubadas durante 14 dias a 28 °C, sendo considerado como
9 solubilizadoras de fosfato as bactérias que apresentaram a formação de halo ao redor de seu crescimento
10 (Nautiyal 1999).

11 Produção de sideróforos

12 Para identificar as bactérias produtoras de sideróforos, foi adotado o uso do método descrito por
13 (Schwyn e Neilands 1987), no qual os isolados bacterianos foram inoculados em tubos contendo
14 triptocaseína de soja diluída 10 vezes em água (4g L⁻¹) e incubados a 28 °C durante 24 horas, posteriormente
15 foi coletado 1 ml da suspensão bacteriana e centrifugada por 10 minutos a 12,000g, logo 1 mL do
16 sobrenadante formado foi coletado e inoculado em tubos contendo 1 ml de meio CAS (cromo azurol S).
17 Após 15 minutos a mudança de coloração da solução CAS de azul para amarelo indica a atividade de
18 produzir sideróforos pelo isolado.

19 Produção de ácido indolacético AIA

20 Os isolados bacterianos foram cultivados em tubos contendo 10 mL de meio de caldo nutritivo, no
21 qual foi adicionado 100 mg L⁻¹ de triptofano e incubados a 28 °C durante 72 horas a 100 rpm,
22 posteriormente a suspensão foi centrifugada e coletado 90 µL do sobrenadante formado e despejado em um
23 outro tubo contendo 60 µL de solução de Salkowski's (formado por 2 mL de 0,5 de FeCl₃, 49 mL de água
24 deionizada e 49 ml de HClO₄ 70%), os tubos foram mantidos no escuro por 30 minutos. A coloração rosa
25 da solução indica que a bactéria produza ácido indolacético (AIA) (Gordon e Weber 1951).

26 Delineamento experimental

27 Foi feito um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições e quatro tratamentos,
28 dentre estes, dois isolados bacterianos (*S. marcescens* e *B. amyloliquefaciens*), um pool com os quatro
29 isolados de *Trichoderma asperellum* (UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52) e um controle (sem
30 inoculação), totalizando em 20 unidades amostrais.

31 Mudanças de dendezeiro com seis meses de idade foram avaliadas quanto aos seus parâmetros
32 biométricos e biomassa para comprovar a promoção de crescimento induzida pelos microrganismos, com
33 isso folhas, foram selecionadas a avaliação de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a, e posteriormente
34 coletadas para análises bioquímicas e morfoanômicas.

1 **Morfometria**

2 Mudas de *Elaeis guineensis* foram avaliadas quanto aos seus parâmetros morfométricos, o número
3 de folhas (NF) foi contabilizado em cada planta, a área foliar (AF) será estimada pela massa seca de seis
4 discos foliares de 7mm de diâmetros, em relação ao peso da lâmina foliar, a altura (AP) foi medida entre a
5 base inferior do caule até o ápice da folha mais longa, o diâmetro do coleto (DC) foi mensurado com auxílio
6 de um paquímetro digital (Benicasa 1988).

7 **Biomassa**

8 Amostras de folhas e raízes de mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade, foram
9 separadas em parte aérea e raiz, armazenadas e identificadas em sacos de papel kraft e adicionadas em
10 estufas à 70 °C durante 48 horas, após a secagem as amostras foram pesadas em balança analítica de
11 precisão para obtenção dos valores de massa de matéria seca (Benicasa 1988; Lima et al 2020).

12 **Anatomia foliar**

13 Foi selecionada o terço médio do folíolo central da segunda folha mais desenvolvida (do ápice à
14 base) e fixadas em F.A.A 70 (formaldeído 37%, ácido acético e álcool 70%) na proporção de (1:1:18)
15 respectivamente, por 24 horas (Johansen 1940).

16 Amostras foliares foram inicialmente desidratadas em série alcoólica (80%, 90%, 100%) a cada
17 20 minutos e embebidas em resina plástica durante 24 horas (Marques e Soares 2021), as amostras foram
18 cortadas transversalmente com o auxílio de um micrótomo rotativo com 5 µm de espessura, e coradas com
19 azul de toluidina. As imagens foram capturadas digitalmente com auxílio de uma câmera fotográfica
20 acoplada a um microscópio (Leica DMLB) e computador.

21 Os parâmetros anatômicos como a espessura do limbo (EL), espessura do mesofilo (EM), diâmetro
22 dos elementos de vaso do metaxilema e número de elementos de vaso do metaxilema, foram mensurados
23 com o auxílio do software Image J de análise de imagem Leica (Mauri et al 2019).

24 **Teor de pigmentos fotossintéticos**

25 A segunda folha completamente expandida do ápice a base de cada planta (6 meses de idade),
26 foram seccionadas e acondicionadas em recipiente de isopor, para serem transportadas ao laboratório para
27 a determinação do teor de clorofilas a e b. As amostras foliares (30 mg) foram maceradas em nitrogênio
28 líquido e adicionadas em microtubo contendo 250 µL de etanol 80%, homogeneizado em vórtex, incubados
29 em 80 °C, durante 20 minutos e centrifugados a 13.000 rpm a 4 °C por 5 minutos. Após a centrifugação as
30 amostras foram divididas em duas fases distintas sendo o precipitado e sobrenadante. O precipitado foi
31 lavado duas vezes em 250 µL de etanol 90% e etanol 100% respectivamente.

32 O volume formado pelas lavagens do precipitado esteve em aproximadamente 750 µL para cada
33 unidade amostral, com isso foram coletados 15 µL de alíquota de solução extratora e adicionado em meio
34 de reação formado por 120 µL de etanol 95% e 35 µL de uma solução etílica (etanol 100% + etanol 90% +
35 etanol 80%; na proporção de 1:1:1). A absorvância das amostras foi registrada em 645 e 665 nm, para
36 avaliar as concentrações de clorofila *a* e clorofila *b*, que foram estimadas de acordo com as fórmulas (a) e
37 (b) descritas por Porra et al (1989).

1 $Chl a = 5,21 \times A665 - 2,07 A645$ (micrograma/poço)
 2 $Chl b = 9,29 \times A645 - 2,74 A665$ (micrograma/poço)

3 Trocas gasosas

4 A partir de um sistema portátil de fluxo de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR), foi estimado a
 5 taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática ao vapor de água (g_s), concentração
 6 intercelular de CO₂ (C_i), taxa de transpiração (E) e eficiência de carboxilação (A/C_i) sob uma concentração
 7 de externa de 400 μmol de fótons m^{-1} de CO₂ e radiação fotossinteticamente ativa artificial (PAR) de 1000
 8 μmol de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, as avaliações ocorreram entre às 10:00 e 12:00, a partir da análise preliminar de
 9 curva diurna de trocas gasosas para esta espécie, sob as condições ambientais e o período de análise. No
 10 momento da avaliação a temperatura do ar foi de $35 \pm 1^\circ\text{C}$, a umidade relativa do ar foi de $54 \pm 1\%$, radiação
 11 incidente foi de 384 ± 248 μmol de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e déficit de pressão de vapor do ar foi de $3,38 \pm 0,13$ KPa.

12 Fluorescência da clorofila a

13 Simultaneamente a avaliação de trocas gasosas, foi avaliada a fluorescência da clorofila a, usando
 14 uma câmara de fluorescência integrada ao sistema portátil de fluxo de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR,
 15 Lincoln NE), onde parte das folhas foram cobertas com papel alumínio de forma a impossibilitar a entrada
 16 de luz em determinada região, durante 20 minutos e posteriormente iluminadas com um pulso de luz fraca
 17 e modulada ($0,03 \text{ mol m}^{-2}$) a fim de obter o valor da fluorescência inicial (F_o) em seguida foi iluminada
 18 com um pulso de luz branca de $6000 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ durante 0,8 segundos a fim de obter a fluorescência máxima
 19 (F_m), por último as folhas foram iluminadas com luz actínia ($250 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$) para obter o rendimento da
 20 fluorescência no estado estacionário (F_s), para se obter a fluorescência inicial adaptada (F_o') desligou a luz
 21 actínia e iluminou a folha com um vermelho-distante ($2 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$), a partir desses parâmetros foi calculado,
 22 a atividade potencial do PSII [$F_v/F_o = (F_m - F_o)/F_o$], taxa de transferência de elétrons (ETR) e coeficiente
 23 de extinção fotoquímica [$qP = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_o)$], e não fotoquímica [$qN = 1 - qP$] (Castro et al 2020).

24 Análise estatística

25 Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias das variáveis morfológicas e
 26 bioquímicas foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), enquanto para as variáveis anatômicas
 27 foram comparadas pelo teste de Scoot-Knott ($p < 0,05$), além disso foi apresentado o desvio padrão junto
 28 com as medias de cada parâmetro, com auxílio do pacote R (R core team 2017).

29 RESULTADOS

30 Testes bioquímicos

31 Os testes bioquímicos in vitro (tabela 1), demonstraram a capacidade do isolado de *S. marcescens*
 32 em solubilizar fosfato e produzir ácido indolacético, enquanto *B. amyloliquefaciens* não apresentou
 33 atividade dentre os testes analisados. Os resultados para os testes bioquímicos envolvendo os isolados de *T.*
 34 *asperelum* foram descritos por Nascente et al (2017), onde todos os isolados apresentaram resposta positiva

1 para solubilização de fosfato, com destaque para os isolados de UFRA-12 e UFRA-52 que também foram
 2 descritos como produtores de AIA.

3 **Tabela 1:** Testes bioquímicos in vitro de isolados microbianos promotores de crescimento em plantas.

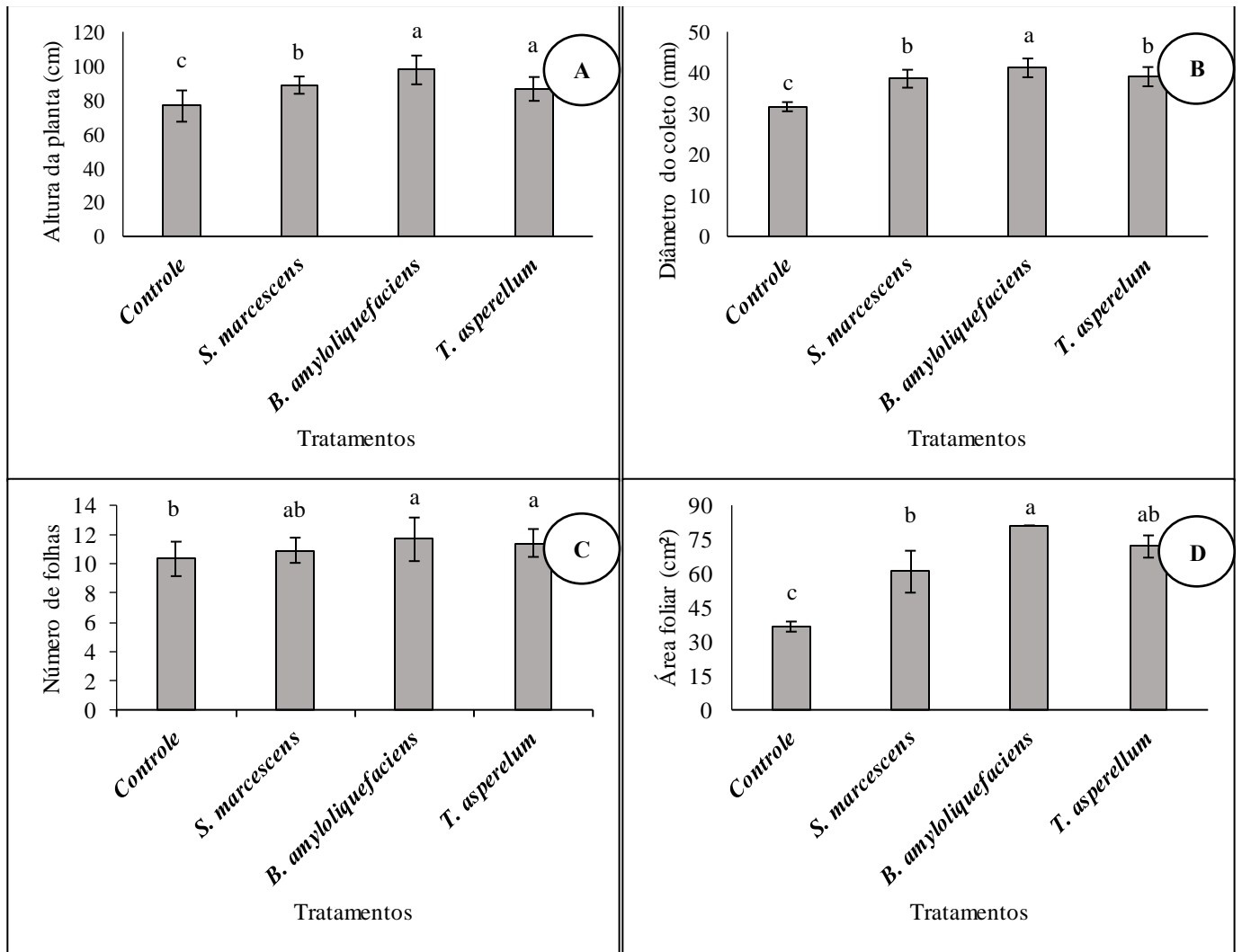
Microrganismo	Rizosfera	Solubilização de fosfato	Produção de sideróforos	Produção de AIA
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Dendê	-	-	-
<i>S. marcescens</i>	Arroz	+	-	+
<i>T. asperellum</i> (UFRA- 06)		+	Não descrito	-
<i>T. asperellum</i> (UFRA- 09)	Área de florestas nativas e reflorestadas	+	Não descrito	-
<i>T. asperellum</i> (UFRA- 12)		+	Não descrito	+
<i>T. asperellum</i> (UFRA- 52)		+	Não descrito	+

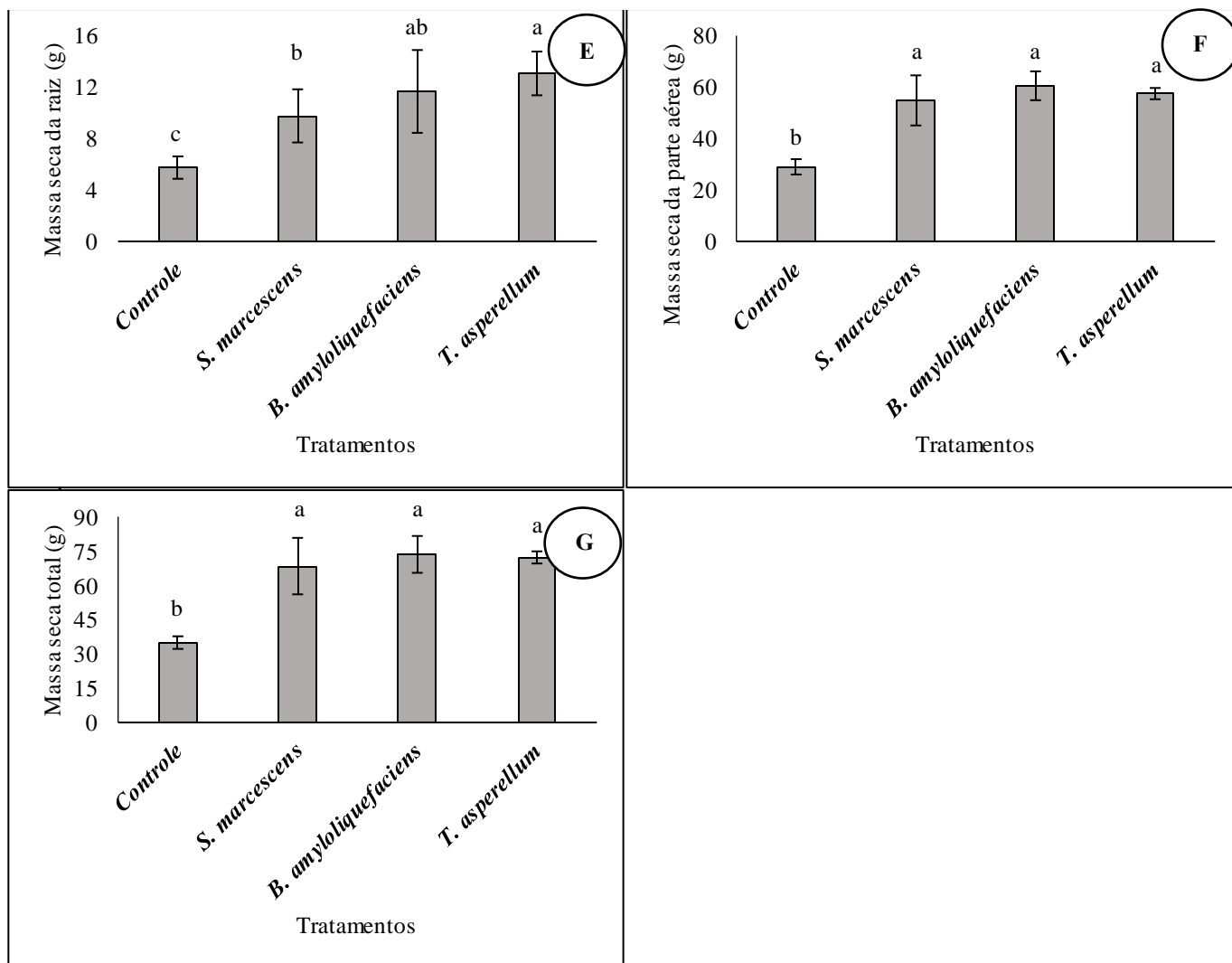
4 Morfometria e Biomassa

5 Todos os microrganismos induziram incrementos nos parâmetros de biometria e biomassa (figura
 6 1), variando entre 13 a 28% para altura, 22 a 30% para diâmetro do coleto, 66 a 121% para área foliar, 89
 7 a 109% para biomassa seca da parte aérea, 70 a 128% para biomassa seca da raiz e 96 a 110% para biomassa
 8 seca total, além disso, plantas tratadas com os isolados de *Bacillus amyloliquefaciens* e *T. asperellum*
 9 também induziram aumento no número de folhas em 13 e 11% respectivamente, conforme observado na
 10 figura 2.



11 **Fig1** Mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes em comparação
 12 ao controle (planta não inoculada)
 13

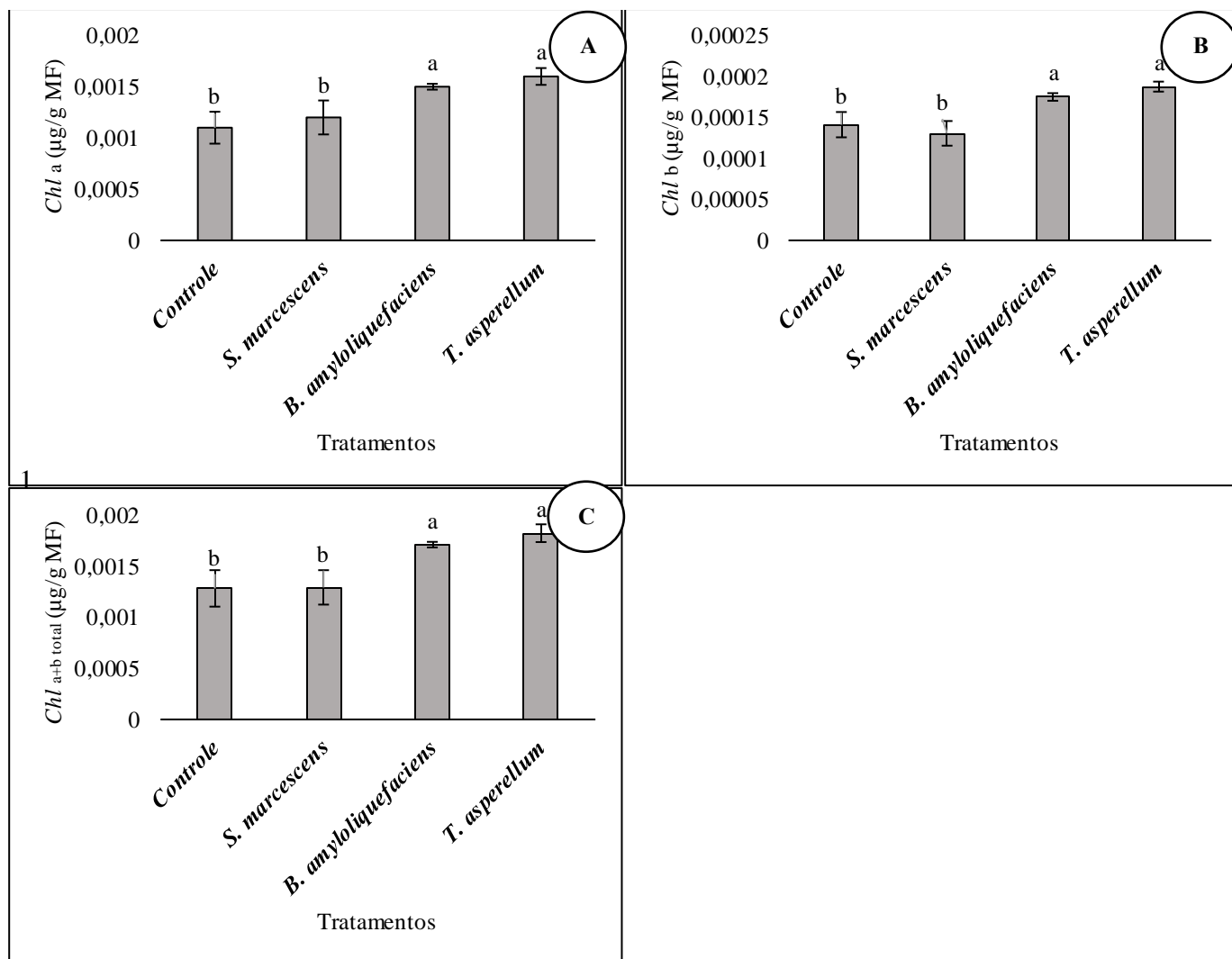




3 **Fig2** Morfometria em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com bioestimulantes.
 4 (A) Altura da planta, (B) diâmetro do coleto, (C) número de folhas, (D) área foliar, (E) massa seca da parte
 5 aérea, (F) massa seca da raiz e (G) massa seca total. Letras iguais indicam que não há diferença
 6 significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$)

7 Teor de pigmentos fotossintéticos

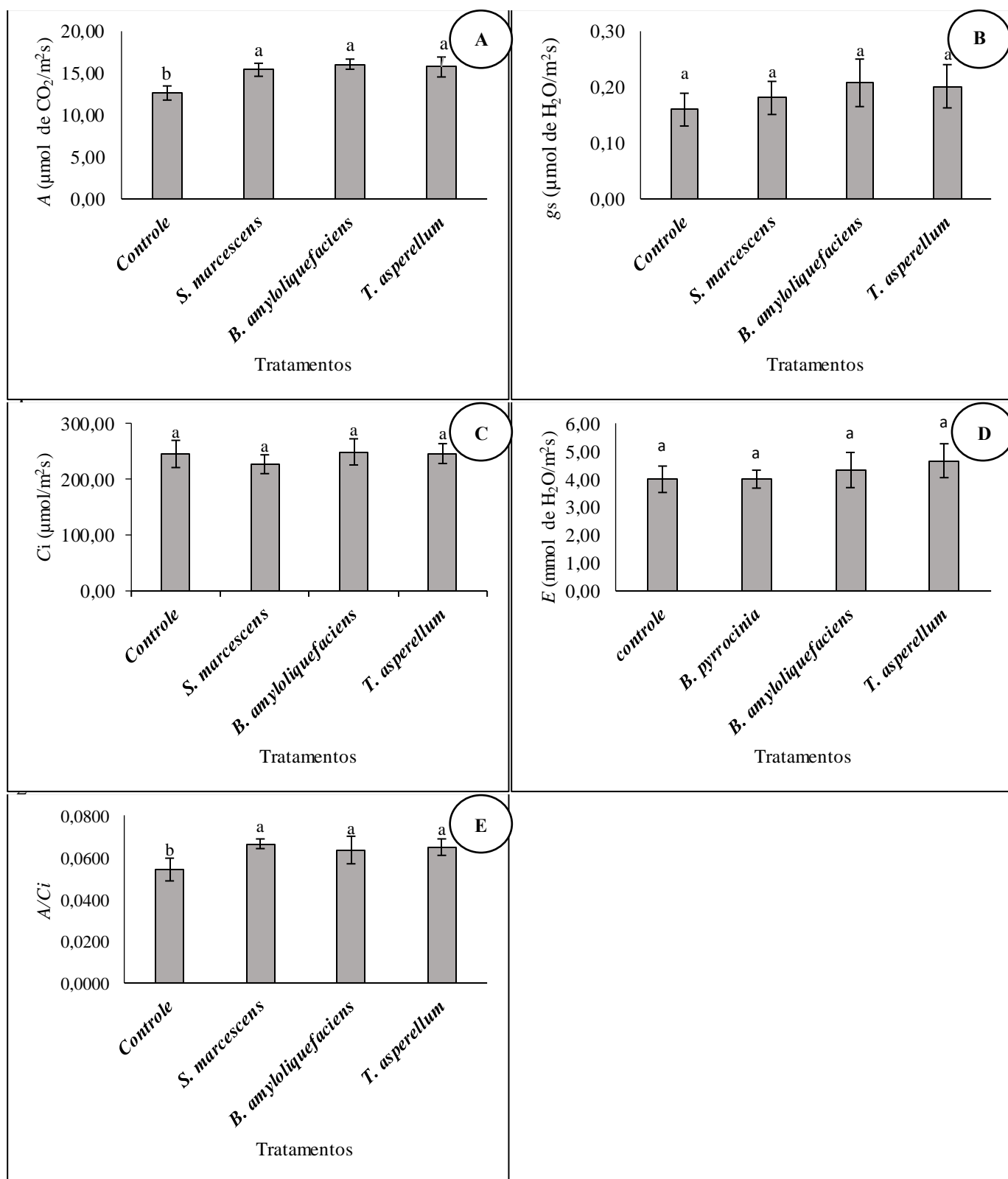
8 Foi observado o aumento no conteúdo de clorofila em mudas de dendezeiro tratadas com *Bacillus*.
 9 *amyloliquefaciens* e *T. asperellum* (figura 2a, 2b e 2c) que apresentaram alterações sobre a quantificação
 10 do teor de clorofila a clorofila b e clorofila total com incrementos médios de 41%, 29% e 38%
 11 respectivamente em relação ao tratamento controle.



3 **Fig 3** Quantificação de pigmentos fotossintéticos em folhas de mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses
 4 de idade inoculadas com bioestimulantes. (A) Teor de clorofila a, (B) Teor de clorofila b e (C) Teor de
 5 clorofilas totais. Letras iguais indicam que não há diferença significativamente pelo teste de Duncan
 6 ($P < 0,05$)

7 Trocas Gasosas

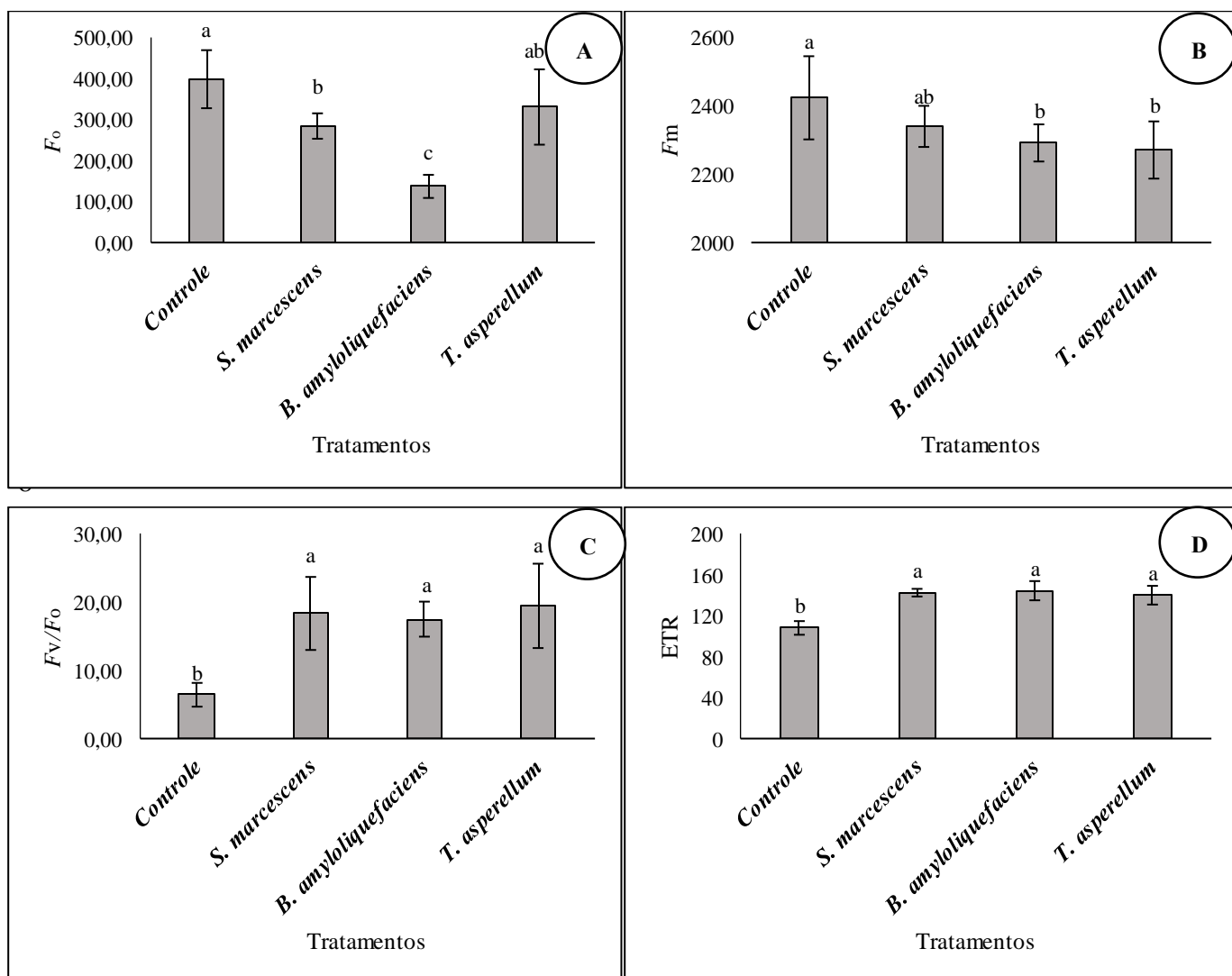
8 Os resultados para análise de trocas gasosas são apresentados na figura 3, onde foi observado o
 9 aumento de *A* em plantas tratadas com microrganismos, variando entre 18,17 e 25,91%, em relação as
 10 plantas controle, o que conseqüentemente pode ter influenciado no aumento de *A/Ci* que variou entre 15,23
 11 a 21,28%, e não houve distinção entre os tratamentos para as demais variáveis de trocas gasosas analisada.
 12 No entanto nota-se um pequeno incremento na *gs*.

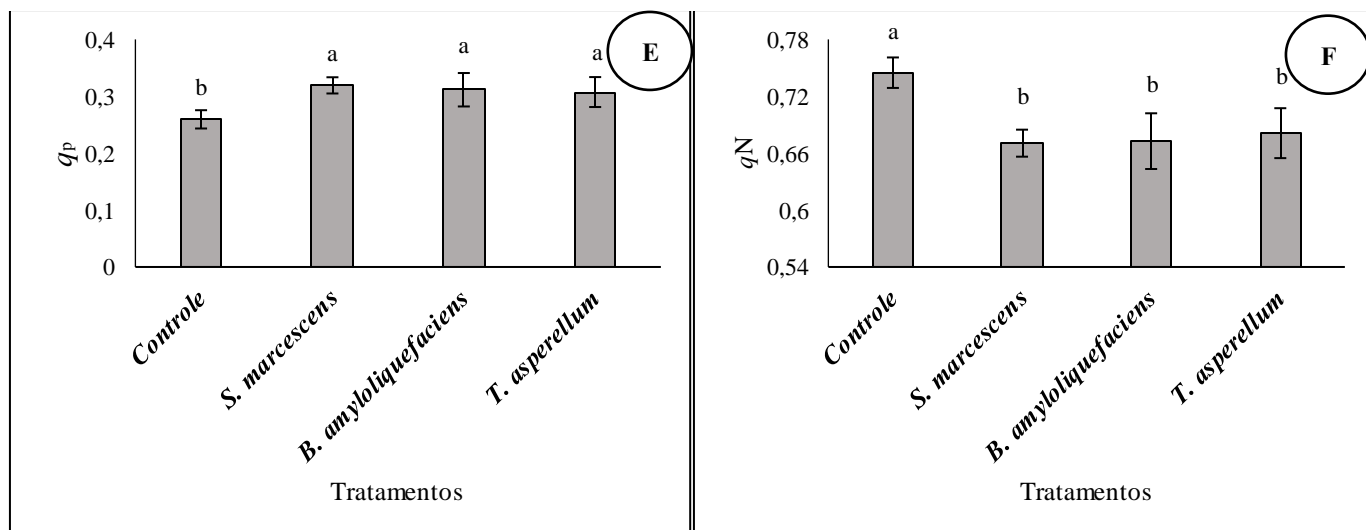


4 **Fig4** Trocas gasosas em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com
5 bioestimulantes. (A) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), (B) condutância estomática (gs), (C)
6 concentração intercelular de CO₂ (Ci), (D) transpiração (E) e (E) taxa de carboxilação da rubisco (A/Ci).
7 Letras iguais indicam que não há diferença significativamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

1 Fluorescência da Clorofila a

2 *S. marcescens* e *B. amyloliquefaciens* reduziram a F_o entre 32,57 e 65,67%, em relação ao
 3 tratamento controle enquanto *B. amyloliquefaciens* e *Trichoderma asperellum* reduziram a F_m entre 5,45 e
 4 6,30% respectivamente, em relação ao tratamento controle (figura 4a e 4b). Todos os microrganismos
 5 estimularam aumentos na F_v/F_o que variou entre 150,85 e 172,54%, (figura 4c) a ETR variou entre 29,56
 6 e 33,65% (figura 4d), o qP variou entre 19,23 e 23,07% (figura 4e), enquanto para o qN foi reduzido entre
 7 6,76 e 8,12% (figura 4f), em relação as mudas de dendezeiro não tratadas com microrganismos.





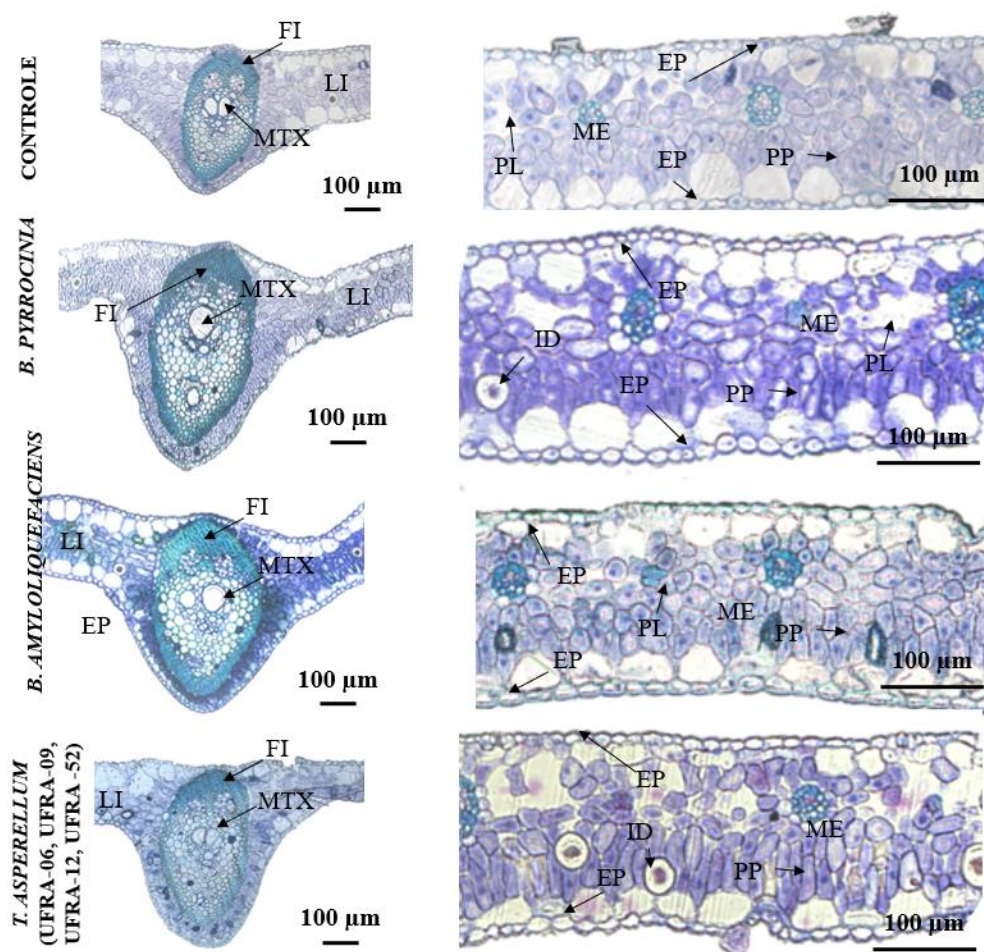
2 **Fig5** Fluorescência da clorofila a, em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com
 3 bioestimulantes. (A) Fluorescência inicial (Fo), (B) fluorescência máxima (Fm), (C) atividade potencial do
 4 fotossistema II (FV/Fo), (D) taxa de transferência de elétrons (ETR), (E) coeficiente de dissipação
 5 fotoquímica (qP) e (F) coeficiente de dissipação não-fotoquímica (qN). Médias seguidas por letras
 6 minúsculas iguais não diferem significativamente pelo teste de Duncan (P<0,05)

7 Anatomia Foliar

8 A folha de *Elaeis guineensis* apresenta epiderme uniestratificada, com estômatos do tipo
 9 tetracítico, ou seja, envolvido por quatro células subsidiárias, estes estômatos estão presentes nas faces
 10 abaxial e adaxial, sendo classificada em anfi-estomática, com a maioria dos estômatos presentes na face
 11 abaxial distribuído em fileira e disposto de forma irregular (CHIA, 2012).

12 No limbo foliar, o mesofilo é dorsiventral com a presença do parênquima paliçádico localizada
 13 abaixo da epiderme adaxial, sendo formado por células cloroplastídeas de formato alongado, dispostas
 14 regularmente, seguido do parênquima lacunoso, localizado a cima da epiderme abaxial, formado por células
 15 de formato arredondado ou irregular que formam lacunas destinadas à difusão de gases no interior da folha
 16 (figura 6). Além disso, observa-se a presença de uma camada de hipoderme próximas às faces de epiderme.
 17 Na nervura foliar, observa-se a presença dos feixes vasculares revestidos por células esclerenquimáticas,
 18 apresentando xilema voltado à face adaxial e grupos de floema à face abaxial, estas características foram
 19 também observadas em trabalho realizado por CHIA (2012).

20 Houve incrementos médios de 7,11% na espessura do limbo foliar, 11,96% do mesofilo, 29,80%
 21 do parênquima paliçádico e 78,94% no diâmetro dos elementos de vasos do metaxilema em mudas de
 22 dendezeiro tratadas com microrganismos, com destaque para os isolados bacterianos que também
 23 induziram aumento no número de elementos de vaso do metaxilema em 50%, em relação ao tratamento
 24 controle conforme observado na tabela 2.



1
2 **Fig6** Cortes anatômicos transversal em folhas de mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade
3 inoculadas com bioestimulantes. Fibra (FI), espessura do limbo foliar (LI), elementos de vaso do
4 metaxilema (MTX), epiderme (EP), mesofilo (ME), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso
5 (PL) e idioblasto (ID)

6 **Tabela 2:** Morfoanatomia foliar em mudas de *Elaeis guineensis* com seis meses de idade inoculadas com
7 bioestimulantes. Espessura do corte transversal do limbo foliar (LI), espessura do mesofilo (ME),
8 parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), número de elementos de vaso do metaxilema
9 (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vaso do metaxilema (DMTX).

Tratamentos	LI (µm)	ME (µm)	PP (µm)	PL (µm)	NMTX	DMTX
Controle	173,76 c	152,61 c	47,58 b	52,84 a	2,25 b	31,34 c
<i>S. marcescens</i>	204,86 a	176,30 a	64,40 a	59,71 a	3,25 a	59,94 a
<i>B. amyloliquefaciens</i>	184,49 b	163,24 b	61,83 a	53,64 a	3,5 a	55,29 b
<i>T. asperellum</i>	169,05 a	173,06 a	59,06 a	60,86 a	2,75 b	53,00 b
CV%	3,59	3,87	13,92	14,17	19,5	7,01

10 *Médias seguidas por letras minúsculas na coluna iguais não diferem significativamente pelo teste de Scott
11 Knott ($P < 0,05$).

12 DISCUSSÃO

13 A aplicação de bioestimulantes em dendezeiro, tem sido relatado em diversos trabalhos (Lima et
14 al 2020; Zakry et al 2019; Azri et al 2017; Om et al 2009), a inoculação destes microrganismos induziu
15 alterações morfoanatômicas positivas e melhoria na performance fotossintética, que contribuíram na
16 promoção de crescimento em mudas de dendezeiro.

1 Estes microrganismos atuam por meio de mecanismos de promoção de crescimento de forma
2 direta e ou indireta como a solubilização de nutrientes, produção de sideróforos, fixação de nitrogênio,
3 síntese e indução hormonal, indução de resistência sistêmica, produção de metabolitos, entre outros
4 (Benaissa 2019; Bader et al 2020; Leite et al 2022). O que contribui com a precocidade na formação de
5 mudas de dendzeiro em viveiro, com incrementos em altura, diâmetro do coleto, número de folhas e
6 biomassa, conforme apresentado neste estudo, resultados semelhantes foram observados em mudas de
7 palmeira como o açazeiro (Casto et al 2020) e o dendzeiro (Lima et al 2020).

8 O balanço hormonal de plantas inoculadas com bioestimulantes pode ser alterado devido a
9 produção direta de hormônios por parte do microrganismo, e ou pela regulação da biossíntese desses
10 hormônios (Van Loon 2007). Os isolados UFRA 12 e UFRA 52 de *T. asperellum*, foram caracterizados
11 como produtores de AIA (Nascente et al 2017). No presente estudo, *S. marcescens* foi também caracterizada
12 como produtora de AIA, no entanto apesar do isolado de *B. amyloliquefaciens* não apresentar esta
13 característica, este isolado pode ser responsável pela indução da síntese deste hormônio, visto que em
14 estudo descrito por Lima et al (2020), este mesmo isolado estimula o acúmulo de AIA em folhas de mudas
15 de dendzeiro.

16 Neste estudo, *S. marcescens* foi caracterizada como solubilizadora de fosfato, assim como os
17 isolados do pool de *T. asperellum* em estudo feito por Nascente et al (2017). Microrganismos
18 solubilizadores de fosfato excretam ácidos orgânicos como acético, fumarato, láctico, cítrico, oxálico, dentre
19 outros que reduzem o PH do solo e transformam os cátions ligados ao fósforo por meio de grupos hidroxila
20 e carboxila, liberando o fosfato na solução do solo na forma disponível para as plantas (Puri et al 2020;
21 Rawat et al 2020).

22 Nas plantas o fósforo contribui para o desenvolvimento radicular, fortalecimento do caule e está
23 envolvido em processos metabólicos relacionados à fotossíntese, respiração celular (glicólise) e atividades
24 enzimáticas, além de constituir em elemento estrutural da formação da membrana plasmática e da molécula
25 de adenosina trifosfato (ATP) envolvido na síntese de energia (Billah et al 2019).

26 Além de solubilizar nutrientes, esses microrganismos induzem a um maior desenvolvimento do
27 sistema radicular, permitindo uma maior eficácia na absorção de nutrientes no solo e dessa forma um maior
28 acúmulo de nutrientes em mudas de dendzeiro (Lima et al 2021). Em plantas de soja, a co-inoculação de
29 bacilos e levedura estimulou o aumento nutricional nas folhas e melhoria na eficiência da adubação (Leite
30 et al 2022), enquanto que em plantas de bananeira a aplicação com isolados de *T. asperellum*, mostrou se
31 economicamente viável, o que permitiu a redução no uso da adubação química em 50% da dose
32 recomendada (Mauês et al 2022).

33 Os resultados apresentados neste estudo demonstram o potencial da tecnologia microbiana na
34 promoção de crescimento em mudas de dendzeiro, que apresentaram incrementos biométricos e de
35 biomassa em relação às plantas não inoculadas. De forma similar Amir et al (2005) identificaram ganhos
36 em biomassa radicular e da parte aérea em mudas de dendzeiro inoculadas com *Bacillus* e *Azospirillum*.
37 O crescimento da parte aérea pode estar relacionado a indução de fitohormônios, como auxina, giberelina
38 e citocianina nas folhas de plantas bioestimuladas (Cardoso et al 2021; Asari et al 2017) e dessa forma
39 favorecer alterações fisiológicas e morfoanatômicas positivas ao crescimento de plantas (Gashash et al
40 2022; Lopes et al 2020; Rêgo et al 2014).

1 O aumento da biomassa em plantas bioestimuladas pode ser resultado da melhoria do desempenho
2 fotossintético (Rampazo et al 2018). A maior eficiência na taxa de assimilação líquida de CO₂, permite a
3 maior produção de foto assimilados, que podem ser distribuídos para outros órgãos da planta para atender
4 as diversas atividades metabólicas envolvidas no crescimento e defesa da planta (Castro et al 2019).

5 A taxa de assimilação líquida de CO₂ e de carboxilação da rubisco aumentaram em mudas de
6 dendezeiro tratadas com microrganismos, isto pode explicar a melhoria na eficiência do aparato
7 fotossintético em plantas bioestimuladas, visto que não houve diferenças sobre o grau de abertura
8 estomática, a transpiração e carbono intercelular que permanece o mesmo, porém as plantas conseguem
9 assimilar mais CO₂ para o processo fotossintético. Isto pode ser explicado devido a expressão de genes
10 associados a fotossíntese e a subunidades da rubisco que influenciam a atividade desta enzima e a eficiência
11 do PSII (Shoresh e Harman 2008).

12 A taxa de carboxilação da rubisco é uma importante variável usada para estimar a atividade da
13 desta enzima (Sousa et al 2021). A rubisco também conhecida por ribulose bifosfato carboxilase é uma
14 enzima responsável pela carboxilação do carboidrato ribulose 1,5-bisfosfato em duas moléculas de 3-
15 fosfoglicerato presentes no ciclo de Calvin na etapa bioquímica da fotossíntese (Castro 2019). Resultados
16 similares a este estudo foram encontrados em plantas bioestimuladas de arroz (Rêgo et al 2018) e em mudas
17 de coqueiro (Cardoso et al 2021).

18 O aumento da taxa de assimilação líquida de CO₂ em plantas bioestimuladas pode também está
19 relacionada aos incrementos no conteúdo de clorofilas, principalmente clorofila a como demonstrado nesse
20 estudo, que melhoram a eficiência da conversão de energia luminosa em energia química fornecida na
21 forma de ATP e NADPH gerados durante a fase fotoquímica da fotossíntese (Castro et al 2019).

22 A análise morfoanatômica demonstrou o espessamento do limbo foliar em plantas de dendezeiro
23 bioestimuladas, com incrementos de até 7% na espessura, o que favorece no aproveitamento de luz e água,
24 para o processo fotossintético, melhoria na absorção de energia luminosa aliado ao aumento no conteúdo
25 de clorofila e acessibilidade aos locais de carboxilação dos cloroplastos no interior das células, além da
26 menor perda de água e regulação da temperatura (Cardoso et al 2019; Paradiso et al 2017).

27 O espessamento do limbo foliar está diretamente relacionado ao crescimento do mesofilo, que é
28 uma região que compreende o parênquima paliçádico rico em células cloroplastídeas e o parênquima
29 lacunoso com células de formato irregular contando com lacunas onde circula o ar proveniente das trocas
30 gasosas mediada pela abertura e fechamento estomático (Apezzato da Gloria e Hayashi 2013).

31 Neste estudo, plantas tratadas com microrganismos promoveram aumento do mesofilo foliar e do
32 parênquima paliçádico. Resultados similares foram encontrados por Cardoso et al (2019) em que *P.*
33 *fluorescens* induziu o aumento na espessura do limbo foliar em plantas de alface, enquanto em plantas de
34 *Phaseolus vulgaris* o aumento do mesofilo proporcionado pela aplicação com de *P. fluorescens* ocorreu
35 principalmente por conta do espessamento do parênquima paliçádico (Boruah et al 2003). Para Larraburu
36 e Llorente (2015), o aumento dos tecidos de colênquima ocorre por conta da auxina produzida por estes
37 microrganismos que modifica o metabolismo da planta.

38 O espessamento do parênquima paliçádico induzido por microrganismos pode ocorrer por meio
39 da expansão celular ou pelo número de camadas celulares, e resulta no acúmulo de clorofilas, que permitem
40 a maior captação de fótons durante a etapa fotoquímica da fotossíntese (Paradiso et al 2017). Neste estudo

1 a inoculação com *B. amyloliquefaciens* e *T. asperellum* induziu acúmulo de clorofilas a e b em mudas de
2 dendezeiro, o que contribui na maior capacidade de absorção de energia luminosa (Castro et al 2019).
3 Resultados similares foram encontrados por Omer et al (2023), onde a aplicação com diferentes
4 microrganismos em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) promoveram aumentos do teor de
5 clorofila a e clorofila b.

6 Moléculas de clorofila são pigmentos fotossintetizante, com função na absorção de energia
7 luminosa a partir de sistemas chamado de complexo antena e transporte de elétrons para os centros de
8 reação (Kerbaui 2004; Zhang et al 2017). Ao absorver energia luminosa as moléculas de clorofila
9 modificam temporariamente as configurações eletrônicas passando do estado basal para o excitado em
10 aproximadamente 10^{-8} segundos, a energia dissipada durante este processo pode ocorrer de três diferentes
11 formas: dissipação fotoquímica, dissipação não-fotoquímica e fluorescência (Campostrine 2001).

12 A eficiência de aproveitamento da energia luminosa em energia química no processo fotossintético
13 pode ser entendida pelos parâmetros de fluorescência da clorofila a, podendo complementar com o aumento
14 da taxa fotossintética induzida por microrganismos (Baker 2008). Neste trabalho, mudas de dendezeiro
15 inoculadas com microrganismo apresentaram redução nas fluorescências inicial e máxima, o que indica
16 uma menor perda de energia por fluorescência em plantas bioestimuladas. Resultados similares foram
17 encontrados por Castro et al (2019) em mudas de açaizeiro bioestimuladas.

18 Neste trabalho, todos os isolados testados estimularam aumentos na atividade potencial do
19 fotossistema II (PSII), taxa de transporte de elétrons e dissipação fotoquímica. Resultados similares foram
20 encontrados por Samaniego-Gámez et al (2016) em plantas de pimenteira inoculadas com bacillus. A taxa
21 de transporte de elétrons, corresponde à quantidade de elétrons transportados do PSII ao PSI (Apichatmeta
22 et al 2017). Enquanto a dissipação fotoquímica corresponde ao processo de uso da energia luminosa para a
23 fase fotoquímica da fotossíntese, onde a energia dissipada garante o poder redutor e a síntese de ATP, que
24 será usado na fase bioquímica da fotossíntese (Campostrini 2001).

25 O aumento na taxa de transporte de elétrons e no coeficiente de dissipação fotoquímica são
26 resultantes da melhoria na eficiência dos PSI e PSII em plantas bioestimuladas e contribuem para a redução
27 do coeficiente de dissipação não fotoquímica (Castro et al 2019).

28 Todos os microrganismos estimularam aumento no diâmetro dos elementos de vaso do
29 metaxilema, com destaque para *B. amyloliquefaciens* e *S. marcescens* que promoveram maiores quantidades
30 destes vasos às plantas bioestimuladas. Esses ganhos podem contribuir para o aumento da área vascular e
31 nervura foliar e favorecer a condutividade hidráulica e de nutrientes para a folha (Lopes et al 2020). O
32 aumento no diâmetro destes elementos de vasos contribui com o maior desenvolvimento da espessura da
33 nervura foliar e estão relacionadas às mudanças nos tecidos do limbo foliar (Gashash et al 2022).

34 O aprimoramento da tecnologia microbiana de MPCPs voltado para uma agricultura sustentável
35 contribui na fertilidade do solo, tolerância das plantas à fatores limitantes, manutenção do ciclo de
36 nutrientes e produtividade da cultura, com isso, estudos voltados à seleção e cultivo de isolados promissores
37 atrelado às pesquisas multidisciplinares contribuem para o entendimento nas diferentes abordagens
38 biológicas, ecológicas e funcionais com o foco para o fornecimento de futuras formulações (Gouda et al
39 2018).

1 CONCLUSÃO

2 *Bacillus amyloliquefaciens*, *Serratia marcescense* *T. asperellum*, induziram alterações
3 morfoanatômicas positivas e funcionais em mudas de dendezeiro por meio do espessamento dos tecidos
4 foliares de limbo, mesofilo e parênquima paliçádico, que contribuiu diretamente para o acúmulo de
5 clorofilas e melhoria na fluorescência da clorofila a. O acúmulo de CO₂ em plantas de dendezeiro
6 bioestimuladas pode estar associado à maior atividade da rubisco, que permitiu a maior fixação de CO₂ e
7 conversão em biomassa seca, além disso, foi demonstrado o aumento do diâmetro dos elementos de vaso de
8 metaxilema que pode contribuir no aumento da condutividade hidráulica e de nutrientes para a planta.

9 REFERÊNCIA

- 10 Alexandru M, Lazar D, Ene M, Sesan TE (2013) Influence of some Trichoderma species on photosynthesis
11 intensity and pigments in tomatoes. Romanian biotechnological letters. 18:8499-8510.
12 https://www.researchgate.net/publication/287246157_Influence_of_some_Trichoderma_species_on_photosynthesis_intensity_and_pigments_in_tomatoes
13 https://www.researchgate.net/publication/287246157_Influence_of_some_Trichoderma_species_on_photosynthesis_intensity_and_pigments_in_tomatoes
14 Amir HG, Shamsuddin ZH, Halimi MS, Marziah M, Ramlan MF (2005) Enhancement in nutrient
15 accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions.
16 Communications in soil Science and plant analysis. 36:2059-2066. DOI:[10.1080/00103620500194270](https://doi.org/10.1080/00103620500194270).
17 Apichatmeta K, Sudsiri C, Ritchie RJ (2017) Photosynthesis of oil palm. Scientia horticulturae. 214:34-
18 40. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.013>.
19 Appezzato da Gloria B, Hayashi AH. Raiz in: Appezzato da Gloria B, Guerrero, SMC. 2013. Anatomia
20 vegetal. 3° edn. Viçosa-MG, ed UFV. 265-282.
21 Asari A, Tarkowska D, Rolcik J, Novák O, Palmero DV, Bejai S, Meijer J (2017) Analysis of plant growth-
22 promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant.
23 Planta. 245:15-30. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>
24 Azri MH, Ismail S, Abdullah R (2018) An endophytic Bacillus strains promotes growth of oil palm
25 seedlings by fine root biofilm formation. Rhizosphere. 05:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.10.003>
26 Bader NA, Salerno GL, Covacevich F, Consolo VF (2020) Native *Trichoderma harzianum* strains from
27 Argentina produced indole-3 acetic and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease
28 on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of king saud university- Science. 32:867-873.
29 <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.04.002>.
30 Baker NR (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. Annual review of plant
31 biology. 59:89-113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>
32 Barcelos E, Rodrigues MRL, Dos Santos JÁ, Cunha RN (2001) Produção de mudas de dendezeiro na
33 Amazônia. 12p. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/670071>.
34 Benaissa A. (2019) Plant growth promoting rhizobacteria a review. Algerian journal of environmental
35 Science and technology. 5:873-880. <https://www.aljest.net/index.php/aljest/article/view/39>.
36 Billah M, Khan M, Bano A, Hassan TU, Munir A, Gurmani AR (2019) Phosphorus and phosphate
37 solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. Geomicrobiology journal. 36:904-916.
38 <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1654043>.
39 Brazilio M, Bistachio NJ, Perina VCS, Nascimento DD (2012) Revisão: O dendezeiro (*Elaeis guineensis*
40 Jacq.). Bioenergia em revistas: diálogos. 2:27-45.
41 <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/51>
42 Benicasa MMP (1988). Análise de crescimento de plantas: Noções básicas. 41p.
43 Boruah HPD, Rabha BK, Saikia N, Kumar, BSD (2003) *Fluorescent Pseudomonas* influences palisade
44 mesophyll development and spatial root development in *Phaseolus vulgaris*. Plant and soil. 256:291-301.
45 <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1026197300684>
46 Campostrini E (2001) Fluorescência da clorofila a: Considerações teóricas e aplicações práticas. Rio de
47 janeiro- RJ.
48 Cardoso AF, Alves EC, Costa AS, Moraes AJG, Silva Júnior DD, Lins PMP, Silva GB (2021) *Bacillus*
49 *cereus* improves performance of brazilian green dwarf coconut palms seedlings with reduced Chemical
50 fertilization. Frontiers in plant Science. 12:1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649487>.
51 Cardoso AF, Rêgo MCF, Batista TFV, Viana RG, Lins ALFA, Silva GB (2019) Morphoanatomy and
52 chlorophyll of lettuce plants induced by rhizobacteria. Journal of agricultural studies. 7:196-211.
53 <https://doi.org/10.5296/jas.v7i4.15218>.

- 1 Castro GLS, Da Silva Júnior DD, Viana RG, Rêgo MCF, Silva GB (2019) Photosynthetic apparatus
2 protection and drought effect mitigation in açai palm seedlings by rhizobacteria. *Acta Physiologiae*
3 *Plantarum*. 41:1-16. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2952-4>
- 4 Castro GLS, Rêgo MCF, Silvestre WVD, Batista TFV, Silva GB (2020) Açai palm seedling promotion by
5 rhizobacteria inoculation. *Brazilian Journal Microbiology*. 51:205-216p. [https://doi.org/10.1007/s42770-](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
6 [019-00159-2](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
- 7 Chia GS. 2012. Caracterização morfofisiológica e anatômica de folhas de dendezeiro (*Elaeis guineensis*
8 Jacq.), de caiaué (*E. oleifera* (Kunth) Cortés) e híbrido interespecífico (*E. guineensis* x *E. oleifera*) nas
9 condições da Amazônia central. Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM. 104 p.
- 10 Filippi MCC, Silva GB, Silva-Lobo VL (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth
11 promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. *Biological control*. 58:160-321.
12 <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>
- 13 Gashash EA, Osman NA, Alsahli AA, Hewait HM, Ashmawi AE, Alshallash KS, El-Taher AM, Azab E
14 S, Abd El-Raouf HS, Ibrahim MFM (2022) Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and
15 cyanobacteria on botanical characteristics of tomato (*Solanum lycopersicon* L.) plants. *Plants*. 11:1-16.
16 <https://doi.org/10.3390/plants11202732>.
- 17 Glick BR (2012) Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*. 2012:1-15.
18 <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>
- 19 Gomes Junior RA, et al (2010) Bases técnicas para a cultura da palma de óleo integrado na unidade
20 produtiva da agricultura familiar. Embrapa Amazônia oriental. Belém-PA. 190p.
- 21 Gordon AS, Weber RP (1951) Colorimetric estimation of indole-3-acetic acid. *Plant physiology*. 26:1-192.
22 [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90514-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90514-5).
- 23 Gouda S, Kerry RG, Das C, Paramithiotis S, Shin HS, Patra JK (2018) Revitalization of plant growth
24 promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological research*. 206:131-
25 140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016>.
- 26 Harman GE, Doni F, Khadka RB, Uphoff N (2019) Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants
27 photosynthetic capability. *Journal of applied microbiology*. 130:529-546.
28 <https://doi.org/10.1111/jam.14368>
- 29 Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. Bombay, tata McGraw-hill, 532.
- 30 Kado CL, Heskett MG (1970) Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*,
31 *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*. 60:969-976.
32 [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1970Articles/Phyto60n06_96](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1970Articles/Phyto60n06_969.pdf)
33 [9.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1970Articles/Phyto60n06_969.pdf)
- 34 Kerbauy GB (2004) *Fisiologia vegetal*. 3ªed. 452.
- 35 Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A (1966) Determinação da umidade do solo pelo método
36 das pesagens. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*. 23:16-30.
37 <https://doi.org/10.1590/S0071-12761966000100003>.
- 38 Larraburu EE, Llorente, BE (2015) Anatomical changes induced by *azospirillum brasilense* in vitro rooting
39 of pink lapacho. *Plant cell tissue organ cult*. 122:175-184. DOI 10.1007/s11240-015-0759-6
- 40 Leite RC, Pereira YC, Paiva CAO, Moraes AJG, Silva GB (2022) Increase in yield, leaf nutrient, and
41 profitability of soybean co-inoculated with bacillus strains and arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista*
42 *brasileira de ciências do solo*. 46:1-20. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20220007>.
- 43 Lima JV Tinôco RS, Olivares FL, Moraes AJG, Chia GS, Silva GB (2020) Hormonal imbalance triggered
44 by rhizobacteria enhances nutrient use efficiency and biomass in oil palm. *Scientia Horticulturae*.
45 264:109161p. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- 46 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, Chia GD, Melo Júnior JAG, Silva GB (2021) Rhizobacteria modify root
47 architecture and improve nutrient uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. *Rhizosphere*.
48 19:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100420>.
- 49 Lopes MJS, Dias-Filho MB, Castro THR, Silva EF, Rêgo MCF, Silva GB (2020) Impacts of plant growth-
50 promoting rhizobacteria on tropical forage grass in Brazil. *Journal of agricultural studies*. 8:2166-0379.
51 <https://doi.org/10.5296/jas.v8i1.16077>
- 52 Mafía RG, Alfenas AC, Maffia LA, Ferreira EM, Binoti DHB, Siqueira L (2009) Microbiolização e
53 interação entre rizobactérias promotoras de crescimento e clone de eucalipto. *Revista árvore*. 33:789-797.
54 <https://www.scielo.br/j/rarv/a/cFbng8QnZT3KpTsL7xBqRfh/?format=pdf&lang=pt>
- 55 Marques DM, Magalhães PC, Marriel IE, Gomes Junior CC, Silva AB, Souza TC (2021) Gas Exchange,
56 root morphology and nutrients in maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* cultivated under
57 two water conditions. *Agriculture, agribusiness and biotechnology*. 64:1-11. [https://doi.org/10.1590/1678-](https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190580)
58 [4324-2021190580](https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190580).
- 59 Marques JPR, Soares MKM (2021) *Manual de técnicas aplicadas à histopatologia vegetal*. Piracicaba- SP.
60 Ed: Fealq.140 p.

- 1 Mauês TMS, Costa RRS, Santos MAS, Silva GB (2022) Agroecoeconomic performance of banana tree under
2 nutritional management with *Trichoderma asperellum*, in a Family production system. Agriculture and
3 food. 7:297-311. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2022019>
- 4 Mauri J, Pereira DL, Silva GA, Davide LC, Techio VH, Sobrinho FS, Pereira FJ (2019) Forage potential
5 of Urochloa genotypes by using leaf anatomy. Ciência Rural. 49:1-8p. [http://dx.doi.org/10.1590/0103-](http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170266)
6 [8478cr20170266](http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170266).
- 7 Nascente AS, Filippi MCC, Lanna AC, Souza ACA, Lobo VLS, Silva GB (2017) Biomass, gas exchange,
8 and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth
9 promoters. Environmental Science and Pollution Research. 24:2956-2965. [https://doi.org/10.1007/s11356-](https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2)
10 [016-8013-2](https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2)
- 11 Nautiyal CS (1999) An efficient microbiological growth médium for screening phosphate solubilizing
12 microorganisms. FEMS microbiology letters. 170:265-270. [https://doi.org/10.1111/j.1574-](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x)
13 [6968.1999.tb13383.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x)
- 14 Olanrewaju OS, Glick BR, Babalola OO (2017) Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria.
15 World journal of microbiology and biotechnology. 33:1-16. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- 16 Om AC, Ghazali AHA, Keng CL, Ishark Z (2009) Microbial inoculation improves growth of palm plants
17 (*Elaeis guineensis* Jacq.). Tropical Life Sciences Research. 20:71-77.
18 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3819059>.
- 19 Omer RM, Hewait HM, Mady E, Yousif SKM, Gahash EA, Randhir R, Ashmawi AE, El-Taher AM, Al-
20 Harbi NA (2023) Chemical, anatomical, and productivity response of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) to
21 integrated biofertilizer applications with PGPR, cyanobacteria, and yeast. Sustainability. 15:1-21.
22 <https://doi.org/10.3390/su15097599>
- 23 Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE (1989) Determination of accurate extinction coefficients and
24 simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification
25 of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochimica et biophysica
26 acta (BBA)-Bioenergetics. 975: 384–394. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0)
- 27 Paradiso R, Arena C, Micco V, Giordano M, Aronne G, Pascale S (2017) Changes in leaf anatomical traits
28 enhanced photosynthetic activity of soybean grown in hydroponics with plant growth-promoting
29 microorganisms. Frontiers in plant science. 08:1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00674>
- 30 Puri A, Padda KP, Chanway CP (2020) In vitro and in vivo analyses of plant-growth-promoting potential
31 of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. Applied soil ecology.
32 149:1-15. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929139319314829>.
- 33 R core team (2017) R a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical
34 computing. <https://www.R-project.org/>.
- 35 Rampazo PE, Marcos FCC, Cipriano MAP, Marchiori PER, Freitas SS, Machado EC, Nascimento LC,
36 Brochi M, Ribeiro RV (2018). Rhizobacteria improve sugarcane growth and photosynthesis under well-
37 watered conditions. Annals of Applied. 245-397. <https://doi.org/10.1111/aab.12421>.
- 38 Rawat P, Das S, Shankhdhar D, Shankhdhar SC (2020) Phosphate-solubilizing microorganisms:
39 Mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. Journal of soil Science and plant nutrition.
40 21:49-68. <https://link.springer.com/article/10.1007/s42729-020-00342-7>
- 41 Rêgo MCF, Borges FI, Filippi MCC, Gonçalves LA, Silva GB (2014) Morphoanatomical and biochemical
42 changes in the roots of rice plant induced by plant growth-promoting microorganisms. Journal of Botany.
43 2014:1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/818797>
- 44 Rêgo MCF, Cardoso AF, Ferreira TC, Filippi MCC, Batista TFV, Viana RG, Silva GB (2018) The role of
45 rhizobacteria I rice plants: Growth and mitigation of toxicity. Journal of Integrative Agriculture. 17:2636-
46 2647. doi: 10.1016/S2095-3119(18)62039-8
- 47 Samaniego-Gómez BY, Garruña R, Tun-Suárez JM, Kantu-Can J, Reyes-Ramírez A, Crevantes-Díaz L
48 (2016) *Bacillus spp.* inoculation improves photosystem II efficiency and enhances photosynthesis in pepper
49 plants. Chilean journal of agricultural research. 76:409-416. [http://dx.doi.org/10.4067/S0718-](http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392016000400003)
50 [58392016000400003](http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392016000400003)
- 51 Sedap. 2020. Dados Agropecuários: Dendê. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário e da
52 Pesca. <http://www.sedap.pa.gov.br/dados-agropecuarios/agropecuaria>.
- 53 Schwyn B, Neilands JB (1987) Universal chemical assay for the detection and determination of
54 siderophores. Analytical biochemistry. 160:47–56. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90612-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90612-9).
- 55 Shores M, Harman GE (2008) The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma*
56 *harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. Plant Physiology. 147:2147-2163.
57 <https://doi.org/10.1104/pp.108.123810>.
- 58 Sousa IMS, Nascente AS, Filippi MCC, Lanna AC (2021) *Trichoderma asperellum* and rhizobacteria
59 improving biomass accumulation and gas exchange of lowland rice. Colloquium Agrariae. 17:67-76. doi:
60 10.5747/ca.2021.v17.n2.a431

- 1 Sousa TP, Chaibub AA, Silva GB, Filippi MCC (2020) *Trichoderma asperellum* modulates defense genes
2 and potentiates gas exchanges in uplands rice changes. *Physiological and plant molecular plant pathology*.
3 112: 101561p. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2020.101561>.
- 4 Souza Junior MT, Alves AA, Sousa CAF, Siqueira FG, Formighieri EF, Capdeville G, Abdelnur PV,
5 Mendonça S (2017) Programa de PD&L em ômica de palma de óleo (*Elaeis spp.*) na Embrapa Agroenergia.
6 Embrapa Agroenergia. Brasília-DF. 41p.
7 <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/173812/1/DOC-28-CNPAE.pdf>.
- 8 Van Loon LC. (2007) Plant response to plant growth-promoting rhizobacteria. New perspective and
9 approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research. 119:243-254p. DOI 10.1007/s10658-007-
10 9165-1
- 11 Zakry FAA, Ammal P, Malahubban M, Faridah AR, Umar AHM (2019) Selecting the most effective plant
12 growth-promoting bacteria from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) roots. *Journal of Bangladesh agricultural*
13 *university*. 17:344-348. <https://doi.org/10.3329/jbau.v17i3.43208>.
- 14 Zhang K, Liu Z, Shan X, Li C, Tang X, Chi M, Feng H (2017) Physiological properties and chlorophyll
15 biosynthesis in a Pak-choi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) yellow leaf mutant, pylm. *Acta Physiologiae*
16 *Plantarum*. 3
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28

Capítulo 2: ANATOMIA E CRESCIMENTO RADICULAR EM MUDAS DE *ELAEIS*
GUINEENSIS INOCULADAS COM *TRICHODERMA* SPP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1		
2		
3	Fig 1 Mudanças de <i>Elaeis guineensis</i> (doze meses de idade) inoculadas com isolados de	
4	<i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos controles positivo e negativo Erro!	Indicador
5	não definido.	
6	Fig 2 Raízes de mudas de <i>Elaeis guineensis</i> (doze meses de idade) inoculadas com	
7	isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos controles positivo e negativo	Erro!
8	Indicador não definido.	
9	Fig 3: Área superficial da raiz de mudas de <i>Elaeis guineensis</i> (doze meses de idade)	
10	inoculadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos controles positivo e	
11	negativo.....	52
12	Fig 4: Volume radicular de mudas de <i>Elaeis guineensis</i> (doze meses de idade) inoculadas	
13	com isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos controles positivo e negativo .	53
14	Fig 5 Corte transversal em raízes laterais de primeira ordem (a, b, c, d, e, f, g e h) e raízes	
15	laterais de segunda ordem (i, j, k, l, m, n, o e p) de mudas de <i>Elaeis guineensis</i> (doze	
16	meses de idade) inoculadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos	
17	controles positivo e negativo	55
18	Fig 6: corte transversal em raízes laterais de primeira ordem (a, b, c, d, e, f, g e h) e raízes	
19	laterais de segunda ordem (i, j, k, l, m, n, o e p) de mudas de <i>Elaeis guineensis</i> (doze	
20	meses de idade) inoculadas com isolados de <i>Trichoderma</i> spp. em comparação aos	
21	controles positivo e negativo	56
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Morfometria em mudas de dendezeiro (12 meses de idade) inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. C- (plantas não inoculadas com 50 % da adubação recomendada), C+ (plantas não inoculadas com 100 % da adubação recomendada), FT-02 (plantas inoculadas com o isolado de FT-02, com 50 % da adubação recomendada) e *T. asperellum* (plantas inoculadas com o pool de quatro isolados de *T. asperellum* UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52, com 50 % da adubação recomendada). Altura da planta (AP), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e índice de qualidade de Dickson (IQD). 50

Tabela 2: Morfoanatomia de raízes laterais de primeira ordem em mudas de dendezeiro (12 meses de idade) inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. C- (plantas não inoculadas com 50 % da adubação recomendada), C+ (plantas não inoculadas com 100 % da adubação recomendada), FT-02 (plantas inoculadas com o isolado de FT-02, com 50 % da adubação recomendada) e *T. asperellum* (plantas inoculadas com o pool de quatro isolados de *T. asperellum* UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52, com 50 % da adubação recomendada). Diâmetro da raiz (DR), Espessura do córtex (CO), diâmetro médio do cilindro vascular (CV), endoderme (EN), periciclo (PE), número de elementos de vasos do metaxilema (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vasos do metaxilema (DMTX). 53

Tabela 3: Morfoanatomia de raízes laterais de segunda ordem em mudas de dendezeiro (12 meses de idade) inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. Diâmetro da raiz (DR), Espessura do córtex (CO), diâmetro médio do cilindro vascular (CV), endoderme (EN), periciclo (PE,) número de elementos de vasos do metaxilema (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vasos do metaxilema (DMTX). 54

1

2

3

LISTA DE ABREVIATURAS

4	AP	Altura da planta
5	B	Boro
6	BDA	Batata, dextrose e ágar
7	C	Carbono
8	C-	Controle negativo
9	C+	Controle positivo
10	Ca	Cálcio
11	CaCl ₂	Cloreto de cálcio
12	CO	Córtex
13	Cu	Cobre
14	CV	Cilindro vascular
15	DC	Diâmetro do coleto
16	DR	Diâmetro da raiz
17	EN	Endoderme
18	EX	Exoderme
19	FAA	Formaldeído, ácido acético e álcool
20	Fe	Ferro
21	IQD	Índice de qualidade de Dickson
22	K	Potássio
23	MAP	Fosfato monoamônico
24	Mg	Magnésio
25	Mn	Manganês
26	MSPA	Massa seca da parte aérea
27	MSR	Massa seca da raiz
28	MST	Massa seca total
29	MTX	Metaxilema
30	NF	Número de folhas
31	NH ₄ NO ₃	Nitrato de amônio
32	P	Fósforo
33	PE	Periciclo

1 S Enxofre

2 Zn Zinco

3 ANATOMIA E CRESCIMENTO RADICULAR EM MUDAS DE *ELAEIS GUINEENSIS* INOCULADAS
4 COM *TRICHODERMA* SPP.*

5 *Artigo 2- Normas da revista TREES: Structure and function

6 RESUMO

7 O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações anatômicas e morfológicas em raízes de mudas de
8 dendezeiro induzida pela inoculação com isolados de *Trichoderma* spp. Foi realizado um delineamento
9 inteiramente casualizado com cinco repetições e quatro tratamentos: controle positivo C+ (mudas não
10 inoculadas, com 100% da adubação recomendada), controle negativo C- (mudas não inoculadas com 50%
11 da adubação recomendada), FT-02 (mudas inoculadas com o isolado FT-02 de *Trichoderma*) e Pool de
12 *Trichoderma asperellum* (mudas inoculadas com um pool com quatro isolados de *T. asperellum*- UFRA-
13 06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52), as mudas inoculadas foram adubadas com 50% da quantidade
14 recomendada. Aos doze meses de idade as plantas foram avaliadas quanto aos parâmetros relacionados a
15 anatomia e crescimento do sistema radicular. Estes microrganismos promoveram crescimento em altura,
16 número de folhas, diâmetro do coleto e biomassa, com relação aos controles positivo e negativo, com
17 destaque ao isolado de FT-02 que estimulou o aumento da área superficial da raiz e do volume radicular
18 com relação aos controles. Anatomicamente as raízes de dendezeiro inoculadas com estes fungos
19 apresentaram aumento no diâmetro radicular, espessamento do córtex, cilindro vascular, da endoderme,
20 periciclo e aumento no número e diâmetro dos elementos de vasos do metaxilema em raízes laterais de
21 primeira e segunda ordem, quando comparadas com plantas não inoculadas. Desta forma, *Trichoderma* spp.
22 induziram alterações morfoanatômicas radiculares em mudas de dendezeiro, que contribui com o
23 crescimento radicular e da parte aérea. A partir do uso destes microrganismos é possível reduzir o uso de
24 fertilizantes em fase de viveiro de mudas.

25 Palavras chaves: Raiz, dendezeiro, fungo, bioestimulantes, morfoanatomia.

26 ABSTRACT

27 The objective of this study was to evaluate the anatomical and morphological changes in roots oil palm
28 seedlings induced by inoculation with isolates of *Trichoderma* spp. A completely randomized design was
29 carried out with five replications and four treatments: Positive control C+ (seedlings not inoculated, with
30 100% of the recommended fertilization), negative control C- (seedlings not inoculated with 50% of
31 recommended fertilization), FT-02 (seedlings inoculated with the *Trichoderma* isolate FT-02) and
32 *Trichoderma asperellum* pool (seedlings inoculated with a pool with four *T. asperellum* isolates- UFRA-
33 06, UFRA-09, UFRA-12 and UFRA-52), the inoculated seedlings were fertilized with 50% of the
34 recommended amount. At twelve months of age, the plants were evaluated for parameters related to the

1 anatomy and growth of the root system. These microorganisms promoted growth in height, number of
2 leaves, stem diameter and biomass, in relation to the positive and negative controls, with emphasis on the
3 FT-02 isolate, which stimulated an increase area of the root and root volume in relation to the controls.
4 Anatomically, oil palm roots inoculated with these fungi showed an increase in root diameter thickening of
5 the córtex, vascular cylinder, endodermis, pericycle and an increase in the number and diameter of
6 metaxylem vessel elements in first and second order lateral roots when compared to non-inoculated plants.
7 In this way, *Trichoderma* spp. induced root morphoanatomical changes in oil palm seedlings, which
8 contributes to root and shoot growth. Using these microorganisms, it possible to reduce the use of fertilizers
9 in the seedlings nursery phase.

10 Key word: Root, oil palm, fungus, biostimulant, morphoanatomy.

11 **INTRODUÇÃO**

12 A demanda por alimentos, biocombustíveis e fibras é um dos grandes desafios da
13 sustentabilidade, principalmente devido o rápido crescimento da população mundial, além disso a
14 degradação dos recursos naturais tem reduzido o percentual de terras adequadas para a agricultura, portanto
15 é necessário a adoção de práticas de manejo sustentável adequadas para a gestão dos recursos naturais
16 acompanhada pela maximização da produção de alimentos, redução da poluição e recuperação de áreas
17 degradadas (Abhilash et al. 2016).

18 Um das culturas de grande potencial produtivo na região amazônica, a palma de óleo ou
19 dendezeiro (*Elaeis guineensis*), é uma palmeira de origem africana que apresenta alta adaptabilidade a
20 regiões tropicais úmidas e possui grande importância econômica devido ao mercado de óleos de palma e
21 palmiste, extraídos de frutos e sementes, destinados às indústrias alimentícias, cosméticos, farmacêuticas e
22 de biocombustível (Mapa 2018).

23 Na Amazônia o cultivo de dendezeiro tem expandido nos últimos anos, assim como a demanda
24 por fertilizantes que são a segunda maior fonte de custo na cadeia produtiva do dendezeiro perdendo apenas
25 para a os custos com mão de obra, a necessidade da alta demanda por adubação se deve aos solos ácidos da
26 região com baixo teor nutricional (Matos et al. 2020).

27 Apresentação da limitação na produtividade

1 O processo de produção de mudas de dendzeiro requer um longo período de viveiro e altas
2 dosagens por fertilizantes, por conta disso é necessário o uso de técnicas que favoreçam o crescimento de
3 mudas de dendzeiro e melhorem a eficiência no uso de fertilizantes (Lima et al. 2020). A tecnologia
4 microbiana tem sido aplicada como uma das alternativas sustentáveis, voltadas na formação de mudas
5 robustas de maior precocidade e menor custo benefício (Cardoso et al. 2021; Castro et al. 2020; Lima et al.
6 2020).

7 [Link alternativa para manejo e uso](#)

8 Microrganismos promotores de crescimento em plantas contribuem na performance de
9 crescimento por meio de mecanismos diretos e indiretos como a solubilização de nutrientes, produção de
10 sideróforos, produção e indução de fitorreguladores, ativação sobre o metabolismo secundário em plantas
11 sobre condições de estresses, entre outros (Jha e Saraf 2015).

12 Dentre os microrganismos promotores de crescimento, fungos do gênero *Trichoderma* destaca-se
13 por apresentar grandes vantagens desde a germinação de sementes e influencia diretamente no
14 desenvolvimento da planta hospedeira a partir da solubilização de nutrientes, síntese e indução hormonal e
15 biocontrole de pragas e doenças (Chagas et al. 2017; Bononi et al. 2020). Estes fungos são cosmopolitas,
16 de vida livre, que podem viver em diferentes ambientes no solo, folhas e raízes, em plantas de dendzeiro
17 estes organismos possuem capacidade de colonizar tecidos radiculares e caulinares (Sundram 2013;
18 Harman 2004).

19 Vários estudos tem comprovado o potencial de diferentes espécies de *Trichoderma* spp. na
20 promoção de crescimento em plantas como em milho, arroz, soja, e feijão caupi (Chagas et al. 2017). Esses
21 microrganismos podem promover alterações morfoanatômicas benéficas (Oliveira et al. 2020) ao
22 desenvolvimento do sistema radicular que podem favorecer a disponibilidade de nutrientes para as plantas
23 (Chacón et al. 2007; Samolski et al. 2012).

24 Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações anatômicas e morfológicas em raízes
25 de mudas de dendzeiro induzida pela inoculação com isolados de *Trichoderma* spp.

1 MATERIAL E MÉTODOS

2 Área de estudo

3 O experimento foi instalado em área de viveiro pertencente ao grupo Agropalma, localizada no
4 município de Tailândia-PA com as seguintes coordenadas geográficas 2°32'58.06"S e 48°42'59.92"W.

5 Material vegetal

6 Sementes de *Elaeis guineensis* Jacq. (Deli x Nigeria) pré-germinadas, foram semeadas em sacos
7 de polietileno de 15x25 cm de dimensões, contendo terriço enriquecido com material decomposto de cacho
8 vazio de dendzeiro na proporção de 6:4 respectivamente, durante quatro meses de idade (fase de pré
9 viveiro), posteriormente as mudas foram transplantadas para sacos de polietileno de 45x45cm de
10 dimensões, contendo o mesmo tipo de substrato usado anteriormente por mais oito meses de crescimento
11 (fase de viveiro).

12 O substrato utilizado apresentou as seguintes propriedades químicas: pH (CaCl₂) = 5,1; C= 28
13 g/dm³; P= 51,9 mg/dm³; K= 5,9 mmolc/dm³; Ca = 37 mmolc/dm³; Mg = 26 mmolc/dm³; S = 7 mg/dm³; Na
14 = 0,2 mmolc/dm³; Mn = 37,5 mg/dm³; Fe = 73 mg/dm³; Cu = 0,5 mg/dm³; Zn = 3,7 mg/dm³; B = 0,8
15 mg/dm³.

16 Na fase de pré-viveiro foram realizadas quatro adubações de manutenção, foram feitas duas
17 adubações, uma ao início e outra final do segundo mês de crescimento, a adubação ocorreu por meio da
18 pulverização de 30 litros de água misturado com fertilizantes foliares (180 ml de Ubyfol N32, 15 ml de
19 Ubyfol MAG 8 e 200 ml Ubyfol L06), para cada canteiro contendo 3700 mudas. Ao terceiro e quarto mês
20 de crescimento foi feita a pulverização com 30 litros de água misturado com 600 ml de Ubyfol N32, 40 ml
21 de Ubyfol MAG 8 e 500 ml Ubyfol L06, no final da fase de pré-viveiro cada muda recebeu o equivalente
22 a 5 g do adubo foliar NPKMg com a formulação 25-10-17-0,4.

23 Na fase do viveiro foram realizadas 12 adubações de manutenção quinzenais, sendo 40g do
24 fertilizante fosfato monoamonico (MAP), 50g do Nitrato de Amônio (NH₄NO₃), 20g de Kieserita
25 (MgSO₄.H₂O), 25g e 12g do NPK com as seguintes formulações 15-13-6 e 12-12-17, também foi utilizado
26 17g e 20g do NPKMg com as seguintes formulações 15-13-6-4 e 12-12-17-2, totalizando 184g de
27 fertilizante sólido por planta até o final do experimento.

1 **Preparo de microrganismos**

2 Foram usados isolados de *Trichoderma* spp. (FT-02, UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-
3 52) provenientes da coleção de microrganismos do laboratório de proteção de plantas (LPP) da universidade
4 federal rural da Amazônia (UFRA), os microrganismos foram selecionados a partir de resultados positivos
5 em experimentos anteriores. FT-02 foi isolado da rizosfera de plantio de dendezeiro, enquanto os demais
6 são oriundos de solo rizosférico de áreas de florestas nativa e reflorestada da Amazônia (França et al. 2014).

7 Os isolados de *Trichoderma* spp. foram inicialmente cultivados em placas de petri contendo
8 meio de BDA (batata, dextrose e ágar), durante cinco dias à 28°C (Alfenas e Mafía 2016). Posteriormente
9 os isolados foram cultivados em arroz umidecido e autoclavado durante uma semana e a partir da
10 colonização deste foi feito o preparo de duas suspensões microbianas de concentração igual a 10^8
11 conídios/mL conforme descrito por Rêgo et al. (2014), a primeira suspensão foi formada por conídios de
12 FT-02, enquanto que a segunda foi proveniente do *pool* entre os isolados de UFRA-06, UFRA-09, UFRA-
13 12 e UFRA-52.

14 Foram feitas duas inoculações com 50 mL de suspensão fúngica, durante a fase de pré-viveiro
15 e três inoculações com 100 mL de suspensão fúngica, durante a fase de viveiro em mudas de dendezeiro,
16 consistindo em inoculações via rega aos 7, 30, 120, 150 e 230 dias após o semeio

17 **Delineamento experimental**

18 Foi feito um delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições e quatro tratamentos,
19 totalizando em 24 unidades amostrais, os tratamentos testados foram o controle positivo C+ (formado por
20 plantas não inoculadas e adubadas conforme a adubação recomendada), controle negativo C- (formado por
21 plantas não inoculadas e adubadas com metade da adubação recomendada), FT-02 (plantas inoculadas com
22 o isolado FT-02) e mix (plantas inoculadas com uma mistura entre isolado de *T. asperellum*: UFRA-06,
23 UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52), os tratamentos de FT-02 e *T. asperellum* receberam apenas metade da
24 adubação recomendada.

25 **Biometria e Biomassa**

26 Foram avaliados parâmetros de crescimento em mudas de dendezeiro aos 12 meses de
27 crescimento. A altura da planta (AP) foi medida com o auxílio de uma trena, da base inferior do caule ao
28 ápice da folha, o diâmetro do coleto (DC) foi medido com um paquímetro digital, o número de folhas
29 expandidas (NF) foi contabilizado em cada planta (Benicasa 1988). Além disso, foi analisado o teor de

1 clorofila total (SPAD) das mudas, com o auxílio do fluorômetro de clorofila SPAD 502 plus sendo analisada
2 seis pontos diferentes na segunda folha totalmente expandida.

3 Amostras radiculares e da parte aérea, foram armazenadas em sacos de papel kraft e levadas em
4 estufa a 70 °C, durante 48 horas, a partir da secagem do material foi feita a pesagem em balança analítica
5 para obtenção dos valores de matéria seca (Benicasa 1988). Por fim, foi calculado o índice de qualidade
6 Dickson (IQD), que é um indicador de qualidade das mudas (Dickson et al. 1960), calculado conforme a
7 equação abaixo.

$$8 \quad IQD = \left(\frac{(MST)}{\left(\frac{AP}{DC}\right) + \left(\frac{MSPA}{MSR}\right)} \right) / 100$$

9 **Dinâmica e crescimento radicular**

10 Partes das raízes foram coletadas, lavadas e armazenadas em solução etanólica 30%, posteriormente foram
11 adicionadas em bandeja de 30 cm de largura e 40 cm de comprimento, com um fundo branco formado. As
12 raízes foram posicionadas na bandeja e espalhadas afim de evitar a sobreposição de raízes, com isso foi
13 feita a captura de imagens de cada raiz digitalizadas com resolução de 200 dpi. As imagens foram
14 processadas e analisadas com o auxílio do software Safira versão 2.0 (Jorge e Silva 2010), onde foi
15 quantificado a área superficial radicular e o volume radicular em três diferentes classes de raízes de acordo
16 com o seu diâmetro médio, sendo fina (menor que 2mm), média (entre 2 e 4 mm) e grossa (maior que 4
17 mm) (Goh e Samsudin 1993). A partir dos resultados obtidos no programa Safira, foi feita uma estimativa
18 considerando o peso das raízes usadas para esta análise com o peso da raiz total.

19 **Anatomia radicular**

20 Foi analisada a raiz adventícia de maior comprimento e a partir desta foi selecionado raízes laterais de
21 primeira e segunda ordem. A região do terço médio de raízes laterais de primeira e segunda ordem foram
22 coletadas e fixadas em F.A.A 70 (formaldeído 37%, ácido acético e álcool 70%) na proporção de (1:1:18)
23 respectivamente, durante 24 horas e posteriormente armazenadas em álcool 70% (Johansen 1940).

24 As amostras radiculares foram desidratadas em série alcoólica (80%, 90%, 100%) a cada 20 minutos e
25 embebidas em resina plástica durante 24 horas (Marques e Soares 2021), as amostras foram cortadas
26 transversalmente com o auxílio de um micrótomo rotativo com 5 µm de espessura, e coradas com azul de
27 toluidina, enquanto para a detecção de ligninas as seções não foram coradas, devido a fluorescência natural

1 destas moléculas que serão visualizadas em microscópio ótico de luz ultravioleta com 490nm de filtro de
2 excitação (Magalhaes et al. 2021).

3 As imagens foram capturadas digitalmente com auxílio de uma câmera fotográfica acoplada a um
4 microscópio (Leica DMLB) e computador.

5 Os parâmetros anatômicos radiculares avaliados foram o diâmetro do córtex (DC), diâmetro do cilindro
6 vascular (DCV), diâmetro de elementos de vasos do metaxilema (DM), número de elementos de vaso do
7 metaxilema (NM).

8 **Análise estatística**

9 Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, e as médias das variáveis foram
10 comparadas por meio do teste de médias de Duncan ($p < 0,05$), para variáveis morfométricas e crescimento
11 radicular e teste de Scoot-Knott ($p < 0,05$), para as variáveis anatômicas, utilizando o pacote R (R core team
12 2017).

13 **RESULTADOS**

14 Os isolados de *Trichoderma* spp. promoveram crescimento em mudas de dendezeiro, com incrementos
15 médios de 36,74% em altura, 28,88% em diâmetro do coleto, 25,48% em número de folhas, 17,40% em
16 clorofila total, 215,42% no índice de qualidade de Dickson, 67,71% em massa seca da parte aérea, 230,86%
17 em massa seca da raiz e 85,88% em massa seca total com relação ao controle negativo. Os tratamentos com
18 *Trichoderma* spp. estimularam incrementos médios de 19,55% em altura, 21,05% em número de folhas,
19 43,85% em massa seca da parte aérea e 37,90% de massa seca total, em relação ao controle positivo, com
20 destaque para o FT-02 que promoveu aumentos em 13,34% em diâmetro do coleto, 25,06% no índice de
21 qualidade de Dickson e 26,40% em massa seca da raiz (tabela 1).

22 **Tabela: 1:** Morfometria em mudas de dendezeiro (12 meses de idade) inoculadas com isolados de
23 *Trichoderma* spp. C- (plantas não inoculadas com 50 % da adubação recomendada), C+ (plantas não
24 inoculadas com 100 % da adubação recomendada), FT-02 (plantas inoculadas com o isolado de FT-02, com
25 50 % da adubação recomendada) e *T. asperellum* (plantas inoculadas com o pool de quatro isolados de *T.*
26 *asperellum* UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52, com 50 % da adubação recomendada). Altura da
27 planta (AP), diâmetro do coleto (DC), número de folhas (NF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa
28 seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e índice de qualidade de Dickson (IQD).

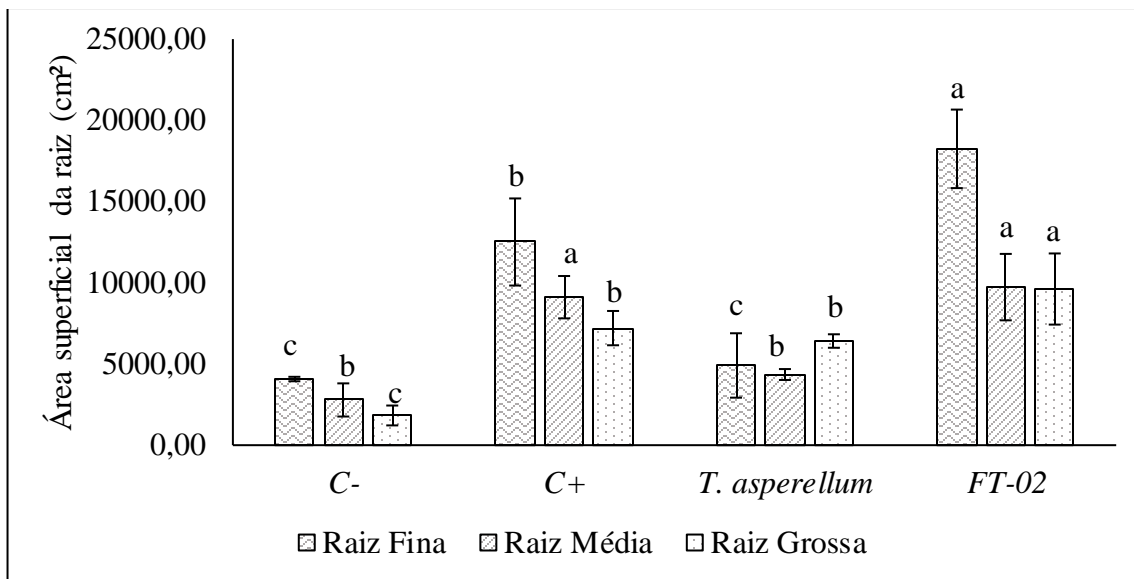
Tratamentos	AP (cm)	DC (mm)	NF	SPAD	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)	IQD
C-	100,83 c	72,93 c	18,33 b	47,13 b	327,05 b	41,00 c	368,05 c	0,39 c
C+	115,33 b	86,65 b	19,00 b	52,09 ab	381,29 b	114,83 b	496,12 b	1,06 b
FT02	141,50 a	98,21 a	23,83 a	55,13 a	559,62 a	145,15 a	704,76 a	1,32 a
<i>T. asperellum</i>	134,25 a	89,78 ab	22,17 a	55,53 a	537,38 a	126,16 ab	663,54 a	1,15ab
CV%	9,01	10,31	7,2	8,82	21,41	17,08	18,63	17,28

1 *Médias seguidas por letras minúsculas na coluna iguais não diferem significativamente pelo teste de
2 Duncan (P<0,05).



Fig 1 Mudanças de *Elaeis guineensis* (doze meses de idade) inoculados com isolados de *Trichoderma spp.* em comparação aos controles positivo e negativo

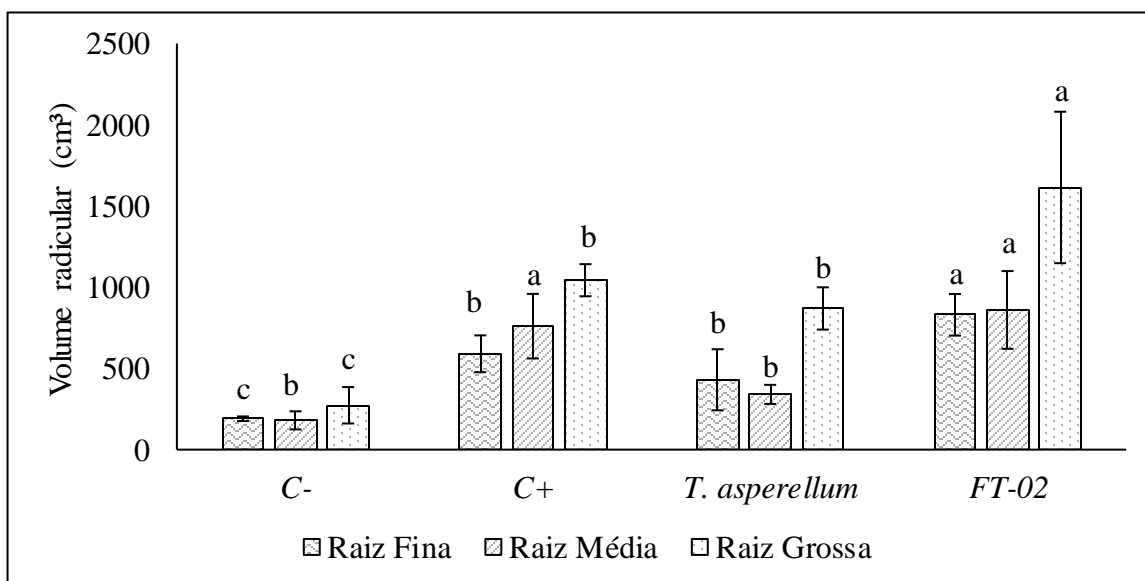
O tratamento FT-02 promoveu incrementos na área superficial de raízes de mudas de *Elaeis guineensis* conforme observado na figura 3. Nas raízes finas houve um aumento de 343% com relação ao controle negativo e 69,6% com relação ao controle positivo, em raízes médias este isolado promoveu incremento de 259% com relação ao controle negativo, enquanto em raízes grossas os incrementos foram de 433% e 33% com relação aos controles negativo e positivo, respectivamente.



1

2 **Fig 2:** Área superficial da raiz de mudas de *Elaeis guineensis* (doze meses de idade) inoculadas com
 3 isolados de *Trichoderma* spp. em comparação aos controles positivo e negativo.

4 O aumento no volume radicular foi estimulado em mudas de dendezeiro inoculadas com o isolado de FT-
 5 02, conforme observado na figura 4. Para as raízes finas os incrementos foram de 336,84% e 40,68% com
 6 relação aos controles negativo e positivo, enquanto para as raízes grossas os aumentos foram de 491,21%
 7 e 54,74% com relação aos controles negativo e positivo, nas raízes médias este isolado contribuiu com
 8 aumento de 378% em relação ao controle negativo. O tratamento envolvendo a aplicação com pool de
 9 isolados de *T. asperellum*, promoveu aumentos no volume de raízes fina em 126% e grossas em 218% em
 10 relação ao controle negativo.



11

12 **Fig 3:** Volume radicular de mudas de *Elaeis guineensis* (doze meses de idade) inoculadas com isolados de
 13 *Trichoderma* spp. em comparação aos controles positivo e negativo

1 Plantas de dendezeiro apresentam raízes de tipo fasciculadas, com a formação de raízes adventícias a partir
 2 do caule, que originam raízes primárias, secundária, terciárias e quaternárias (Corley e Tinker 2016).
 3 Anatomicamente, os resultados observados neste trabalho demonstram que as raízes de dendezeiro
 4 apresentam epiderme uniestratificada, a exoderme com células esclerenquimáticas com parede lignificada,
 5 enquanto as células parenquimáticas do córtex são arredondadas e enfileiradas, com a formação lisígena de
 6 grandes bolsas de ar que constitui em aerênquima, a endoderme constitui em uma camada de células
 7 separando o córtex do cilindro central onde contém o periciclo formado por uma camada e os elementos de
 8 vasos de xilema e floema, conforme observado na figura 5.

9 Os isolados de *Trichoderma* spp. promoveram alterações morfoanatômicas em raízes laterais de primeira
 10 ordem de mudas de dendezeiro, conforme observado na tabela 2. Com incrementos médios que variaram
 11 36,18% a 38,68% para o diâmetro radicular, 35,17% a 38,64% para o cilindro vascular, 7,17 a 22% para a
 12 endoderme, 57,95% a 48,82% para o número de elementos de vaso do metaxilema e 25,44% a 39,44% para
 13 o diâmetro dos elementos de vaso do metaxilema com relação aos controles positivo e negativo,
 14 respectivamente. Ambos os isolados não diferiram estatisticamente ao periciclo, enquanto para a espessura
 15 do córtex houve aumento médio de 40,06% em relação ao controle negativo (figura 5).

16 **Tabela 2:** Morfoanatomia de raízes laterais de primeira ordem em mudas de dendezeiro (12 meses de idade)
 17 inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. C- (plantas não inoculadas com 50 % da adubação
 18 recomendada), C+ (plantas não inoculadas com 100 % da adubação recomendada), FT-02 (plantas
 19 inoculadas com o isolado de FT-02, com 50 % da adubação recomendada) e *T. asperellum* (plantas
 20 inoculadas com o pool de quatro isolados de *T. asperellum* UFRA-06, UFRA-09, UFRA-12 e UFRA-52,
 21 com 50 % da adubação recomendada). Diâmetro da raiz (DR), Espessura do córtex (CO), diâmetro médio
 22 do cilindro vascular (CV), endoderme (EN), periciclo (PE), número de elementos de vasos do metaxilema
 23 (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vasos do metaxilema (DMTX).

Tratamentos	DR (μm)	CO (μm)	CV (μm)	EN (μm)	PE (μm)	NMTX	DMTX (μm)
C-	1428,00 b	481,18 b	381,13 b	8,45 c	10,47 a	4,67 b	54,69 b
C+	1454,21 b	502,53 a	390,91 b	9,62 b	10,35 a	4,40 b	60,79 b
FT-02	2082,95 a	710,90 a	555,88 a	9,64 b	12,06 a	7,40 a	73,71 a

<i>T. asperellum</i>	1877,83 a	637,01 a	500,90 a	10,98 a	12,52 a	6,5 a	78,81 a
CV%	14,24	14,70	16,37	8,48	14,95	15,46	11,80

1 *Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott knot ($P \leq 0,05$).

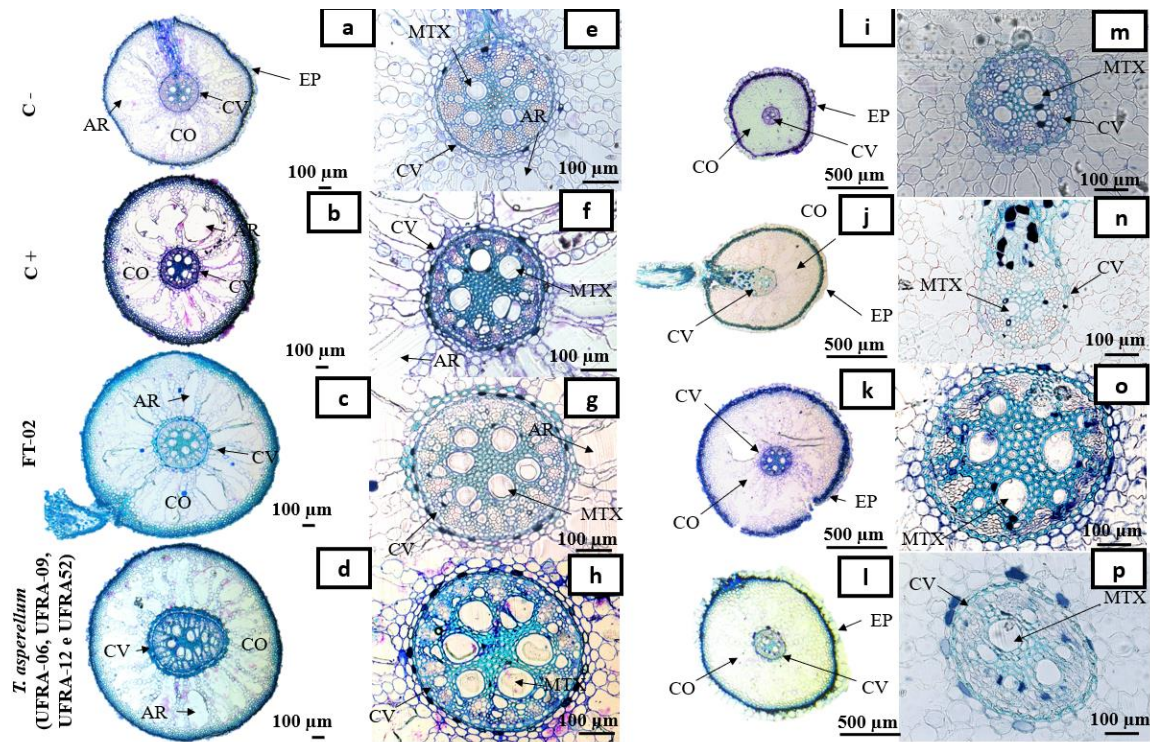
2 Nas raízes laterais de segunda ordem também houve diferenças morfoanatômicas significativas em os
3 tratamentos, conforme observado na tabela 3. O uso de *Trichoderma* spp. variou em média de 40,48% a
4 46,25% para diâmetro radicular, 47% para a espessura do córtex, 49,30% a 58,38% para o cilindro
5 vascular, 16,34% a 30,86% para a espessura do periciclo, 68% a 75% e número de elementos de vaso do
6 metaxilema 66% a 46,74% para o diâmetro dos elementos de vaso do metaxilema, com relação aos
7 controles positivo e negativo, respectivamente.

8 **Tabela: 3:** Morfoanatomia de raízes laterais de segunda ordem em mudas de dendezeiro (12 meses de
9 idade) inoculadas com isolados de *Trichoderma* spp. Diâmetro da raiz (DR), Espessura do córtex (CO),
10 diâmetro médio do cilindro vascular (CV), endoderme (EN), periciclo (PE,) número de elementos de vasos
11 do metaxilema (NMTX) e diâmetro médio dos elementos de vasos do metaxilema (DMTX).

Tratamentos	DR (μm)	CO (μm)	CV (μm)	EN (μm)	PE (μm)	NMTX	DMTX (μm)
C-	693,36 b	239,99 b	144,27 b	8,03 a	7,29 b	2,40 b	21,82 b
C+	721,84 b	239,42 b	152,99 b	8,40 a	8,20 b	2,50 b	19,89 b
FT-02	1059,38 a	363,24 a	232,38 a	9,04 a	9,95 a	4,20 a	31,08 a
<i>T. asperellum</i>	969,09 a	340,66 a	224,62 a	9,55 a	9,13 a	4,20 a	34,96 a
CV%	21,78	25,19	24,47	12,36	13,45	35,79	27,88

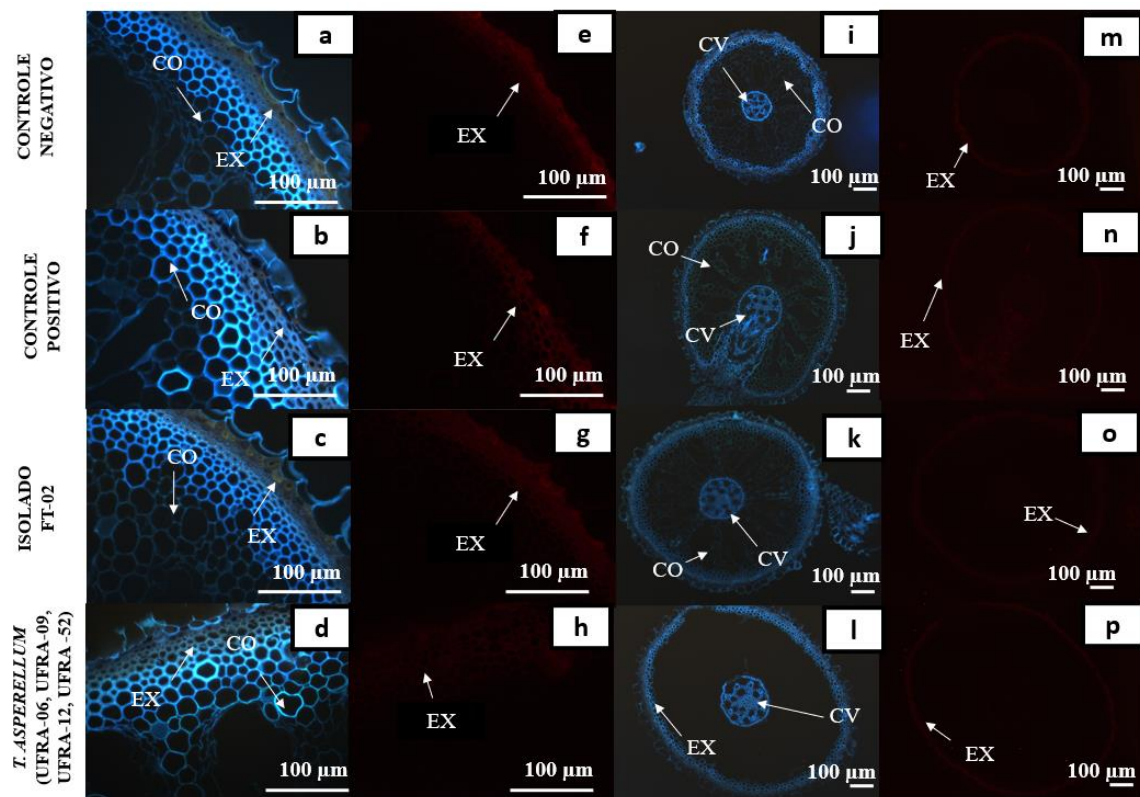
12 *Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott knot ($P \leq 0,05$).

13



1

2 **Fig 4** Corte transversal em raízes laterais de primeira ordem (a, b, c, d, e, f, g e h) e raízes laterais de segunda
 3 ordem (i, j, k, l, m, n, o e p) de mudas de *Elaeis guineensis* (doze meses de idade) inoculadas com isolados
 4 de *Trichoderma* spp. em comparação aos controles positivo e negativo



5

6 **Fig 5:** corte transversal em raízes laterais de primeira ordem (a, b, c, d, e, f, g e h) e raízes laterais de segunda
 7 ordem (i, j, k, l, m, n, o e p) de mudas de *Elaeis guineensis* (doze meses de idade) inoculadas com isolados
 8 de *Trichoderma* spp. em comparação aos controles positivo e negativo

1 **DISCUSSÃO**

2 A aplicação da tecnologia microbiana pode consistir em um método eficaz na redução do uso da
3 adubação química, visto que a adoção de microrganismos promotores de crescimento em plantas é mais
4 segura ao ambiente e mais econômico quando comparado ao uso de fertilizantes (Zakry et al. 2019). Estudos
5 comprovam a viabilidade econômica dos microrganismos em solos amazônicos, que reduzem o uso de
6 fertilizantes em mudas de dendezeiro (Lima et al. 2022), mudas de coqueiro (Cardoso et al. 2021) e plantas
7 adultas de bananeira (Mauês et al. 2022).

8 O crescimento e a produtividade na cultura da dendezeiro são altamente influenciados pela aplicação de
9 fertilizantes, porém a grande demanda pela fertilização química na cultura da dendezeiro em comparação à
10 outras culturas como trigo e arroz, são necessárias para a reposição de nutriente removidos pela colheita de
11 cachos (Azri et al. 2018).

12 Conforme os resultados apresentados neste estudo, os isolados de *Trichoderma* spp. promoveram
13 crescimento em mudas de dendezeiro mesmo com apenas 50% da adubação recomendada, com destaque
14 ao isolado FT-02 que proporcionou incrementos superiores em todos os parâmetros morfológicos e de
15 biomassa avaliados.

16 Mesmo com apenas metade da quantidade de fertilizante recomendada, as mudas inoculadas com o isolado
17 de FT-02, apresentaram crescimento em biomassa radicular maior do que as plantas não inoculadas com
18 100% da dose recomendada, assim como o volume e a área superficial da raiz. Em mudas de dendezeiro
19 inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* com metade da adubação recomendada as alterações na
20 arquitetura radicular induzidas por este microrganismo favoreceram o acúmulo de nutrientes em folhas e
21 raízes (Lima et al. 2021). A promoção de crescimento induzida por fungos de *Trichoderma* pode ocorrer a
22 partir de mecanismos de forma direta e/ou indireta como a solubilização de fosfato, síntese de
23 fitohormônios, produção de sideróforos, produção de metabólitos secundários e indução de resistência
24 sistêmica (Wonglom et al. 2020; Zhao e Zhang 2015; Nascente et al. 2017).

25 Segundo Barcelos et al.; (1995) ao final do estágio de viveiro, as mudas de dendezeiro devem apresentar
26 uma altura média de 120 cm, resultados similares foram encontrados neste trabalho em plantas controles
27 com 100% da adubação recomendada, enquanto plantas inoculadas com *Trichoderma* e fertilizadas com

1 50% da adubação recomendada, apresentaram altura variando entre 134 a 141cm de altura, o que demonstra
2 o potencial da tecnologia microbiana na precocidade de mudas de dendezeiro.

3 estes mecanismos afetam diretamente o crescimento de células da raiz, pois o aumento da disponibilidade
4 nutricional, resultante da solubilização de nutrientes e da produção de sideróforos, contribui na regulação
5 da arquitetura radicular mediada pelas alterações de hormônios como auxina, citocianina e etileno
6 envolvidas no crescimento radicular (López-Bucio et al. 2003). Diversos estudos demonstram o potencial
7 de diferentes espécies de *Trichoderma* alterando a arquitetura radicular, mediada por genes envolvidos na
8 síntese de auxina, no qual estimulam o a formação de raízes laterais, resultando em um maior volume
9 radicular (Verbo e Liberman 2016; Samolski et al. 2012).

10 Conforme observado neste estudo o isolado FT-02 proporcionou o aumento na área superficial de raízes
11 finas em mudas de dendezeiro em relação ao controle positivo. O aumento em área superficial de raízes
12 finas pode contribuir com a melhoria e eficiência de absorção de nutrientes (Lima et al. 2021), comprovando
13 que mudas de dendezeiro mesmo com 50% da adubação recomendada, quando inoculadas com o isolado
14 de FT-02, apresentam crescimento acelerado e maior desenvolvimento em relação as plantas controle, o
15 que pode contribuir diretamente ao crescimento do volume radicular como observado neste trabalho.

16 O aumento do volume radicular nas diferentes classes de diâmetro de raiz em mudas de dendezeiro tratadas
17 com o isolado de FT-02, apresentados neste estudo, demonstram o potencial deste isolado no
18 desenvolvimento radicular. O aumento do volume radicular permite o alcance das raízes às camadas mais
19 profundas do solo, garantindo maior absorção devido a maior quantidade de raízes finas e maior ancoragem
20 ao solo por meio das raízes mais grossas (Lima et al. 2021).

21 Segundo Lima et al 2021 mudas de dendezeiro inoculadas com rizobacterias, apresentaram alterações na
22 arquitetura radicular e acúmulo nutricional em folhas e raízes que contribuíram para o maior
23 desenvolvimento da planta em área de viveiro.

24 O crescimento do sistema radicular induzido por microrganismos resulta de um conjunto de alterações
25 morfoanatômicas radiculares (Oliveira et al. 2020), que podem estar associados à biossíntese de auxinas
26 induzida pela inoculação com microrganismos em mudas de dendezeiro, visto que a auxina contribui na
27 divisão celular e crescimento radicular (Lima et al. 2021). O acúmulo deste hormônio no centro quiescente

1 da raiz pode favorecer o crescimento dos diferentes tecidos na raiz e resultar no maior desenvolvimento
2 radicular (Batista et al.; 2021).

3 O crescimento do diâmetro radicular pode estar relacionado com o aumento da resistência e penetração
4 radicular ao solo, garantindo maior exploração da raiz aos nutrientes do solo (Lynch et al. 2021). Conforme
5 observado neste estudo os tratamentos com *Trichoderma* promoveram incrementos no diâmetro de raízes
6 de primeira e segunda ordem em mudas de dendezeiro em relação aos tratamentos com 50% e 100% da
7 adubação recomendada, este crescimento é resultante do espessamento ou do número de camadas de células
8 corticais, assim como o aumento do diâmetro do cilindro vascular e elementos de vasos condutores, que
9 podem ter sido favorecidos pela síntese hormônios. Em plantas de soja coinoculadas com *T. asperellum*
10 apresentaram aumento do diâmetro médio das raízes (Leite et al. 2023).

11 A partir das análises histoquímicas observado na figura 6, plantas de dendezeiro tratadas com o isolado FT-
12 02 apresentaram maior espessamento da exoderme em raízes laterais de primeira e segunda ordem. A
13 lignificação de células da exoderme, assim como o maior espessamento deste tecido, pode restringir o fluxo
14 de solutos, compostos orgânicos e a entrada microrganismos patogênicos ao interior do córtex radicular
15 (Rêgo et al. 2014).

16 O espessamento do córtex e a formação de camadas de esclerênquima na exoderme, contribuem na
17 formação de raízes mais resistentes, no qual favorece a penetração em solos compactados e permite maior
18 exploração radicular ao solo e absorção de nutrientes (Castañeda et al. 2022). Neste trabalho ambos os
19 tratamentos com *Trichoderma* promoveram o aumento do volume radicular nas diferentes classes de raiz,
20 com destaque ao isolado de FT-02 que apresentou incrementos superiores significativos em relação ao
21 controle com 100% da adubação recomendada.

22 A formação de raízes laterais ocorre a partir da acumulação de auxinas nas células do periciclo que adquire
23 identidade de célula fundadora e inicia o processo de divisão celular e diferenciação do tecido, o que resulta
24 na formação de um primórdio de raiz (Marhavy et al. 2013). O aumento do periciclo em raízes laterais de
25 segunda ordem em plantas de palma bioestimuladas com *Trichoderma* pode estar associado ao a formação
26 de novas raízes laterais e ao aumento do volume radicular, conforme observado neste trabalho.

27 *Trichoderma* promoveu aumento em diâmetro e na quantidade dos elementos de vaso do metaxilema em
28 raízes laterais de primeira e segunda ordem, em relação aos controles, o que contribui na maior

1 condutividade hidráulica e de nutrientes (Oliveira et al. 2020). O aumento no calibre deste elemento de
2 vaso acompanhado com a melhoria na absorção nutricional influencia diretamente sobre o crescimento
3 radicular conforme apresentado neste estudo.

4 **CONCLUSÃO**

5 *Trichoderma* spp. promoveu alterações morfoanatômicas radiculares em mudas de dendezeiro fertilizadas
6 com metade da adubação recomendada, resultando em benefícios significativos no crescimento radicular e
7 da parte aérea. A partir da aplicação destes microrganismos é possível reduzir o uso de fertilizantes pela
8 metade durante a fase de viveiro. A aplicação da tecnologia microbiana com o uso de *Trichoderma* spp
9 proporciona uma economia significativa aos produtores de mudas de dendezeiro e minimiza o impacto
10 ambiental associado ao excesso de insumos químicos.

11 **REFERÊNCIAS**

- 12 Abhilash PC, Dubey RK, Tripathi V, Gupta VK, Singh HB (2016) Plant growth-promoting microorganisms
13 for environmental Sustainability. Trends in biotechnology 34:847-850
14 <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.05.005>.
- 15 Alfenas AC, Mafía RC (2016) Métodos em fitopatologia. UFV, Viçosa.
- 16 Azri MDH, Ismail S, Abdullah R (2018) Effects of Bacillus salmalaya strain 139SI inoculation on yield and
17 nutrientes uptake of oil palm. International journal of agriculture & biology 20:499-506 [DOI:
18 10.17957/IJAB/15.0505](https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0505).
- 19 Barcelos E, Chaillard H, Nunes CDM, Macedo JLV, Rodrigues MRL, Cunha RNV, Tavares AM, Dantas
20 JCR, Borges RS, Santos WC (1995) A cultura do dendê. Embrapa Amazônia Ocidental. Brasília
21 <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11909/2/00013560.pdf>.
- 22 Batista BD, Dourado MN, Figueredo EF, Hortencio RO, Marques JPR, Piotto FA, Bonatelli ML, Setles
23 ML, Azevedo JL, Quecine MC (2021) The auxin-producing Bacillus thurigiensis RZ2MS9 promotes the
24 growth and modifies the root architecture of tomato (*Solanum lycopersium* cv. Micro-Tom). Archives of
25 microbiology 203:3869-3882 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-021-02361-z>
- 26 Benicasa MMP (1988) Análise de crescimento de plantas: Noções básicas. 41.
- 27 Bononi L, Chiaramonte JB, Pansa CC, Moitinho MA, Melo IS (2020) Phosphorus-solubilizing
28 *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. Scientific Reports 10:2858.
29 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>.

- 1 Cardoso AF, Alves EC, Costa AS, Moraes AJG, Silva Júnior DD, Lins PMP, Silva GB (2021) *Bacillus*
2 *cereus* improves performance of brazilian green dwarf coconut palms seedlings with reduced Chemical
3 fertilization. *Frontiers in plant Science* 12:1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649487>.
- 4 Cardoso AF, Alves EC, Costa SA, Moraes AJG, Silva Júnior DD, Lins PMP, Silva GB (2021) *Bacillus*
5 *cereus* improves performance of brazilian green dwarf coconut palms seedlings with reduced Chemical
6 fertilization. *Frontiers in plant Science* 12:1-12 <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.649487>.
- 7 Castañeda TG, Lynch JP, Six J, Hartmann M (2022) Improving soil resource uptake by plants through
8 capitalizing on synergies between root architecture and anatomy and root -associated microorganisms.
9 *Frontiers in plant Science* 13:1-15 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.827369/full>
- 10 Castro GLS, Rêgo MCF, Silvestre WVD, Batista TFV, Silva GB (2020) Açai palm seedling promotion by
11 rhizobacteria inoculation. *Brazilian Journal Microbiology* 51:205-216. [https://doi.org/10.1007/s42770-](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
12 [019-00159-2](https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2)
- 13 Chacón MR, Galán OR, Benítez T, Sousa S, Rey M, Llobell A, Jarana JD (2007) Microscopic and
14 transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *International*
15 *microbiology* 10:19-27 <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.4>
- 16 Chagas LFB, Chagas Junior AF, Soares LP, Fidelis RB (2017) *Trichoderma* na promoção do crescimento
17 vegetal. *Revista de agricultura neotropical* 4:97-102 <https://doi.org/10.32404/rean.v4i3.1529>
- 18 Costa SDA, Cardoso AF, Castro GLS, Silva Junior DD, Silva TC, Silva GB (2022) Co-inoculation of
19 *Trichoderma asperellum* with *Bacillus subtilis* to promote growth and nutrient absorption in Marandu grass.
20 *Applied and environmental soil Science* 2022:1-13 <https://doi.org/10.1155/2022/3228594>
- 21 Dickson A, Leaf AL, Hosner JF (1960) Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in
22 nurseries. *Forest* 36:10–13 <https://doi.org/10.5558/tfc36010-1>.
- 23 França SKS, Cardoso AFC, Lustosa DC, Ramos EMLSR, Filippi MCC, Silva GB (2014) Biocontrol of
24 sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. *Agronomy for sustainable development*
25 35:317-324 <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-014-0244-3>
- 26 Goh KJ, Samsudin A (1993) The root system of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) II: indirect estimation
27 of root length, diameter, and surface area. In: *Elaeis*, 5:75-85
- 28 Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent
29 plant. *Nature reviews microbiology* 2:43-56 <https://www.nature.com/articles/nrmicro797>

- 1 Jha CK, Saraf M (2015) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review. Journal of agricultural
2 research and development 5:108-109 <https://link.springer.com/article/10.1007/s12045-013-0038-y>
- 3 Johansen DA (1940) plant Microtecnicue. 2 edn. Bombay, tata McGraw-hill, 532p.
- 4 Jorge LAC, Silva DJCB (2010) Safira: Manual de utilização. Embrapa CPDIA. São Carlos 29
5 <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77135/1/manual-safira-2013.PDF>.
- 6 Leite RC, Damatta FM, Carneiro JSS, Castro GLS, Costa RRS, Costa ETS, Silva GB (2024) Photosynthetic
7 performance and root architecture of soybean co-inoculated with Amazonian microorganism strain are
8 influenced by red mud application. Acta physiologiae plantarum. 46:1-15 [https://doi.org/10.1007/s11738-](https://doi.org/10.1007/s11738-023-03625-5)
9 [023-03625-5](https://doi.org/10.1007/s11738-023-03625-5)
- 10 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, Chia GD, Melo Júnior JAG, Silva GB (2021) Rhizobacteria modify root
11 architecture and improve nutriente uptake in oil palm seedlings despite reduced fertilizer. rhizosphere 19:1-
12 10 <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100420>.
- 13 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, Chia GD, Olivares FL, Silva JPMD, Silva GB (2022) Oil palm
14 production with reduced economic costs and environmental impacts through the use of rhizobacteria.
15 Archives of phytopathology and plant protection 55:1998-2008
16 <https://doi.org/10.1080/03235408.2022.2086193>
- 17 Lima JV, Tinôco RS, Olivares FL, Moraes AJG, Chia GS, Silva GB (2020) Hormonal imbalance triggered
18 by rhizobacteria enhances nutrient use efficiency and biomass in oil palm. Scientia Horticulturae
19 264:109161. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109161>
- 20 Lynch JP, Strock CF, Shneider HM, Sidhu JS, Ajmera I, Castañeda TG, Klein SP, Hanlon M (2021) Root
21 anatomy and soil resource capture. Plant soil 466:21-63 <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05010-y>
- 22 Lopéz-Bucio J, Cruz-Ramirez A, Herrera-Estrela L (2003) The role of nutriente availability in regulating
23 root architecture. Current opnion in plant Biology 6:280-287. [https://doi.org/10.1016/S1369-](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00035-9)
24 [5266\(03\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00035-9)
- 25 Magalhaes IP, Marques JPR, Gomes ME, Junior EJS, Fischer IH, Furtado EL, Henrinque RLP, Rodrigues
26 FTV, Firmino AC (2021) Structural and biochemical aspects related to resistance and susceptibility of
27 rubber tree clones to antracnose. Plants 10:985 <https://doi.org/10.3390/plants10050985>
- 28 Mapa (2018) Diagnóstico da produção sustentável da palma de óleo. Brasília-DF.
29 http://www.abrapalma.org/pt/wp-content/uploads/2014/12/DIAGNOSTICO_PALMA.pdf

- 1 Marhavy P, Vanstraelen M, Rybel B, Zhaojun D, Bennett M, Beeckman T, Benková E (2013) Auxin reflux
2 between the endodermis and pericycle promotes lateral root initiation. The EMBO journal 32:149-158
3 <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.303>
- 4 Marques JPR, Soares MKM (2021) Manual de técnicas aplicadas à histopatologia vegetal. Piracicaba- SP.
5 Ed: Fealq.140
- 6 Matos GSB, Gama MAP, Rodrigues GR, Gonçalves DAM (2020) Sintomas de deficiência nutricional em
7 palma de óleo. Belém-PA.
8 [https://www.researchgate.net/publication/344166907_Sintomas_de_deficiencia_nutricional_em_palma_d](https://www.researchgate.net/publication/344166907_Sintomas_de_deficiencia_nutricional_em_palma_d_e_oleo)
9 [e_oleo](https://www.researchgate.net/publication/344166907_Sintomas_de_deficiencia_nutricional_em_palma_d_e_oleo)
- 10 Maués TMS, Costa RRS, Santos MAS, Silva GB (2022) Agro-economic performance of banana tree under
11 nutritional management with *Trichoderma asperellum*, in a Family production system. Agriculture and
12 food 7:297-311 <https://doi.org/10.3934/agrfood.2022019>
- 13 Nascente AS, Filippi MCC, Lanna AC, Souza ACA, Lobo VLS, Silva GB (2017) Biomass, gas exchange,
14 and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth
15 promoters. Environmental Science and Pollution Research 24:2956-2965
16 <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-016-8013-2>.
- 17 Oliveira CM, Almeida NO, Rocha MR, Rezende MH, Carneiro RGS, Ulhoa CJ (2020) Anatomical changes
18 induced by isolate of *Trichoderma* spp. In soybean plants. Plos one 15:1-16
19 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242480>
- 20 R core team (2017) R a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical
21 computing. <https://www.R-project.org/>.
- 22 Rêgo MCF, Borges FI, Filippi MCC, Gonçalves LA, Silva GB (2014) Morphoanatomical and biochemical
23 changes in the roots of rice plant induced by plant growth-promoting microorganisms. Journal of Botany
24 2014:1-10 <http://dx.doi.org/10.1155/2014/818797>
- 25 Samolski I, Rincón AM, Pinzón LM, Viterbo A, Monte E (2012) The *qid74* gene from *Trichoderma*
26 *harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. Microbiology 158:129-138
27 <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.053140-0>
- 28 Sundram S (2013) First report: Isolation of endophytic *Trichoderma* from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq)
29 and their in vitro antagonistic assessment on *Ganoderma boninense*. Journal of oil palm research. 25 :368-
30 372

- 1 <https://www.researchgate.net/publication/277569382> First report Isolation of endophytic trichoderma
2 [from oil palm *Elaeis guineensis* Jacq and their in vitro antagonistic assessment on *Ganoderma b*](#)
3 [oninense](#)
- 4 Verbo EH, Liberman LM (2016) Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root
5 development. Trends in plant Science. 21:218:229 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.013>
- 6 Wonglom P, Ito SI, Sunpapao A (2020) Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus
7 *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defense response and promote plant growth in
8 lettuce (*Lactuca sativa*). Fungal ecology 43:1-10 <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.100867>
- 9 Zakry FAA, Ammal P, Malahubban M, Faridah AR, Umar AHM (2019) Selecting the most effective plant
10 growth-promoting bacteria from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) roots. Journal of Bangladesh agricultural
11 university 17:344-348 <https://doi.org/10.3329/jbau.v17i3.43208>

12

13

14

15 **CONCLUSÕES GERAIS**

16 Alterações morfoanatômicas observada em raízes e folhas de mudas de dendezeiro
17 inoculadas com microrganismos, desempenham um papel crucial no aprimoramento do
18 crescimento radicular e na otimização do aparato fotossintético. Esses benefícios
19 convergem no desenvolvimento vigoroso e precoce de mudas, proporcionando uma
20 notável redução na necessidade de fertilizantes. Nesse contexto, destaca-se a importância
21 da tecnologia microbiana e seu potencial positivo na eficiência agrícola e na
22 sustentabilidade do cultivo do dendezeiro.