



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JOSÉ AILTON GOMES DE MELO JÚNIOR

**A INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS AFETA POSITIVAMENTE
ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR E O ACÚMULO DE NUTRIENTES
EM MUDAS DE *Euterpe oleracea* (Mart.)**

BELÉM, PA

2020

JOSÉ AILTON GOMES DE MELO JÚNIOR

**A INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS AFETA POSITIVAMENTE A
ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR E O ACÚMULO DE NUTRIENTES
EM MUDAS DE *Euterge oleracea* (Mart.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de mestrado em Agronomia, para obtenção do título de Mestre.
Área de concentração: Produção Vegetal em Sistema Agrícolas
Orientadora: Dra Gisele Barata da Silva
Co-orientador: Drº Gledson Luiz Salgado de Castro

BELÉM, PA

2020

De Melo Júnior, José Ailton Gomes

A inoculação com microrganismos afeta positivamente a arquitetura do sistema radicular e o acúmulo de nutrientes em mudas de Euterpe oleracea (Mart.) / José Ailton Gomes De Melo Júnior. - 2020.

55 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia(PPGA), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2020.

Orientador: Profa. Dra. Gisele Barata da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro.

1. Rizobactérias. 2. Trichoderma asperellum. 3. Microorganismos. 4. Morfologia de raízes. 5. Açaizeiro. I. Barata da Silva, Gisele , orient. II. Título

CDD 630.275

JOSÉ AILTON GOMES DE MELO JÚNIOR

**A INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS AFETA POSITIVAMENTE A
ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR E O ACÚMULO DE NUTRIENTES
EM MUDAS DE *Euterpe oleracea* (Mart.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, Área de concentração Produção Vegetal em Sistemas Agrícolas, para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 17 de fevereiro de 2020

BANCA EXAMINADORA

Dra. Gisele Barata da Silva - Orientadora
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA

Dr. Bruna Sayuri Fujiyama – 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

Dr. Wagner Luiz Araújo– 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV

Dr. Walter Vellasco Duarte Silvestre- 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA– UFRA

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e pela oportunidade em nascer no seio de uma família que muito contribuiu para a formação do meu caráter. Pela saúde e sabedoria para guiar minhas escolhas. A todas as Universidades por onde passei e onde aprendi muito do que eu sei hoje: UFPA, UFRA, UFV e UNS.

A todos os professores que compartilharam seus conhecimentos comigo e foram primordiais para o meu processo de aprendizado e formação profissional. Em especial a minha orientadora Gisele Barata, a quem muito sou grato pelo acolhimento e direcionamento. Ao meu co-orientador Gledson Castro. Ao Paulo Mafra pelos ensinamentos desde o PIBIC até a banca de qualificação. Aos professores e amigos Mônica Gusmão, Denise Dias, Ana Regina, Rohane de Lima e Rafael Viana.

A toda minha família, em especial ao meu pai Ailton e a minha irmã Priscilla que hoje são o alicerce do nosso lar. A minha tia Dedé por ter me acolhido em sua casa durante esses dois anos de mestrado.

Aos meus amigos que torceram e me apoiaram durante todo o mestrado: Diego Araújo, Angie Thaís, Danielle Tavares, Gisele e Grazi Leal, Carolina Buarque, Harlyana Diniz, Laíse Furtado, Marina Moura, Nara Helena, Daniele Pinto, Rayssa Balacol, Rinácio Cruz, Peola Souza, Daihany Callegari, Wendel Batista, Naisa Leal, Yan Marques, Thaís Azevedo, Deborah Pires, Grasi Dias, Letícia Hungria, Vivian Costa, Yan Nunes, Adriano Moura, Daynara Vieira, Lorena Correa, Karine Malcher, Isael Cunha, Júnior Millomes, Igor Barros (Perdoem-me se eu esqueci alguém).

A minha madrinha Rosângela (Rô) que se faz presente em muitos momentos da minha vida, cumprindo o papel que minha mãe a ela confiou.

Aos meus amigos de Viçosa que me acolheram e me ajudaram nas análises da dissertação: Tiago e Dona Ninita, Hellen Oliveira, Rebeca Omena e todos da Unidade de Crescimento de Plantas.

A todos do Laboratório de Proteção de Plantas, em especial aos amigos que conquistei: Sidney Daniel, Aline Cardoso, Thamires Maués e Rafael Costa.

A família Andrade que me acolheu como a um filho: Dona Zélia, Seu Emê, Vitinho, Paula, Maura, Flávia e Rubens.

A todos que de alguma forma contribuíram para que esse momento fosse possível.

Dedico a minha mãe, Maria do Socorro Souza Melo, que é digna de todos os meus títulos e conquistas, por sempre ter priorizado a minha educação e por nunca ter medido esforços para me proporcionar as melhores oportunidades. Tudo o que eu sou hoje, eu devo a minha mãe. Ela construiu o meu caráter, me ensinou os melhores valores e me acolheu com todo o amor que uma mãe de verdade pode ter para com seu filho. Onde quer que você esteja mãe, eu dedico mais essa vitória a você, que está comigo diariamente, na minha mais linda saudade e dentro do lugar onde você permanece viva: o meu coração. Obrigado por tanto, te amo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos.....	30
Tabela 2 Morfologia e topologia do sistema radicular de mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.....	34
Tabela 3 Acúmulo de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.....	38
Tabela 4 Eficiência do uso de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.....	39
Tabela 5 Altura da muda (AP) em cm; diâmetro do coleto (DC) em mm; número de folhas (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) em g; massa seca da raiz (MSR) em g de mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.....	39
Tabela 6 Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais do comprimento total de raízes das mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).....	51
Tabela 7 Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais da área total da superfície de raízes das mudas de açaizeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e	

UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).....	51
Tabela 8 Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais do volume de raízes das mudas de açazeiro (<i>Euterpe oleracea</i>) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (<i>Burkholderia pyrrocinia</i>) e UFRA-92 (<i>Bacillus subtilis</i>) e <i>T. asperellum</i> (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).....	51

LISTA DE FIGURAS

- Fig 1 Volume total das raízes de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) aos cinco meses. Imagens representativas de (A) raízes de muda não inoculada (controle); (B) raízes inoculadas com a rizobactéria BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*); (C) raízes inoculadas com a rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*); (D) raízes inoculadas com o *Trichoderma asperellum* (UFRA T-06, T-09, T12 e T52)..... 34
- Fig 2 Imagens do sistema radicular de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) obtidas com o WinRHIZO Pro 2007a acoplado a um escâner. (A) Raízes de muda não inoculada; (B) raízes inoculadas com a rizobactéria BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*); (C) raízes inoculadas com a rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*); (D) raízes inoculadas com o *Trichoderma asperellum* (UFRA T-06, T-09, T12 e T52).....35
- Fig 3 Parâmetros de morfologia de raízes e subdivisão proporcional em todos os diâmetros analisados de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) não Inoculadas (controle) e Inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e MIX de *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Comprimento total de raízes (A); Área total da superfície (B); Volume total (C).....36

LISTA DE SIGLAS

AIA – Ácido indol-3-acético

AN – Acúmulo de nutrientes

ANPA – Acúmulo de nutrientes na parte aérea

ANR – Acúmulo de nutrientes na raiz

AP – Altura da planta

ASR – Arquitetura do sistema radicular

BDA – Meio de cultura batata, dextrose, ágar

Ca – Cálcio

CESM-PA – Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará

Cu – Cobre

DC – Diâmetro do coleto

EUN – Eficiência de uso nutricional

Fe - Ferro

K – Potássio

LPP – Laboratório de proteção de plantas

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

MSPA – Massa seca da parte aérea

MSR – Massa seca da raiz

NF – Número de folhas

P – Fósforo

PGPR – Plant Growth Promotion Rhizobacteria

S – Enxofre

Zn - Zinco

RESUMO

O açaizeiro (*Euterpe oleracea*) tem grande importância econômica devido ao volume de produção, exportação e consumo, que são em larga escala, comprometidos pelo crescimento inicial lento das mudas e pela alta sensibilidade ao déficit hídrico. A inoculação de microrganismos promotores do crescimento induz alterações na arquitetura do sistema radicular (ASR), resultando em maior acúmulo nutricional com conseqüente incremento na biomassa. O objetivo foi avaliar como os microrganismos alteraram a ASR e o acúmulo de nutrientes e de biomassa em mudas de açaizeiro. Os tratamentos consistiram da inoculação individual, nas raízes das mudas, de duas rizobactérias (*Burkholderia pyrrocinia* - BRM-32113 e *Bacillus subtilis* - UFRA-92), quatro isolados fúngicos de *Trichoderma asperellum* (UFRAT-06, T-09, T-12 e T-52) aplicados em mistura e um controle (não inoculado). Mudas inoculadas com *T. asperellum* apresentaram maiores incrementos no número de pontas de raízes e de ramificações laterais e aos cinco meses de idade, todas as mudas inoculadas apresentaram maior proporção de raízes grossas. O acúmulo e a eficiência no uso de nutrientes foram maiores nas mudas inoculadas com *T. asperellum*, que apresentaram maior acúmulo de biomassa com incremento de 85% na altura da muda, 204% no diâmetro do coleto, 39% no número de folhas e 190% na massa seca de raízes. Mudas inoculadas apresentaram características exigidas pelo padrão morfológico da Comissão Estadual de Sementes e Mudanças do Pará (CESM-PA) e aos cinco meses estavam prontas para estabelecimento à campo, havendo ganho em precocidade de três meses. Neste sentido, a inoculação com microrganismos, especialmente *T. asperellum*, alterou características morfológicas da parte aérea e raiz bem como o uso de nutrientes, promovendo considerável aumento em parâmetros de crescimento. Mais esforços são necessários para compreender como os microrganismos influenciam as características fisiológicas e metabólicas que podem ter contribuído para o crescimento e desenvolvimento precoce de açaizeiros jovens.

Palavras chave: Rizobactérias, *Trichoderma asperellum*, Microrganismos, Morfologia de raízes, Açaizeiro.

ABSTRACT

Açaizeiro (*Euterpe oleracea*) has great economic importance due to the volume of production, exports and consumption, which are on a large scale, compromised by the slow initial growth of seedlings and the high sensitivity to water deficit. The inoculation of growth promoting microorganisms induces changes in the architecture of the root system (ARS) resulting in greater nutritional accumulation with a consequente increase in biomass. The aim was to evaluate how the microorganisms changed the ASR and the accumulation of nutrientes and biomass in açaizeiro seedlings. The treatments consisted of individual inoculation, in the roots of the seedlings, of tow rhizobacteria (*Burkholderia pyrrocinia* – BRM-32113 and *Bacillus subtilis* – UFRA-92), four fungal isolates of *Trichoderma asperellum* (UFRAT-06, T-09, T-12 and T-52) applied in mixture and a control (no inoculated). Seedlings inoculated with *T. asperellum* showed greater increases in the number of root tips and side branches and at five months of age, all seedlings inoculated showed a higher proportion of thick roots. The accumulation and the efficiency in the use of nutrientes were higher in seedlings inoculated with *T. asperellum*, which showed greater accumulation of biomass with na increase of 85% in the height of the seedling, 204% in the diameter of the collection, 39% in the number of leaves and showed characteristics required by the morphological standard of the State Commission for Seeds and Seedlings of Pará (SCSS-PA) and at five months they were ready for establishment in the field, with na early gain of three months. In this sense, inoculation with microorganisms, especially *T. asperellum*, changed the morphological characteristics of the aerial part promoting a considerable increase in growth parameters. More studies are needed to understand how microorganisms influence the physiological and metabolic characteristics that may have contributed to the early growth and development of Young açaizeiros.

Keys words: Rizobacterias, *Trichoderma asperellum*, Microorganisms, Root morphology, Açaizeiro.

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Aspectos gerais do açazeiro (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.)	14
2.1.1 Taxonomia	14
2.1.2 Características gerais da planta	14
2.1.3 Aspectos sócio econômicos	15
2.1.4 Limitações da cultura	16
2.2 Microrganismos promotores do crescimento de plantas	17
2.2.1 Mecanismos de promoção do crescimento	18
2.2.1.1 Modulação da produção de fitormônios	18
2.2.1.2 Alteração da arquitetura do sistema radicular	20
2.2.1.3 Absorção de nutrientes	21
REFERÊNCIAS	23
3. ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR E ACÚMULO DE NUTRIENTES EM MUDAS DE <i>Euterpe oleracea</i> (Mart.) INOCULADAS COM MICRORGANISMOS	28
3.1 Introdução	28
3.2 Material e métodos	29
3.2.1 Material vegetal e condições experimentais	29
3.2.2 Preparo e inoculação dos microorganismos	30
3.2.3 Delineamento experimental	31
3.2.4 Análise do crescimento e biomassa	31
3.2.5 Determinação da arquitetura do sistema radicular	31
3.2.6 Determinação do status nutricional	32
3.2.7 Análise estatística	32
3.3 Resultados	33
3.3.1 Arquitetura do sistema radicular	32
3.3.2 Efeito dos microrganismos na nutrição das mudas	36
3.3.3 Crescimento e acúmulo de biomassa	39
3.4 Discussão	40
3.5 Conclusão	44

REFERÊNCIAS	46
TABELAS SUPLEMENTARES	51

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

As práticas de produção agrícola, pós revolução verde, são caracterizadas por uma forte dependência de insumos químicos, como adubos minerais e agrotóxicos. Tais produtos são considerados essenciais para que o Brasil seja hoje uma das maiores potências econômicas na produção agropecuária. Segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil – CNA, o país será o grande fornecedor de alimentos para o mundo, graças ao desenvolvimento da agropecuária, nas últimas quatro décadas (CNA, 2019).

Além de colocar o Brasil no *ranking* das potências do agronegócio, o uso intensivo e muitas vezes indiscriminado dos insumos químicos resulta em problemas ambientais, tais como a contaminação do lençol freático, degradação da qualidade do solo, redução da biodiversidade e contaminação do ar atmosférico. Há uma estimativa de que até o ano de 2050 a população mundial atinja cerca de 9 bilhões de pessoas, aumentando a demanda por alimentos, processos industriais e biocombustíveis, altamente dependentes da produção agropecuária (ONU, 2019). Junto à crescente demanda por produtos agrícolas e pecuários, cresce também a necessidade por uma agricultura mais sustentável, embasada em uma maior conscientização dos impactos negativos gerados pelas práticas agrícolas convencionais sobre o meio ambiente e, ainda, sobre a saúde humana (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

Os microrganismos promotores do crescimento de plantas, como alguns gêneros de fungos e bactérias, considerados de vida livre, configuram uma tecnologia capaz de gerar benefícios à produção agrícola, com a redução de custo de produção ao produtor e dos impactos negativos ao meio ambiente, resultando em um produto mais “limpo” (GLICK, 2013). Bactérias de vários gêneros que possuem a capacidade de colonizar as raízes das mudas vivem em plena atividade na região da rizosfera e, por isso, são chamadas de rizobactérias. Estas bactérias e alguns fungos, principalmente do gênero *Trichoderma*, são os microrganismos mais estudados e usados como biofertilizantes e biocontroladores de pragas e doenças que comprometem a produtividade de culturas com importância agrônoma (DUTTA et al., 2010).

A promoção do crescimento vegetal promovida por microrganismos benéficos se dá pela facilitação de recursos, como a água, solubilização de nutrientes e a modulação dos níveis hormonais nas mudas pela inibição de vários outros microrganismos fitopatogênicos e/ou insetos pragas, no que se refere à mecanismos indiretos (SHIVA et al., 2018). A inoculação desses microrganismos, capazes de otimizar a promoção do crescimento de mudas, resulta em

aumento de biomassa, da aquisição de nutrientes e da eficiência produtiva das mudas. Tais benefícios levam à redução da necessidade de fertilização química e do uso de produtos agrotóxicos para manutenção da fitossanidade em mudas com importância econômica (GLICK, 2013). Em condições de viveiro, a redução no uso de insumos químicos e o aumento da qualidade do padrão morfológico das mudas são resultados benéficos conseguidos com aplicação de microrganismos promotores de crescimento. Castro et al. (2019) relataram a redução de antracnose em mudas de açazeiro, com diminuição do número de lesões por meio da ação de rizobactérias promotoras do crescimento.

O açazeiro (*Euterpe oleracea*) é uma espécie de palmeira nativa da região amazônica, que se destaca pela produção de frutos comestíveis, importantes na dieta alimentar de populações da região Norte e na renda de muitas famílias que participam da cadeia produtiva do açaí (OLIVEIRA et al., 2000; HOMMA et al., 2014). A produção nacional é liderada pelo Estado do Pará, com um volume anual de 1,2 milhões de toneladas de frutos, em uma área plantada que supera os 219 mil hectares, entre áreas de açazais nativos e de terra firme manejadas (IBGE, 2017). A demanda pela polpa do fruto tem crescido, principalmente devido à popularização das suas características benéficas à saúde, como seu potencial antioxidante e sua composição fitoquímica (SILVA et al., 2019).

Com o aumento da valorização do açaí e demanda pelos consumidores, aumenta-se a necessidade de áreas manejadas, tanto as nativas em várzea, quanto as áreas de terra firme (SANTOS, 2013). Paralelamente à essa expansão comercial, cresce a demanda por mudas com alto padrão de qualidade e por tecnologias capazes de reduzir o tempo de viveiro, mas também garantir o bom desempenho a campo (BARBOSA et al., 2003). Para serem comercializadas, as mudas de açazeiro precisam atender o padrão morfológico estabelecido pela Comissão Estadual de Sementes e Mudanças do Estado do Pará – CESM-PA, que preconiza: altura da planta entre 40 e 60 cm; diâmetro do coleto maior que o da extremidade da muda; cinco folhas completamente expandidas e sistema radicular bem desenvolvido (MAPA, 1997).

A raiz é um órgão complexo e dinâmico, formado a partir da diferenciação constante de células, e tem a capacidade de responder às percepções do ambiente externo para desenvolver uma arquitetura apropriada às demandas da planta (PACIFICI et al., 2015). Fatores de natureza genética e ambientais moldam a arquitetura das raízes. A arquitetura da raiz define a forma tridimensional e a configuração espacial do sistema radicular, sendo um fator chave para determinar a capacidade da planta em explorar os recursos do solo (LYNCH, 1995). A topologia do sistema radicular, refere-se a como os eixos individuais da raiz estão conectados entre si por

meio da ramificação (LYNCH, 1995). Juntamente com a distribuição espacial das raízes primárias e laterais, o número e comprimento de vários tipos de raízes integram, conjuntamente, a arquitetura do sistema radicular (GROSSMAN; RICE, 2012).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são comuns na rizosfera e, além da capacidade micoparasítica em outros microrganismos, várias cepas do fungo possuem a capacidade de colonizar e crescer associadas às raízes das mudas, aumentando significativamente o desenvolvimento delas (HARMAN et al., 2008). As bactérias com mecanismos de promoção do crescimento vegetal são conhecidas por rizobactérias, pois possuem intensa atividade na rizosfera, zona que abriga, inúmeros microrganismos por grama de solo (ROESCH; TRIPLETT, 2008). Fungos e bactérias promotoras do crescimento de vegetais modulam a arquitetura das raízes, estimulando, por meio da síntese de auxinas e citocininas, alterações do volume radicular, a partir da emissão de raízes laterais e pelos radiculares (GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA, 2016). Muitos microrganismos são capazes de produzir fitohormônios e metabólitos secundários que interferem na via hormonal da planta, como ácido indol-3-acético (AIA) e citocinina exógenos. O AIA é conhecido por aumentar o crescimento das plantas, por meio do aumento na alongação e diferenciação celular, estimulando a formação de raízes mais grossas. Semelhante ao AIA, as respostas das plantas a aplicações exógenas de citocinina resultam em maior divisão das células, desenvolvimento das raízes, formação de pelos absorventes e iniciação da parte aérea (AERON et al., 2011; AMARA et al., 2015).

Tais alterações aumentam a capacidade das mudas em obter os recursos necessários ao seu pleno desenvolvimento, refletindo em aumento de biomassa, tanto das raízes, quanto da parte aérea. Registra-se que a mudança na arquitetura das raízes desempenha importante papel na eficiência das mudas de importância agrícola, no que diz respeito à maior absorção de nutrientes (CAFFARO; VIVANCO, 2011).

Um sistema radicular adequadamente desenvolvido é crucial para uma boa nutrição da planta, principalmente em solos com limitações químicas que afetam a absorção de nutrientes essenciais às mudas. A baixa disponibilidade desses nutrientes limita bastante o crescimento e, conseqüentemente, a produtividade das mudas em áreas de importância agrícola e/ou em ambientes naturais (GOJON; NACRY; DAVIDIAN, 2009). Raízes bem desenvolvidas são mais capazes de explorar o solo e obter recursos nutricionais a partir da solução química, subsidiando a planta a acumular biomassa na parte aérea e apresentar características morfológicas que atendam aos critérios de classificação qualitativa e quantitativa preconizados pela CESM-PA.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar como os microrganismos alteraram a ASR e o acúmulo de nutrientes e de biomassa em mudas de açazeiro. A hipótese é de que duas espécies de rizobactérias *Burkholderia pirrocynia* e *Bacillus subtilis* e quatro isolados fúngicos de *Trichoderma asperellum* alteram a arquitetura das raízes de mudas de açazeiro, incrementando a biomassa vegetal, com maiores acúmulos de macro e micronutrientes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.)

2.1.1 Taxonomia

No sistema de classificação de Cronquist (1981, apud Oliveira, 2000), o açazeiro está classificado da seguinte forma:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Liliopsida

Subclasse: Arecidae

Ordem: Arecales

Família: Arecaceae

Subfamília: Arecoideae

Gênero: *Euterpe*

Espécie: *Euterpe oleracea*

2.1.2 Características da planta

O açazeiro é uma palmeira cespitosa, pois cresce em touceiras. O caule é do tipo estipe, liso, delgado e ocasionalmente encurvado, podendo atingir altura de 30 metros e diâmetro em torno de 18 centímetros, sustentando um capitel de folhas compostas e pinadas, com 40 a 80 pares de folíolos opostos. A inflorescência é do tipo espádice, composta por 80% de flores masculinas e 20% de flores femininas e se desenvolve abaixo da bainha da folha. As mudas são monóicas, com flores arranjadas em tríades, sendo que as femininas ocupam posição central entre duas flores masculinas. A fecundação é cruzada, pois as flores masculinas fornecem pólen antes das flores femininas estarem receptivas, o que torna a espécie predominantemente alógama. Os frutos são do tipo drupa globosa, de coloração roxa e diâmetro em torno de 13,5

mm. O número de cachos por planta varia de um a oito, sendo mais comum mudas com três a quatro (CAVALCANTE, 2010; YAMAGUCHI et al., 2015).

O sistema radicular é fasciculado, com raízes adventícias que emergem dos estipes das mudas adultas, a uma altura de 40 cm acima da superfície do solo. As raízes são providas de lenticelas e aerênquimas, para suportarem condições de anaerobiose. A propagação das mudas pode ser tanto sexuada como assexuada, por meio do perfilhamento de mudas filhas, nas touceiras. A propagação por sementes é mais recomendada para a produção de mudas com vistas à formação de plantios comerciais (OLIVEIRA et al., 2000).

O açazeiro é uma espécie de clima tropical úmido e desenvolve-se bem em solos com pH entre 4,5 e 6,5 e em áreas de várzea, igapó e terra firme. É uma planta perene e indicada para cultivo em regiões tropicais com alto índice de pluviosidade e elevadas temperaturas (SANTOS, 2013).

2.1.3 Aspectos sócioeconômicos

O açazeiro tem seu centro de origem na Amazônia Oriental, sendo nativo do estado do Pará, com maior ocorrência no estuário do rio Amazonas. Os povoamentos ocorrem de forma natural em solos de igapó e terra firme, mas a maior frequência está em solos de várzea. Por sobreviverem à longos períodos de inundação, são bastante competitivos e provavelmente, dominante em algumas áreas. Crescem melhor em áreas abertas com abundância de sol para o desenvolvimento dos frutos, podendo estiolar em áreas muito fechadas, onde a incidência da luz do sol é menor (SHANLEY, 2005; NASCIMENTO, 2007).

A planta tem enorme potencial de aproveitamento integral da matéria prima, podendo ser utilizados desde à raiz até as folhas (HOMMA, 2006; LISBOA, 2014). O estipe pode ser utilizado para a construção civil: casas rústicas, pontes e cercas e para a produção de lenha, celulose e isolamento elétrico. As folhas podem ser usadas para a cobertura de casas e revestimento de paredes, além da fabricação de chapéus, esteiras, adornos caseiros e proteção contra a perda de umidade em plantios. As sementes são aproveitadas no artesanato e como adubo orgânico (LISBOA, 2009).

O seu valor econômico é determinado pela exploração do fruto e do palmito. O fruto é consumido de diversas maneiras, como suco, sorvete, licor e mingau. O palmito é utilizado na indústria de conservas para produção de picles (JARDIM; ANDERSON, 1987). Na região Norte, principalmente no Pará, o açaí é consumido *in natura*, fazendo parte da dieta alimentar dos paraenses. Em outros estados e até no exterior, o consumo se dá por meio de derivados da

fruta. O mercado nacional opera o suco do açaí congelado, por meio de agroindústrias, principalmente nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais. Tanto o mercado nacional, quanto o internacional visam questões de segurança do alimento, quanto a higiene sanitária das agroindústrias, a exigência da pasteurização e as análises complementares de acordo com os clientes e país de destino (PESSOA et al., 2012).

O açaizeiro tem grande importância para a economia paraense, onde vem se destacando nas últimas três décadas no cenário nacional e internacional. Neste, a produção de açaí é a principal fonte de renda das populações ribeirinhas (SEBRAE, 2018). A produção de frutos, que provinha em grande parte do extrativismo, a partir de 1990, passou a ser obtida de açaizais nativos manejados e de áreas plantadas em terra firme (RIBEIRO, 2011). A exploração do açaí também tem importância fundamental para as economias dos estados do Acre, Amapá, Maranhão, Rondônia. No Pará, a produção em 2017 foi estimada em 1,2 milhões de toneladas de frutos. Os municípios com maior produção são Abaetetuba, Igarapé Miri e Portel. Cerca de 2 bilhões de reais são movimentados a cada ano pela cadeia produtiva do açaí, que envolve mais de 300 mil pessoas, entre plantadores, transportadores, batedores e exploradores (IBGE, 2017).

O aumento do consumo de açaí, em diferentes formas, é atribuído às suas propriedades nutricionais, uma vez que é um alimento proteico, rico em antocianinas, fibras, minerais e vitamina E. É um alimento funcional devido seu potencial antioxidante, o que contribui para a melhoria da saúde humana (SILVA et al., 2019). Consequentemente, uma mudança no sistema de produção foi necessária, aumentando a área de plantios comerciais em terra firme (AZEVEDO, 2008).

2.1.4 Limitações da cultura

O açaizeiro é uma planta adaptada às condições de inundações, com grande plasticidade em diferentes estratégias morfológicas, fisiológicas e bioquímicas para superar as situações de ausência de oxigênio no solo, entretanto, apresenta alta sensibilidade às condições de déficit hídrico do solo (PEREIRA et al., 2014; SILVESTRE et al., 2016).

No Brasil, os frutos de açaí são principalmente obtidos da exploração de florestas nativas que ocorrem em regiões alagadas da Amazônia (MUÑIZ-MIRET et al., 1996). Mas as propriedades nutritivas, antioxidantes e medicinais da polpa do fruto têm estimulado o aumento da demanda por outros países e levado à necessidade da expansão de áreas em terras altas, onde

a água do solo é abastecida pelas chuvas ou por sistemas de irrigação (HEINRICH et al., 2011; MORAES et al., 2005).

A expansão dos plantios comerciais para atender às demandas do mercado consumidor é comprometida pelo crescimento inicial lento da planta, pelo baixo vigor de formação de algumas mudas e, principalmente, pela alta sensibilidade da planta ao déficit de água. A expansão ocorre em áreas livres da influência das marés e, portanto, a reposição da água no solo, geralmente acontece devido às chuvas que variam muito a frequência e a distribuição ao longo do ano, bem como em relação às regiões amazônicas (DAVIDSON et al., 2012).

O primeiro ano de estabelecimento das mudas em campo é o mais sensível, principalmente para mudas com sistema radicular pouco desenvolvido, o qual compromete a adaptação da mesma em local definitivo. Apesar do regime pluviométrico na região Norte ser alto, tendo superado os 500 mm durante os meses de setembro a novembro de 2018 (INMET, 2019), períodos de estiagem estão cada vez mais frequentes e em áreas de açaçais não irrigados, a falta de água limita o desenvolvimento da cultura. Assim, a seca bem definida e durante muito tempo representam um problema para o crescimento do açazeiro (SILVA et al., 2019).

Mudas com raízes malformadas apresentam baixa plasticidade em condições de limitada disponibilidade hídrica e possuem reduzida capacidade em explorar o solo para absorver água (REIS et al., 1989). Os microrganismos que promovem o crescimento de mudas são alternativa eficiente para formação de mudas com características morfológicas mais adequadas às condições de campo e ao estabelecimento da cultura.

2.2 Microrganismos promotores do crescimento de plantas

No solo ocorrem, constantemente, processos físicos, químicos e biológicos. Estes últimos são devido à presença e atuação de microrganismos, benéficos ou não às plantas. Dentre os benéficos, existem bactérias e fungos de vida livre, habitantes naturais do solo, capazes de promover o crescimento vegetal (ORTÍZ-CASTRO et al., 2009). Estes microrganismos atuam mais precisamente na região rizosférica, onde há grande concentração de compostos orgânicos exsudados pelas raízes das mudas, que atuam como sinais microbianos, estimulando a quimiotaxia e as relações entre mudas e microrganismos. Por colonizarem a rizosfera das mudas e contribuírem para o aumento do crescimento e produção de mudas, elas se tornam importantes para a agricultura (VACHERON et al., 2013). Eles aumentam a produtividade dos cultivos

agrícolas, o conteúdo nutricional nas mudas e suprimem o crescimento de patógenos (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

São vários os gêneros de Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Mudanças (Plant Growth Promotion Rhizobacteria – PGPR) (BRIMECOMBE et al., 2001): *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Azospirillum* (BENIZRI; BAUDOIN; GUCKERT, 2010). Além das rizobactérias, fungos do gênero *Trichoderma* são mais estudados e utilizados como promotores de crescimento; são comuns na rizosfera e possuem a capacidade de colonizar e crescer associados às raízes das mudas, aumentando, significativamente seu desenvolvimento (HARMAN et al., 2008).

Para serem considerados promotores de crescimento em mudas, os microrganismos precisam sobreviver ao ambiente onde foram inoculados, se estabelecer e multiplicar-se para garantir a densidade populacional. Isso porque existem microrganismos nativos, chamados de indígenas, que irão competir com os microrganismos inoculados por espaço e nutrientes (DE WEGER et al., 1995). Outra característica importante que confere competitividade à essas bactérias é a sua motilidade, que permite uma maior colonização a partir do ponto de inoculação (PARKE, 1991).

A comunicação entre os microrganismos e as raízes das mudas se dá por um processo chamado de “quimiotaxia”, coordenado por exsudatos radiculares liberados ao solo na forma de compostos orgânicos. Estes, sinalizam a atração das comunidades microbianas, principalmente as que são capazes de metabolizar esses compostos e se proliferarem nessa microrregião (CAFFARO; VIVANCO, 2011).

2.2.1 Mecanismos de promoção do crescimento

Os mecanismos de ação desses microrganismos são variados, podendo ser diretos e/ou indiretos. Os mecanismos diretos são aqueles que acontecem internamente às mudas, afetando o seu metabolismo. Os indiretos ocorrem fora da planta (SIDDIKEE, 2010). Os mecanismos diretos relacionam-se à facilitação de recursos e à modulação dos níveis de hormônios nas mudas, seja pela liberação de reguladores de crescimento, seja porque eles agem como coletores de hormônios liberados pelas mudas (GLICK, 2013; GOVINDASAMY et al., 2010). Já os mecanismos indiretos incluem a inibição de vários fitopatógenos que dificultam e até impedem o crescimento e desenvolvimento pleno das mudas, atuando como agentes de biocontrole (GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA, 2016).

2.2.1.1 Modulação da produção de fitormônios

A produção de fitormônios por microrganismos é outra forma de promover o crescimento das mudas. Hormônios como auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico são relatados como produzidos e/ou estimulados por microrganismos de vida livre, habitantes da rizosfera. Esses hormônios podem mediar processos incluindo o aumento, a divisão e a extensão de células de raízes. O ácido indol-3-acético (AIA) é um tipo de auxina bastante estudado, por estar envolvido na relação planta-microrganismo (GOSWAMI et al., 2016). Tal hormônio controla vários estádios da planta, como o alongamento e divisão celular, diferenciação do tecido e auxílio à dominância apical, todos envolvidos no crescimento e desenvolvimento das mudas. O AIA liberado por microrganismos promotores de crescimento afeta, principalmente, o sistema radicular, aumentando seu tamanho e peso, número de ramificações e a área de superfície em contato com o solo (GUTIÉRREZ-LUNA et al., 2010). Todas essas alterações, levam às raízes, a um aumento na capacidade de explorar o solo, melhorando o aporte nutricional e a capacidade de crescimento das mudas (RAMOS SOLANO et al., 2008). Em milho (*Zea mays*) e *Arabidopsis thaliana*, a inoculação com *Trichoderma* afetou a arquitetura do sistema radicular, aumentando a formação de raízes laterais e o crescimento de pêlos radiculares, sendo essas alterações correlacionadas com o aumento da produtividade das mudas. *Bacillus amyloliquefaciens* colonizando mudas de *Arabidopsis* alteraram a estrutura das raízes e promoveram o crescimento das mudas (ASARI et al., 2017; ORTÍZ-CASTRO et al., 2009).

As citocininas representam outra classe de fito-hormônios que são produzidos por microrganismos que promovem o crescimento vegetal (GERMIDA; WALLEY, 1996). Ao longo dos anos, mais de 30 diferentes compostos de citocininas promotoras de crescimento foram encontrados em mudas associadas a microrganismos. Bactérias do gênero *Pseudomonas* promoveram o crescimento de rabanete e trigo, pela produção desse hormônio (GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA, 2016). *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas aeruginosa* promoveram o crescimento em plântulas de arroz (NIELSEN et al., 1999). As citocininas estão envolvidas em processos fisiológicos e de desenvolvimento, como: sinalização nutricional, expansão foliar, crescimento radicular e ramificação (PRIMO et al., 2015).

As giberelinas influenciam muitos processos de desenvolvimento de mudas. Esses hormônios são translocados, das raízes para a parte aérea das mudas. Os efeitos na parte aérea são perceptíveis, principalmente quando os microrganismos produzem também auxinas que estimulam o aumento do sistema radicular (ORHAN et al., 2006). Os processos nos quais a

giberelina está envolvida são a germinação de sementes, o alongamento do caule, floração e fixação de frutos.

2.2.1.2 Alteração da arquitetura do sistema radicular

Espécies de bactérias e fungos são capazes de detectar a planta hospedeira e iniciar suas estratégias de colonização na região rizosférica, produzindo substâncias reguladoras do crescimento de mudas, como auxinas e citocininas, que estão envolvidas no controle da dominância apical e do desenvolvimento de raízes (ORTÍZ-CASTRO et al., 2009). As citocininas estimulam a divisão de células vegetais, controlam a diferenciação dos meristemas das raízes, induzem a proliferação dos pelos radiculares, mas inibem a formação das raízes laterais e o alongamento das raízes primárias (RIEFLER et al., 2006). A arquitetura do sistema radicular é modificada pelo nível de auxina endógena e por estímulos ambientais, como a disponibilidade de água e nutrientes (VERBON; LIBERMAN, 2016).

A arquitetura do sistema radicular (ASR) desempenha importante papel na adequação das mudas ao meio em que estão se desenvolvendo, bem como no seu desempenho. Descreve a forma e como está arranjado o sistema radicular no solo, criado pela angulação, taxa de crescimento e tipo de raízes individuais (LI; ZENG; LIAO, 2016). A ASR é fundamental, não apenas para a ancoragem das mudas, mas para a absorção de água e nutrientes do solo. Essa ASR é moldada pelas interações entre componentes genéticos e ambientais, estabelecendo a estrutura com a qual a planta irá explorar o solo, mediante a resposta de estímulos externos que ditam o crescimento vegetal (ROGERS; BENFEY, 2015). Além disso o sistema radicular está em contato próximo a uma gama ampla de populações de microrganismos do solo (CAFFARO; VIVANCO, 2011). A modificação do sistema radicular por PGPR implica a produção de hormônios vegetais e outros sinais que levam ao aumento da produção de raízes laterais e ao desenvolvimento de pelos absorventes.

Para se desenvolverem de forma desejável, as mudas necessitam de uma gama de nutrientes, entre macro e micro, sendo muitos limitantes ao crescimento e desenvolvimento vegetal. Dada a baixa e variável disponibilidade da maioria dos nutrientes minerais no solo, as raízes passam a ter um papel crucial para a aquisição desses íons, de modo a garantir o bom funcionamento dos processos fisiológicos das mudas (LYNCH, 1995). A modificação da arquitetura radicular é reconhecida como uma estratégia importante para uma melhor absorção de fósforo, principalmente em condições deficientes desse nutriente, permitindo às mudas, um melhor desempenho em solos limitantes (FITTER, 2002).

2.2.1.3 Absorção de nutrientes

Esses microrganismos também promovem o crescimento das mudas otimizando a absorção de macronutrientes como o nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e micronutrientes como o boro (B), manganês (Mn), cloro (Cl), ferro (Fe), zinco (Zn), molibdênio (Mo) e cobre (Cu). Essa otimização do uso de nutrientes está associada à capacidade de microrganismos promotores de crescimento de plantas em realizar fixação biológica de nitrogênio, mineralizar matéria orgânica e solubilizar nutrientes do solo (AZARMI, 2011; GOWSAM, 2016).

O nitrogênio é um dos macronutrientes mais limitantes ao crescimento e desenvolvimento das mudas e algumas cepas de bactérias são responsáveis por fixar biologicamente o N atmosférico. Estas podem ser classificadas como simbióticas, do gênero *Rhizobium* - que se associam às raízes de mudas leguminosas e produzem nódulos – e de vida livre, que não possuem especificidade por mudas (RAMOS SOLANO; BARRIUSO; GUTIÉRREZ MAÑERO, 2008). Por viverem muito próximas às raízes, ou seja, na rizosfera, essas bactérias, ao fixarem o N da atmosfera, não o utilizam em benefício próprio, mas sim da própria planta.

Depois do N, o P é o nutriente mais limitante às plantas de açaizeiro (VIÉGAS et al., 2004). Mesmo estando presente em grandes quantidades nos solos brasileiros, esse macronutriente encontra-se na forma não lábil, em que a planta não consegue absorver. Microrganismos promotores de crescimento mineralizam o P orgânico, por meio de diferentes mecanismos para solubilizar as formas insolúveis de fosfato (VACHERON et al., 2013). O principal mecanismo é baseado na secreção de ácidos orgânicos, a partir do metabolismo do açúcar, onde utilizam dos sacarídeos exsudados pelas mudas e produzem compostos orgânicos, liberando-os no solo. Esses compostos ácidos liberados pelas rizobactérias atuam como quelantes de cálcio, ferro e alumínio, que precipitam o fósforo por meio de ligações fortes (GOWSAM, 2016). Esses microrganismos reduzem o pH do solo ao liberarem para o meio substâncias ácidas, como os ácidos acético, láctico, málico, succínico, tartárico, oxálico e cítrico (TESFAYE et al., 2003). Microrganismos solubilizadores de fosfato como, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* e *Trichoderma* convertem fosfatos insolúveis em solúveis, por meio de processos de acidificação, quelação, reações de troca e produção de ácido glucônico (AZARMI et al., 2011; MONTAÑO et al., 2014). O envolvimento de

microrganismos na solubilização de fosfatos é conhecido desde o ano de 1903 (COMAS et al., 2013).

Assim, os microrganismos promotores do crescimento são alternativas eficazes para a formação de mudas com um sistema radicular mais ramificado e desenvolvido, capaz de explorar melhor o solo para absorção de água e nutrientes, e consequente aumento da alocação de biomassa vegetal. Características importantes, principalmente em mudas de açazeiro, que precisam atender o padrão morfológico da CESM-PA e que possuem alta demanda por água e sensibilidade ao déficit de hídrico.

REFERÊNCIAS

- AERON, A.; KUMAR, S.; PANDEY, P.; MAHESHWARI, D. K. (2011). Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in agrobiolgy: Crop ecosystems* (pp. 1–36). **Springer Berlin Heidelberg**. doi:10.1007/978-3-642-18357-7_1
- AMARA, U.; KHALID, R.; HAVAT, R. (2015). Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem* (pp. 87–103). **Springer International**. doi:10.1007/978-3-319-24654-3
- AZARMI, R.; HAGIEGHRARI, B.; GIGLOU, A. (2011). Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 5850-5855. doi:10.5897/AJB10.1600
- AZEVEDO, J. R. D. R. DE; KATO, O. R. R. Sistema de manejo de açazais nativos praticados por ribeirinhos das ilhas de Paquetá e ilha Grande, Belém, Pará. **VII Encontro da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção**, n. 1985, p. 15, 2008.
- BARBOSA, Z.; SOARES, I.; CRISÓSTOMO, L. A. Crescimento e absorção de nutrientes por mudas de gravioleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 519522, 2003.
- BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root Colonization by Inoculated Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. v. 3157, 2010. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, n. 5, p. 557–574, 2001
- BRIMECOMBE, M. J.; LEIJ, F. A.; LYNCH, J. M. Nematode community structure as a sensitive indicator of microbial perturbations induced by a genetically modified *Pseudomonas fluorescens* strain. **Biology and Fertility of Soils**, v. 34, n. 4, p. 270–275, 2001.
- CAFFARO, M.; VIVANCO, J. M. The effect of root exudates on root architecture in *Arabidopsis thaliana*. p. 241–249, 2011.
- CANNON, W. A. A Tentative Classification of Root Systems, Vol . 30 , No . 4 (Oct ., 1949), pp.542-548 Published by: **Ecological Society of America STabela** URL: <http://www.jstor.org/sTabela/1932458> . v. 30, n. 4, p. 542–548, 2014.
- CASTRO, G. L. S. et al. Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açai palm seedlings by rhizobacteria. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 9, p. 1–12, 2019.
- CAVALCANTE, P. Frutas comestíveis da Amazônia. 7. ed. Belém: CEJUP, 2010, 282 p. CNA, 2019. CNA - Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/>>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.
- COMAS, L. H. et al. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. NOV, p. 1–16, 2013.
- DE WEGER, L. A. et al. Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 17, n. 4, p. 221–227, 1995.

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

FITTER, A (2002) Characteristics and Functions of Root Systems. **Plant Roots** 15–32. <https://doi.org/10.1201/9780203909423.ch2>

GERMIDA, J. J.; WALLEY, F. L. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting patterns and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-grown spring wheat. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, n. 2, p. 113–120, 1996.

GLICK, B. R. and help to feed the world. **Microbiological Research**, p. 1–10, 2013.

GOSWAMI, D.; THAKKER, J. N.; DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 1–19, 2016.

GOVINDASAMY, V.; SENTHILKUMAR, M. (2010). *Bacillus* and *Paenibacillus* spp: Potential PGPR for sustainable agriculture. **Plant Growth and Health Promoting Bacteria**, doi: 10.1007/978-3-642-13612-2_15

GROSSMAN, J. D.; RICE, K. J. Evolution of root plasticity responses to variation in soil nutrient distribution and concentration. 2012.

GUTIÉRREZ-LUNA, F. M.; LÓPEZ-BUCIO, J.; ALTAMIRANO-HERNÁNDEZ, J. Plant growth-promoting rhizobacteria modulate root-system architecture in *Arabidopsis thaliana* through volatile organic compound emission. p. 75–83, 2010.

HARMAN, G. E. et al. CHANGING PARADIGMS ON THE MODE OF ACTION AND USES OF TRICHODERMA SPP. FOR BIOCONTROL. p. 1–6, 2008.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. (2011) Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) - a phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. *Phytochem Lett* 4:10–21

HOMMA, A. K. O. et al. Açai: novos desafios e tendências. In: HOMMA, A. K. O. (Ed.) *Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação*. Brasília: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. p. 133–148.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 20 de agosto de 2019.

JARDIM, M. A. G; ANDERSON, A. B. Manejo de populações nativas do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico: resultados preliminares. **Boletim de pesquisa florestal**, Curitiba, dez. 1987, p. 1 -19.

LI, X.; ZENG, R.; LIAO, H. Improving crop nutrient efficiency through root architecture modifications. v. 58, n. 3, 2016.

- LISBOA, P. L.B. Aurá: Comunidades & Florestas, Belém: MPEG, 2009, 234 p.
- LYNCH, J. Root architecture and plant productivity. **Plant Physiology**, v. 109, n. 1, p. 7–13, 1995.
- ORAES, B.C.; COSTA, J. M. N.; COSTA, A. C. L.; COSTA, M. H. (2005) Spatial and temporal variation of precipitation in the State of Pará. **Acta Amazon** 35:207–214
- MAPA. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Delegacia Federal de Agricultura no Pará. Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará. Normas técnicas e padrões para a produção de mudas fiscalizadas no Estado do Pará. Belém, 1997. 40 p.
- NASCIMENTO, W. Conseqüências fisiológicas da dessecação em sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Revista Brasileira de, 2007
- NIELSEN, M. N.; SØRENSEN, J. Chitinolytic activity of *Pseudomonas fluorescens* isolates from barley and sugar beet rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 30, n. 3, p. 217–227, 1999.
- OLIVEIRA, M. do S. P. de. Seleção fenotípica de açaizeiros para produção de frutos. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000, 5p. (Comunicado técnico, nº 34).
- ORHAN, E. et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. **Scientia Horticulturae**, v. 111, n. 1, p. 38–43, 2006.
- ORTÍZ-CASTRO, R. et al. The role of microbial signals in plant growth and development. n. August, p. 701–712, 2009.
- PACIFICI, M. et al. Assessing species vulnerability to climate change. **Nature Climate Change**, v. 5, n. 3, p. 215–225, 2015.
- PARKE, J. L. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. **The Rhizosphere and Plant Growth**, p. 33–42, 1991.
- PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R.A.; DEL CERRO, P.; ESPUNY, M.R.; JIMÉNEZ GUERRERO, I.; LÓPEZ-BAENA, F.J.; OLLERO, F.J.; CUBO, T. 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. *Microbiol. Res.* 169, 325–336.
- PESSOA, J. D. C.; ALMEIDA, G. H. de. Tecnologias para inovação nas cadeias euterpe. Teixeira editores. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 343 p.
- PRIMO, E. D. et al. **Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem**. [s.l: s.n.]. v. 12 QUEIRÓZ, J. DE; MOCHIUTTI, S. Produção de mudas de açaí. Embrapa Amapá., 2001.
- RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, n. February, p. 0–1, 2019.

RAMOS SOLANO, B.; BARRIUSO, J.; GUTIÉRREZ MAÑERO, F. J. Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). **Plant-Bacteria Interactions: Strategies and Techniques to Promote Plant Growth**, p. 41–54, 2008.

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

RIEFLER, M. et al. Arabidopsis Cytokinin Receptor Mutants Reveal Functions in Shoot Growth, Leaf Senescence, Seed Size, Germination, Root Development, and Cytokinin Metabolism. **The Plant cell**, v. 18, n. January, p. 40–54, 2006.

ROESCH, L. F. W.; TRIPLETT, E. W. Biodiversity of diazotrophic bacteria within the soil, root and stem of field-grown maize. p. 91–104, 2008.

ROGERS, E. D.; BENFEY, P. N. ScienceDirect Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, n. Figure 1, p. 93–98, 2015.

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

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. A importância do açaí no norte do Brasil e o viés sustentável de sua produção. 2018. Disponível em:<http://www.sebraemercados.com.br/a-importancia-do-acai-no-norte-do-brasil-e-o-vies-sustentavel-de-sua-producao/>>. Acesso em: 22 de agosto de 2019.

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

SHIVA, S. et al. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. 2018.

SIDDIKKEE, M. A. Isolation, Characterization, and Use for Plant Growth Promotion Under Salt Stress, of ACC Deaminase-Producing Halotolerant Bacteria Derived from Coastal Soil. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 11, p. 1577–1584, nov. 2010.

SILVA, M. P. et al. Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 31, n. March, p. 226–234, 2019.

TESFAYE, M. et al. Influence of enhanced malate dehydrogenase expression by alfalfa on diversity of rhizobacteria and soil nutrient availability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 1103–1113, 2003.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINÉ, B.; MOENE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. (2013) **Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning**. 4:1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>

VERBON, E. H.; LIBERMAN, L. M. Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 3, p. 218–229, 2016.

VIÉGAS, I. de J.M.; FRAZÃO, D.A.C.; THOMAZ, M.A.A. et al (2004) Limitações nutricionais para o cultivo de açaizeiro em latossolo amarelo textura média, Estado do Pará. **Rev Bras Frutic** 26:382–384. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452004000200052>

YAMAGUCHI, K.K. de L., Pereira, L.F.R., Lamarão, C.V., Lima, E.S., Veiga-Junior, V.F. da. (2015). Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. *Food Chemistry*, v.179, p.137-151.

3. A INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS AFETA POSITIVAMENTE A ARQUITETURA DO SISTEMA RADICULAR E O ACÚMULO DE NUTRIENTES EM MUDAS DE *Euterpe oleracea* (Mart.)

3.1 Introdução

O açazeiro (*Euterpe oleracea*) é uma palmeira com grande importância econômica para o estado do Pará, maior produtor e consumidor do fruto, e para outros estados do Brasil e outros países consumidores de açaí. Apesar de adaptada a condições de inundação, a espécie é altamente sensível ao déficit hídrico que compromete, em larga escala, o estabelecimento de mudas para a formação de plantios comerciais, principalmente no primeiro ano em condições de campo (SILVESTRE et al., 2017). Segundo a Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará – CESM-PA, mudas de açazeiro devem apresentar um padrão morfológico para a formação de áreas produtivas. Além do número de folhas maior ou igual a cinco, da altura entre 40 e 60 cm e do diâmetro do coleto basal maior que o do ápice, as mudas precisam ter um sistema radicular bem desenvolvido e geralmente, adquirem essas características com oito a dez meses de idade (MAPA, 1997).

O sistema radicular, além de ancorar as mudas ao solo, é responsável pela absorção de água e nutrientes (ROGERS et al., 2015). O maior sistema radicular das mudas de açazeiro pode ser uma estratégia de tolerância ao déficit hídrico e pode contribuir para a aclimação das mudas no campo, inclusive durante os períodos mais secos (SILVESTRE et al., 2016). Uma alternativa para acelerar o crescimento e estimular o padrão morfológico das mudas, é o uso de microrganismos, como rizobactérias e fungos do gênero *Trichoderma* (CASTRO et al., 2019a; AZARMI et al., 2011).

Tais microrganismos induzem alterações fisiológicas e morfológicas nas mudas como a modificação da arquitetura do sistema radicular (ASR), notadamente com incrementos na proliferação de raízes e taxas de alongação, com consequente aumento na área superficial (EL ZEMRANY et al., 2006). A ASR está relacionada às características de morfologia (superfície, diâmetro e pelos radiculares) e topologia (ramificações) (LYNCH, 1995). Isso pode fornecer uma vantagem de crescimento em ambientes com pouca água e influenciar diretamente a parte aérea da muda, favorecendo o incremento de biomassa devido ao maior acúmulo de nutrientes (ROGERS et al., 2015). Além disso, características como o maior número de pontas de raízes, de ramificações laterais, comprimento e área da superfície foram correlacionadas com a capacidade da muda em suportar condições de déficit hídrico e de interceptar a absorção de

macro e micronutrientes da solução do solo, principalmente o fósforo (JOCHUM et al., 2019; FITTER, 2002). Neste sentido, a ASR está intimamente associada à capacidade da muda em absorver água e nutrientes com alta e baixa mobilidade no solo.

A alteração da ASR pelos microrganismos implica em maior exploração do solo, pelas plantas, para obtenção de água e nutrientes (VACHERON et al., 2013). Características como o maior comprimento, área da superfície e número de ramificações do sistema radicular, proporcionam aumento no contato das raízes com fontes de nutrientes de baixa e alta mobilidade, dissolvidos na solução do solo (LYNCH, 1995; EL ZEMRANY et al., 2007). A maior absorção de nutrientes permite que as plantas os acumulem mais, nas raízes e na parte aérea, promovendo seu crescimento pelo maior acúmulo de biomassa vegetal.

Além da alta demanda por água, mudas de açaizeiro apresentam crescimento inicial lento, o que também limita a expansão de áreas produtivas (CASTRO et al., 2019a). Os microrganismos podem ser uma alternativa promissora pois alteram a ASR promovendo maior acúmulo de nutrientes e de biomassa, melhorando a absorção de água e solução do solo, com ganho de precocidade na formação das mudas de açaizeiros. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar como os microrganismos alteraram a ASR e o acúmulo de nutrientes e de biomassa em mudas de açaizeiro. A hipótese é de que duas espécies de rizobactérias *Burkholderia pirrocynia* e *Bacillus subtilis* e quatro isolados fúngicos de *Trichoderma asperellum* alteram a arquitetura das raízes de mudas de açaizeiro, incrementando a biomassa vegetal, com maiores acúmulos de macro e micronutrientes.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material vegetal e condições experimentais

As sementes de açaizeiro cultivar “BRS Pai d’Égua”, de uma mesma muda matriz, foram semeadas em bandejas de polietileno (50 x 33 x 10 cm) contendo 2,5 L de substrato formado a partir de fibra de coco triturada (Golden Mix). Aos 32 dias após a germinação, as plântulas em estágio de muda palito e altura de aproximadamente 13 cm foram transmutadas para sacos plásticos (15 x 25 cm/comprimento x altura) contendo solo com características apresentadas na Tabela 1. As mudas foram cultivadas em condições de viveiro, durante 5 meses, no município de Mocajuba, PA que tem clima do tipo Am, com temperatura elevada (média de 26,3 °C, máxima de 32,4 °C e mínima de 24,1 °C) e umidade relativa do ar sempre acima

de 50%, segundo dados da estação meteorológica OMM:82263 e a classificação de Köppen Geiger (ALVARES et al., 2013).

Tabela 1. Características químicas do solo antes da aplicação dos tratamentos

pH	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H + Al	SB	T	MOS	P	K	S	B	Zn	Mn	Cu	Fe	V
H ₂ O	-----cmolc dm ⁻³ -----			-----			dag.dm ⁻³	-----			-----mg dm ⁻³ -----			-----		
5,6	0,1	3,8	0,9	4,8	4,8	9,6	3,5	15	35	18	1,1	1,2	42,4	0,7	155	50

P e K – Extrator Melich I; Ca, Mg e Al – Extrator KCl 1 mol L⁻¹; H+Al – Extrator acetado de cálcio; SB – Soma de bases; T – CTC potencial; V – Saturação por bases; m – Saturação por alumínio; MOS – Matéria orgânica do solo (oxi-redução); B – Extrator água quente; Zn, Mn, Cu e Fe – Extrator Melich I

3.2.2 Preparo e inoculação dos microrganismos

Foram utilizados dois tipos de microrganismos, classificados em rizobactérias e fungos. A rizobactéria da espécie *B. pyrrocinia* (BRM-32113) e os fungos *T. asperellum* (FRANÇA et al., 2014) foram isolados de solo rizosférico do cultivo de arroz e a rizobactéria *B. subtilis* (UFRA-92) (CASTRO et al., 2019), isolada de solo do cultivo de açaizeiro (FILIPPI et al., 2011). Os isolados das duas espécies de rizobactérias foram cultivados e aplicados individualmente nas mudas. Foram usados quatro isolados de *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52), cultivados separadamente e aplicados em mistura. Todos da coleção microbiana do Laboratório de Proteção de Mudas da Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Belém, Pará.

As rizobactérias foram cultivadas em meio de cultura sólido 523 (KADO & HESKETT, 1970), no período de 48 horas, a uma temperatura de 28 °C (FILIPPI et al., 2011). As suspensões bacterianas foram preparadas em água destilada esterilizada e sua concentração ajustada em espectrofotômetro para 10⁸ UFC (Unidades formadoras de colônia) (MAFIA et al., 2009).

Os fungos foram cultivados em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), sob incubação de cinco dias, à 26 °C. De cada um dos quatro isolados de *T. asperellum*, preparou-se uma suspensão na concentração de 10⁸ conídios/ml, os quais foram misturados de forma homogênea e inoculados em arroz autoclavado, no período de uma semana (RÊGO et al., 2014).

Antes do transplântio para os sacos plásticos, mudas de açaizeiro com raízes de 7 cm de comprimento, foram imersas em 500 ml de suspensão bacteriana e fúngica durante 20 minutos de acordo com cada tratamento. As mudas não inoculadas, como tratamento controle, foram imersas apenas em água destilada e esterilizada. Uma semana após o transplântio, foi feita uma

segunda aplicação das respectivas suspensões na dose de 50 ml via rega próximo a região do coleto das mudas.

3.2.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso (DIC) composto por 4 tratamentos [controle, duas rizobactérias (BRM-32113 e UFRA-92) e a mistura de quatro isolados de *Trichoderma asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52)] com 5 repetições, em condições de viveiro.

3.2.4 Análise do crescimento e biomassa

O crescimento e o acúmulo de biomassa das mudas foram avaliados aos cinco meses após o transplântio das mudas ao viveiro. A altura das mudas (AP) foi mensurada com régua metálica graduada, entre a base inferior do coleto até o ápice da folha mais longa, enquanto o diâmetro do coleto (DC) foi obtido por meio de paquímetro digital com precisão de 0,2 mm. O número de folhas foi avaliado a partir da contagem direta das folhas completamente expandidas. As mudas foram seccionadas em parte aérea e raiz, e secas em estufa à 65 °C, pesadas diariamente, até atingirem peso constante. As raízes, antes de secas em estufa, foram cuidadosamente lavadas e acondicionadas em recipientes contendo uma solução etanólica à 30%, para posterior leitura em escâner.

3.2.5 Determinação da arquitetura do sistema radicular

A arquitetura do sistema radicular das mudas foi avaliada no software WinRHIZO Pro 2007a (Régent Instrum. Quebec, Canadá), acoplado a um scanner profissional Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU). Foi utilizada uma definição de 400 (dpi) para as medidas (JOCHUM et al., 2019). As raízes foram transferidas da solução etanólica 30% para uma bandeja em acrílico de 30 cm de largura e 40 cm de comprimento contendo água destilada. Foi possível a obtenção de imagens em escala de cinza, baseado em um método de esqueletização em três dimensões (largura, altura e profundidade) sendo evitada ao máximo a sobreposição das raízes. O sistema foi usado para obter as seguintes variáveis do sistema radicular: comprimento total, área superficial total, volume, diâmetro médio, densidade, número de pontas e ramificações bem como o comprimento, área da superfície e volume em cinco classes de diâmetro (0-1, 1-2, 2-3, 3-4 e >4,5 mm).

3.2.6 Determinação do status nutricional

O solo em que as mudas foram cultivadas, bem como suas folhas e raízes, foram analisados quanto às suas características de fertilidade e nutricionais, respectivamente. Foram coletadas 21 amostras compostas de solo, correspondendo à cada uma das 20 unidades experimentais (4 tratamentos x 5 repetições) e uma amostra composta do solo usado antes da aplicação dos tratamentos. Cada amostra de 200 g foi armazenada em saco plástico, devidamente identificada e enviada para análises. Foram quantificadas características químicas do solo que estão apresentadas na Tabela 1.

Para a análise do material vegetal, amostras da parte aérea e de raízes foram secas em estufas de circulação forçada de ar (72 horas à 65 °C), moídas em moinho do tipo Wiley, armazenadas em tubos Falcon e enviadas ao laboratório para determinação dos teores nutricionais, conforme descrito por Silva (2009). Os teores dos macronutrientes: fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) e dos micronutrientes: zinco (Zn), manganês (Mn), ferro (Fe) e cobre (Cu) no tecido vegetal foram extraídos por digestão ácida em micro-ondas, envolvendo a aplicação de 2 mL de HNO₃ + 2 mL de H₂O + 5 mL de água ultrapura em 250 mg de amostras (ARAÚJO et al., 2002). As amostras digeridas foram lidas e quantificadas em relação ao teor nutricional, por meio de espectrômetro e destilador (JOHNSON & ULRICH, 1959).

Com base na produção de biomassa e na concentração de nutrientes nas folhas e nas raízes das mudas, foram obtidos dados de acúmulo e da eficiência do uso de nutrientes (KIST et al., 2015). Os acúmulos dos nutrientes (AN) K, Mg, P, Ca, S, Cu, Fe, Mn e Zn nas raízes (ANR) e na parte aérea (ANPA) foram estimados pela multiplicação dos valores de teores desses nutrientes pelos valores de biomassa seca, conforme a expressão $AN_x = \text{teor} \times MS$, onde x é o nutriente em estudo e MS a massa seca. A eficiência do uso nutricional (EUN) foi obtida pela razão da biomassa seca pelos teores de nutrientes, calculada por meio da expressão $EU_x = MS/\text{teor}$ (MOLL et al., 1982).

3.2.7 Análise estatística

Os dados de crescimento e biomassa, arquitetura do sistema radicular e status nutricional foram submetidos à análise de variância e as médias das variáveis foram comparadas pelo teste de Scot-Knott ($P < 0,05$), por meio do software Sisvar versão 5.7 (Computer statistical analysis system) (FERREIRA, 2014).

3.3 Resultados

3.3.1 Arquitetura do sistema radicular

Todos os microrganismos promoveram alterações na arquitetura das raízes das mudas de açazeiro, destacando entre os tratamentos o *T. asperellum*. O maior crescimento das raízes pode ser observado pelo maior comprimento total, densidade e volume. Ademais, a maior área da superfície total e diâmetro médio foram observados em mudas inoculadas. O comprimento cumulativo das raízes de mudas inoculadas aumentou em até 2,5 x. Mudanças inoculadas alcançaram incrementos em 132% na densidade e 269% no volume de raízes (Figura 1). A área da superfície aumentou em 3 x e o diâmetro médio foi incrementado em 121%. Nos parâmetros de topologia radicular, as mudas inoculadas obtiveram incrementos de 97 e 103% no número de pontas ou de raízes, e ramificações, respectivamente (Tabela 2). Imagens esqueletizadas das raízes inoculadas mostram o maior número de diferentes raízes em relação ao controle (Figura 2).

O comprimento total, a área superficial total e o volume de raízes foram determinados de acordo com o diâmetro das raízes agrupados em intervalos de cinco classes: A (0-1), B (1-2), C (2-3), D (3-4) e E (>4,5 mm) (Figura 3; Tabelas Suplementares). O comprimento total das raízes de todas as mudas de açazeiro é constituído, principalmente por raízes finas, compreendidas nas classes de A e B e mudas inoculadas apresentaram mais de 86% dessas raízes (Figura 3A). Em relação à variável de área superficial, mudas inoculadas apresentaram 87% de raízes com diâmetro de 0-2 mm (Figura 3B). Mudanças inoculadas apresentaram também 64% de raízes finas para o volume de raízes, entre as classes de A e B (Figura 3C). Mesmo com menor participação de raízes finas na variável de volume radicular, em relação ao controle, mudas inoculadas apresentaram maior porcentagem dessas raízes (> 60%), do que das raízes mais grossas compreendidas nas classes de C, D e E (< 40%) (Figura 3C).



Figura 1: Volume total das raízes de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) aos cinco meses. Imagens representativas de (A) raízes de muda não inoculada (controle); (B) raízes inoculadas com a rizobactéria BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*); (C) raízes inoculadas com a rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*); (D) raízes inoculadas com o *Trichoderma asperellum* (UFRA T-06, T-09, T12 e T52).

Tabela 2. Morfologia e topologia do sistema radicular de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.

Variáveis	Controle	<i>B. pyrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
Morfologia				
Comprimento total das raízes (m)	10,28 \pm 0,97c	15,96 \pm 2,95b	16,15 \pm 1,45b	23,82 \pm 1,18a
Área total da superfície (cm ²)	126,6 \pm 13,68c	303,7 \pm 42,23b	291,9 \pm 17,5b	385,4 \pm 6,32a
Diâmetro médio (mm)	0,48 \pm 0,01c	0,98 \pm 0,08a	0,79 \pm 0,10b	1,06 \pm 0,02a
Densidade (cm m ⁻³)	1028 \pm 97,2c	1596 \pm 295b	1615 \pm 145b	2382 \pm 118a
Volume total (cm ³)	1,44 \pm 0,13c	4,19 \pm 0,30b	4,25 \pm 0,14b	5,32 \pm 0,06a
Topologia				
Número de pontas	5581 \pm 521b	10993 \pm 1805a	7572 \pm 1025b	11001 \pm 382a
Ramificações	5064 \pm 480d	7160 \pm 1128c	8210 \pm 778b	10293 \pm 491a

Médias seguidas de mesma letra não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Nas variáveis de comprimento, área da superfície e volume, dentro das classes de diâmetro C, D e E, mudas inoculadas apresentaram mais raízes, com destaque para *T. asperellum*, comparado a mudas não inoculadas (Figura 3). No comprimento total, os

microrganismos contribuíram para aumentar em 4x e 6x a porcentagem de raízes nas classes de diâmetro C e D, respectivamente (Figura 3A). Mudanças inoculadas apresentaram 24 x mais raízes com diâmetro >4,5mm (Figura 3A). Na área superficial, o incremento em raízes com 2-3mm foi de 231%. Mudanças inoculadas apresentaram no mínimo 5 x mais raízes com 3-4mm e raízes com diâmetro >4,5mm foram 17 x mais presentes nessas mudas. O volume de raízes foi 2,5 x maior na classe C em mudas inoculadas com BRM-32113. Na classe D, mudas inoculadas com *T. asperellum* apresentaram no mínimo 3 x mais raízes e na classe E o aumento foi de 13 x.

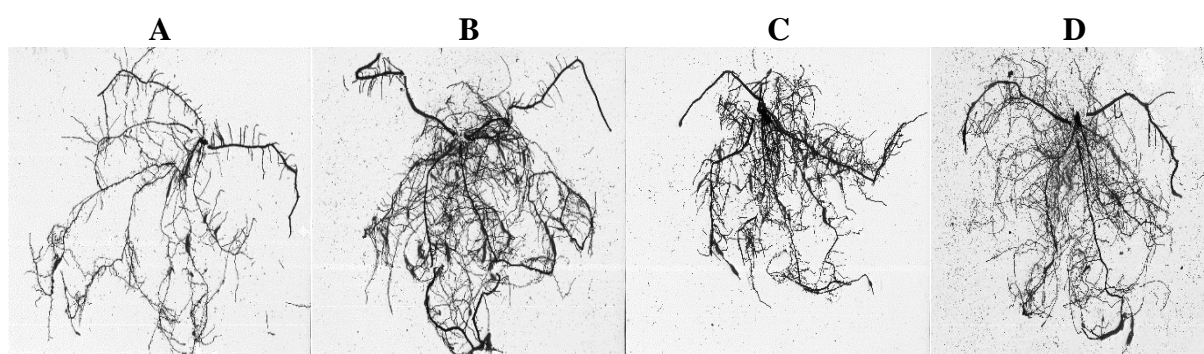


Figura 2. Imagens do sistema radicular de mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) obtidas com o WinRHIZO Pro 2007a acoplado a um escâner. (A) Raízes de muda não inoculada; (B) raízes inoculadas com a rizobactéria BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*); (C) raízes inoculadas com a rizobactéria UFRA-92 (*Bacillus subtilis*); (D) raízes inoculadas com o *Trichoderma asperellum* (UFRA T-06, T-09, T12 e T52).

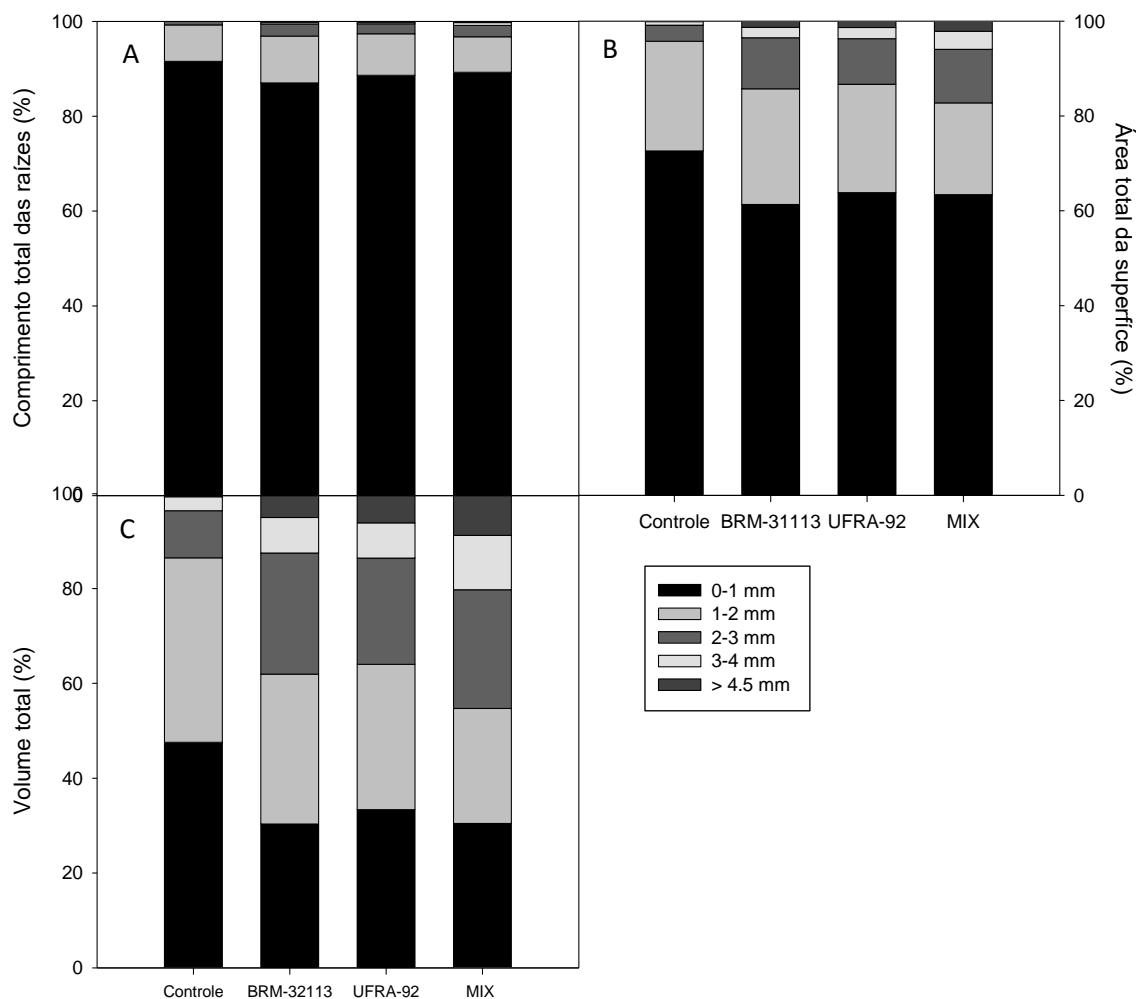


Figura 3. Parâmetros de morfologia de raízes e subdivisão proporcional em todos os diâmetros analisados de mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Comprimento total de raízes (A); Área total da superfície (B); Volume total (C).

3.3.2 Efeito dos microrganismos na nutrição das mudas

Os microrganismos promoveram incrementos no acúmulo de macronutrientes e de micronutrientes na parte aérea e raízes das mudas de açaizeiro (Tabela 3). Mudas inoculadas com *T. asperellum* apresentaram incrementos de 90 e 148% em acúmulo de K e P na parte aérea, respectivamente, quando comparado ao controle. O incremento no acúmulo de Ca, Mg e S na parte aérea de mudas inoculadas foi de 132, 119 e 89%, respectivamente (Tabela 3). O acúmulo de micronutrientes na parte aérea também diferiu quando comparado às mudas não inoculadas. O maior acúmulo de Mn foi observado em folhas de mudas inoculadas com BRM-32113, sendo 532% o incremento em relação ao controle (Tabela 3). Os micronutrientes Cu, Fe

e Zn também foram mais acumulados nas mudas inoculadas, sendo o acúmulo de Cu e Fe 2 x maior e o de Zn 4 x mais do que o encontrado nas mudas controle.

Nas raízes das mudas inoculadas também se observou maior acúmulo de macro e micronutrientes, com exceção do Mg que não diferiu do acumulado em mudas tratadas e as controle (Tabela 3). O acúmulo de P nas raízes de mudas com *T. asperellum* foi de 222% a mais em relação as não inoculadas e o de Ca foi 2, 4 e 5 x maior nas mudas inoculadas com BRM-32113, UFRA-92 e *T. asperellum*, respectivamente. O acúmulo dos micronutrientes nas raízes com *Trichoderma* foi em 286% de Fe, em 295% de Mn e em 724% de Zn (Tabela 3).

Diferenças entre as mudas com e sem inoculação foram observadas na eficiência de utilização de todos os macronutrientes estudados (K, Mg, P, Ca e S), com destaque às mudas com *T. asperellum* (Tabela 4). A utilização dos macronutrientes (K e P) foi 202% e 110% mais eficiente em mudas inoculadas. O enxofre foi mais eficientemente utilizado em mudas inoculadas com a rizobactéria BRM-32113 e com *T. asperellum* com 234 e 244% a mais de eficiência no uso desse nutriente em mudas de açazeiro, respectivamente. O índice de eficiência de utilização dos micronutrientes foi superior para Fe (600%), Mn (111%) e Zn (167%) em mudas inoculadas com *T. asperellum* (Figura 4).

Tabela 3. Acúmulo de macronutrientes (g kg⁻¹) e micronutrientes (mg kg⁻¹) em mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRAT-06,T-09,T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.

		Macronutrientes (g.kg⁻¹)				
		K	Mg	P	Ca	S
Controle	Raiz	1,03 \pm 0,15b	0,50 \pm 0,08a	0,37 \pm 0,06b	0,90 \pm 0,11c	1,30 \pm 0,15b
	Folha	6,2 \pm 0,62b	1,06 \pm 0,18b	1,82 \pm 0,45b	3,57 \pm 0,60a	4,28 \pm 0,29b
	Total	7,24 \pm 0,64b	1,56 \pm 0,19b	2,19 \pm 0,48b	4,48 \pm 0,62b	5,58 \pm 0,19b
<i>B.pyrrrocinia</i>	Raiz	2,22 \pm 0,30a	0,62 \pm 0,02a	1,13 \pm 0,02a	2,49 \pm 0,26b	2,97 \pm 0,40a
	Folha	15,12 \pm 1,67a	2,80 \pm 0,57a	5,25 \pm 0,57a	9,18 \pm 1,46a	8,80 \pm 0,49a
	Total	17,35 \pm 1,88a	3,42 \pm 0,59a	6,39 \pm 0,59a	11,67 \pm 0,63a	11,77 \pm 0,83a
<i>B.subtilis</i>	Raiz	1,87 \pm 0,23a	0,73 \pm 0,04a	1,13 \pm 0,07a	4,00 \pm 0,51a	4,05 \pm 0,32a
	Folha	11,49 \pm 1,17a	1,99 \pm 0,20a	4,03 \pm 0,50a	6,98 \pm 0,66a	8,66 \pm 1,11a
	Total	13,36 \pm 1,17a	2,72 \pm 0,18a	5,17 \pm 0,46a	10,99 \pm 0,77a	12,71 \pm 1,03a
<i>T.asperellum</i>	Raiz	1,77 \pm 0,03a	0,66 \pm 0,07a	1,19 \pm 0,04a	4,79 \pm 0,51a	3,84 \pm 0,40a
	Folha	11,79 \pm 1,60a	2,32 \pm 0,31a	4,51 \pm 0,49a	8,27 \pm 1,12a	8,09 \pm 0,74a
	Total	13,56 \pm 1,59a	2,98 \pm 0,34a	5,17 \pm 0,47a	13,06 \pm 1,18a	11,94 \pm 0,71a
		Micronutrientes (mg.kg⁻¹)				
		Cu	Fe	Mn	Zn	
Controle	Raiz	11,69 \pm 1,30b	449,55 \pm 33,92d	15,55 \pm 1,34c	10,81 \pm 0,06c	
	Folha	9,23 \pm 1,37b	218,8 \pm 43,2b	32,12 \pm 16,1c	23,12 \pm 9,25d	
	Total	20,93 \pm 2,51b	668,31 \pm 71,7c	47,67 \pm 7,32c	33,93 \pm 4,11c	
<i>B.pyrrrocinia</i>	Raiz	47,75 \pm 2,61a	1070,23 \pm 43,0c	43,16 \pm 1,71b	31,92 \pm 0,71b	
	Folha	22,59 \pm 1,99a	459,1 \pm 12,9a	203,00 \pm 37,1a	93,86 \pm 14,8a	
	Total	70,34 \pm 4,38a	1529,35 \pm 48,0b	246,16 \pm 17,6a	125,78 \pm 6,38a	
<i>B.subtilis</i>	Raiz	46,72 \pm 5,87a	1366,55 \pm 84,8b	59,00 \pm 5,18a	24,36 \pm 0,99b	
	Folha	15,64 \pm 2,13a	186,3 \pm 11,4b	87,25 \pm 14,5b	69,73 \pm 14,7b	
	Total	62,35 \pm 5,00a	1552,83 \pm 94,7b	146,25 \pm 7,79b	94,09 \pm 6,60b	
<i>T.asperellum</i>	Raiz	63,48 \pm 9,87a	1734,26 \pm 54,59a	61,49 \pm 3,51a	89,09 \pm 6,15a	
	Folha	18,42 \pm 2,39a	246,4 \pm 13,1b	88,5 \pm 9,13b	51,43 \pm 13,5c	
	Total	81,90 \pm 9,51a	1980,96 \pm 49,7a	149,99 \pm 4,32b	140,52 \pm 7,21a	

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre tratamentos para um mesmo tecido pelo teste de Scott Knott para $P \leq 0,05$.

Tabela 4. Eficiência do uso de macronutrientes (g kg^{-1}) e micronutrientes (mg kg^{-1}) em de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.

Nutrientes	Controle	<i>B. pyrrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
Macronutrientes				
K	0,45 \pm 0,03b	1,32 \pm 0,09a	1,14 \pm 0,10a	1,36 \pm 0,15a
Mg	2,51 \pm 0,14b	8,31 \pm 0,89a	6,39 \pm 0,62a	7,30 \pm 0,74a
P	1,94 \pm 0,18b	3,89 \pm 0,50a	3,07 \pm 0,26a	4,08 \pm 0,64a
Ca	0,86 \pm 0,05b	1,98 \pm 0,17a	1,77 \pm 0,13a	2,34 \pm 0,20a
S	0,59 \pm 0,04c	1,97 \pm 0,11a	1,41 \pm 0,13b	2,03 \pm 0,26a
Micronutrientes				
Cu	0,35 \pm 0,03b	0,77 \pm 0,06a	0,78 \pm 0,06a	0,95 \pm 0,11a
Fe	0,01 \pm 0,004d	0,03 \pm 0,003c	0,05 \pm 0,004b	0,07 \pm 0,007a
Mn	0,09 \pm 0,012b	0,10 \pm 0,009b	0,12 \pm 0,015b	0,19 \pm 0,024a
Zn	0,12 \pm 0,01b	0,20 \pm 0,01b	0,18 \pm 0,01b	0,32 \pm 0,05a

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre tratamentos pelo teste de Scott Knott para $P \leq 0,05$

3.3.3 Crescimento e acúmulo de biomassa

Mudas inoculadas aumentaram todos os parâmetros biométricos e de biomassa avaliados em relação ao controle. Surpreendentemente, mudas inoculadas com *T. asperellum* exibiram incrementos de 85% na altura, 63% no diâmetro do coleto e 36% no número de folhas. O aumento na massa seca da parte aérea aumentou 2,4 vezes e a massa seca das raízes apresentou aumento de 2,9 vezes (Tabela 5).

Tabela 5. Altura da muda (AP) em cm; diâmetro do coleto (DC) em mm; número de folhas (NF); massa seca da parte aérea (MSPA) em g; massa seca da raiz (MSR) em g de mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52). Valores são apresentados como média \pm erro padrão de cinco mudas.

Parâmetros	Controle	<i>B. pyrrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
AP	26,7 \pm 0,64d	42,7 \pm 1,88c	46,5 \pm 1,17b	49,5 \pm 1,59a
DC	5,21 \pm 0,19b	7,61 \pm 0,59a	7,53 \pm 0,18a	8,51 \pm 0,34a
NF	2,80 \pm 0,48b	3,90 \pm 0,59a	3,70 \pm 0,46a	3,80 \pm 0,47a
MSPA	1,66 \pm 0,62b	4,30 \pm 0,63a	3,56 \pm 0,77a	4,10 \pm 1,18a
MSR	0,72 \pm 0,19b	1,76 \pm 0,83a	1,76 \pm 1,03a	2,12 \pm 0,71a

Médias seguidas de mesma letra não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

3.4 Discussão

O presente estudo é o primeiro relato das alterações na arquitetura do sistema radicular - ASR moduladas por rizobactérias e *Trichoderma asperellum* que implicam no maior acúmulo nutricional e crescimento em mudas de açazeiro (*Euterpe oleracea*). Os benefícios dos microrganismos na estimulação do crescimento foram reportados em outras palmeiras, como o açazeiro (CASTRO et al., 2019), a palma de óleo (OM et al., 2009) e o coqueiro (GEORGE et al., 2013) com incremento no sistema radicular e na eficiência de absorção de água e nutrientes.

A ASR é definida como a configuração espacial das raízes e determina a distribuição tridimensional dos diferentes tipos radiculares no perfil do solo e muitos fatores ambientais podem afetá-la, como os microrganismos promotores do crescimento de plantas (LYNCH, 1995; VACHERON et al., 2013). Os efeitos benéficos desses microrganismos resultam principalmente de alterações morfofisiológicas do sistema radicular, notadamente com aumento nas taxas de proliferação e alongamento das raízes, aumentando assim a área total da superfície (GOSWAMI et al., 2016). Compreender o funcionamento, a quantidade e a distribuição de raízes são fundamentais para o entendimento fisiológico da muda, uma vez que o sistema radicular, além de ancorá-la ao solo, absorver e armazenar água e nutrientes, também está em contato próximo com uma ampla gama de microrganismos do solo (ROBINSON et al., 2003). O sistema radicular do açazeiro é do tipo fasciculado ou adventício VII, segundo a classificação de Cannon (2014), constituído por raízes primárias, formadas na embriogênese e adventícias e laterais, formadas na fase pós embrionária, que se distribuem em classes de diâmetro consideradas finas (0-2mm) e grossas (>3mm) (CASTELLANOS et al., 2001; LIMA, 2012; LEÃO et al., 2014).

No presente estudo, descreve-se o sistema radicular das mudas controle com menor biomassa, comprimento cumulativo, área superficial total, volume de raízes, diâmetro médio, número de pontas e de ramificações. Em relação às classes de diâmetro, as diferenças foram em raízes grossas, sendo menos presentes em mudas controle dentro das variáveis de comprimento (<1%), área superficial (4%) e volume (14%). Por outro lado, quando as mudas foram inoculadas, as alterações no sistema radicular resultaram em aumento dessas variáveis e na proporção de raízes grossas (Tabela 2). Essas alterações nos parâmetros morfológicos e topológicos da ASR indicam que os microrganismos utilizados nas mudas de açazeiro alteram as raízes e o desenvolvimento da muda, estimulando a diferenciação prematura de raízes laterais e adventícias (ARSHAD et al., 1997). Assim como verificado em mudas de açazeiro

inoculadas com as rizobactérias BRM-32113 e UFRA-92 que resultou em estímulo de raízes de primeira, segunda e terceira ordens (CASTRO et al., 2019a).

Alterações na ASR podem resultar de interferências dos microrganismos nas principais vias hormonais envolvidas na regulação do desenvolvimento das raízes, como auxina e citocinina (VACHERON et al., 2013). Os microrganismos podem afetar a proporção de auxina/citocinina por meio da produção exógena ou indução de biossíntese desses fitormônios ou de metabólitos secundários na muda, resultando em maior sinalização das rota e equilíbrio da razão desses dois hormônios moldam a arquitetura das raízes (GOSWAMI et al, 2016; ORTÍZ-CASTRO et al., 2009). O equilíbrio entre citocinina e auxina é um regulador chave da organogênese das mudas e molda a arquitetura das raízes (ALONI et al., 2006).

Classificar as raízes quanto ao seu diâmetro é importante para caracterizar o sistema radicular com relação à participação de raízes finas e grossas dentro das variáveis de morfologia e topologia das raízes (NAKAHATA et al., 2017), sendo que os tipos de raízes apresentam funções específicas para a fisiologia das mudas (LYNCH, 1995). Nesse sentido, os resultados mostram que o sistema radicular das mudas de açaizeiro apresenta raízes divididas em cinco classes, consideradas finas (0-1 e 1-2 mm) e grossas (2-3, 3-4 e >4,5mm) em mudas controle e inoculadas com microrganismos (Figura 3). Raízes grossas são responsáveis pela sustentação da muda ao solo e por serem mais lignificadas, possuem maior capacidade para romper barreiras físicas e aumentar a exploração radicular no solo. Devido ao seu maior diâmetro, essas raízes são menos vulneráveis à dessecação, ataque de patógenos e danos físicos, apresentando maior longevidade (FITTER, 2002).

Raízes com menor diâmetro podem aumentar a condutância hidráulica e a superfície em contato com a água do solo, sendo uma característica de aumento da produtividade durante a seca (COMAS et al., 2013). Raízes mais finas permitem que o sistema radicular explore o volume do solo de forma mais eficiente, reduzindo o investimento necessário para formação e manutenção do sistema radicular (FORDE et al., 2001). Mudas inoculadas apresentaram, dentro do sistema radicular, mais de 96, 82 e 54% de raízes finas (<2mm) na composição das variáveis de comprimento, área da superfície e volume, respectivamente (Figura 3). Por apresentar alta sensibilidade ao déficit hídrico, mudas de açaizeiro com adequada proporção de raízes finas e significativa quantidade de raízes grossas conseguem se estabelecer melhor, como observado por Castro et al. (2019a), onde a inoculação dessas rizobactérias atenuaram os efeitos do déficit hídrico e diminuíram a mortalidade em mudas de açaizeiro (CASTRO et al., 2019b).

Os resultados de morfologia e topologia mostram que os microrganismos além de induzirem a formação precoce de raízes mais grossas, estimularam o aumento no comprimento e na área superficial total das raízes. Características como essas são importantes para mitigar os efeitos negativos do déficit hídrico, principalmente no primeiro ano de estabelecimento em campo (SILVESTRE et al., 2016), pois o sistema radicular se torna mais eficiente em explorar o solo e a maior área de superfície aumenta o contato da raiz com água e nutrientes (ASARI et al., 2017). O aumento no comprimento de raízes, área da superfície radicular e número de pontas foram correlacionadas por Jochum et al. (2019) à tolerância ao estresse hídrico e melhorias na manutenção da produtividade de plantas sob escassez de água.

Em adição, os microrganismos estimularam a proliferação de raízes laterais em mudas de açaizeiro, por meio do maior número de ramificações. O padrão de ramificação dos sistemas radiculares influencia a força de fixação da raiz, pela rigidez e resistência em explorar o solo (LYNCH, 1995). Mudas inoculadas provavelmente possuem maior capacidade de sustentação ao solo, reduzindo a possibilidade de tombamento e morte no campo. Estudos mostram que a inoculação de microrganismos alterou a arquitetura das raízes de mudas de *Zea mays* em maior número de pontas, comprimento cumulativo e área da superfície (EL ZEMRANY et al., 2007). Em mudas de *Arabidopsis* inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* o sistema radicular teve a estrutura alterada, com aumento da raiz primária (ASARI et al., 2017). Além disso, o padrão de ramificação das raízes, no espaço e no tempo, produz o maior retorno em termos de recursos hídricos utilizados pela muda (FITTER, 2002). A rizobactéria BRM-32113 estimulou o padrão de ramificação das raízes de açaizeiro, resultado que pode estar correlacionado a mitigação dos danos do déficit hídrico e manutenção do desempenho fotossintético, como obtido por Castro et al. (2019b).

A mobilidade iônica no solo, controlando a captação dos íons pela planta, leva a uma percepção da importância da distribuição radicular (ROBINSON et al., 2003), por conseguinte as alterações na ASR, além de favorecer a maior captação de água, conseqüentemente melhoram a absorção de nutrientes que estão dissolvidos na solução do solo (DWIVEDI, 2018). A análise nutricional das mudas mostrou que todas as rizobactérias (BRM-32113 e UFRA-92) e principalmente o *T. asperellum* aumentaram o acúmulo de nutrientes, nas raízes e parte aérea das mudas (Tabela 3). Fitter (2002) propôs que a topologia influencia a eficiência do transporte de água e de solutos para a parte aérea, pois determina a maneira com a qual os elementos condutores são dispostos. Resultados obtidos em experimentos com solução nutritiva

evidenciam que os macronutrientes interferem na produção de matéria seca em mudas jovens de açazeiro, na seguinte ordem: $K > Mg > P > N > Ca > S$ (VIÉGAS et al., 2004).

Os nutrientes de baixa mobilidade como o P e o K foram altamente acumulados em mudas de açazeiro inoculadas que pode ser atribuído ao maior comprimento, área da superfície e grau de ramificação permitiram maior interceptação de novas fontes desses nutrientes (SIMONSZ, 2008). Em uma análise de características associadas à maior captação de P no trigo, Fitter (2002) relatou que a densidade do comprimento radicular foi a característica mais importante para a aquisição desse nutriente. Em adição ao comprimento, características como área da superfície, distribuição de raízes e grau de ramificação podem auxiliar na aquisição de outros nutrientes com pouco movimento no solo como o Cu, Fe, Mn e Zn (SIMONSZ, 2008), como observado nas mudas de açazeiro inoculadas. Um benefício importante dos microrganismos para a absorção de nutrientes pelas mudas de açazeiro, vem da sua capacidade em aumentar o contato das raízes com fontes desses nutrientes no solo, e características como o diâmetro das raízes e a densidade controlam o comprimento e a área superficial do sistema radicular, que não apenas interfere na quantidade de superfície que interage entre raízes e solo, mas também na superfície colonizada por microrganismos que auxiliam na aquisição desses nutrientes (JOCHUM et al., 2019).

Novas pontas de raiz podem ser mais importantes para a captação de recursos móveis, como nutrientes de alta mobilidade no solo (ROBINSON et al., 1991). Nossos resultados mostram que mudas de açazeiro inoculadas apresentaram um sistema radicular volumoso devido ao maior número de pontas de raízes estimulados por ação dos microrganismos, com conseqüente maior acúmulo de Ca, S e Mg. Dado que as pontas de raízes e as superfícies radiculares são locais de captação de nutrientes, e os dados dessas variáveis foram maiores em mudas inoculadas, é provável que seja um dos mecanismos pelo qual os microrganismos estimularam o maior acúmulo nutricional (VARDHARAJULA et al., 2011).

Mudas inoculadas foram mais eficientes no uso de nutrientes e segundo Kist et al. (2015) essa eficiência é importante para o estabelecimento de cultivos economicamente viáveis, pois a quantidade de nutrientes absorvidos e acumulados determina a eficiência nutricional das mudas. Mudas com melhor eficiência no uso de nutrientes contribuem para redução do uso de fertilizantes químicos e os microrganismos promotores do crescimento apresentam potencial como bioestimulantes (ORHAN et al., 2006). Além das alterações na ASR moduladas por microrganismos, processos como a fixação de N, produção de sideróforos e a solubilização de nutrientes por meio da produção e liberação de ácidos orgânicos ao solo, são mecanismos pelos

quais esses microrganismos podem atuar como bioestimulantes (WEGER et al., 1995; RAMOS SOLANO et al., 2008). Segundo Singh et al., (2014) fungos do gênero *Trichoderma* são microrganismos importantes da rizosfera capazes de solubilizar P, N, Fe, Cu, Zn e Mn nos solos. Os resultados do presente estudo mostram que as mudas inoculadas com rizobactérias obtiveram maior acúmulo, principalmente de Fe, Cu, Zn e Mn (Tabela 3) e foram mais eficientes no uso de todos eles (Tabela 4). O maior acúmulo de Mn nessas mudas pode ser devido à alta atividade dessas rizobactérias no papel de redutoras biológicas do Mn na rizosfera (NOGUEIRA et al., 2002). O acúmulo desses micronutrientes pode favorecer o desempenho fotossintético, como observado em mudas de açazeiro inoculadas com rizobactérias (BRM-32113 e UFRA-92) (CASTRO et al., 2019b), pois atuam como cofatores de enzimas e transportadores de elétrons na fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2017).

O maior desenvolvimento do sistema radicular induzido pelos microrganismos foi diretamente associado ao crescimento da parte aérea que pode ser atribuído à maior absorção de água e de nutrientes, resultante da maior área de contato da superfície das raízes com o solo (AMIR et al., 2005). Segundo Eloy (2013) parâmetros como altura da muda e o diâmetro do coleto estão relacionados à qualidade da muda. O acúmulo de biomassa possivelmente está associado ao melhor estado nutricional das mudas, como demonstrado pelo acúmulo de macro e micronutrientes e pela eficiência no uso destes. Como observado na Tabela 5, as mudas que foram inoculadas possuem características morfológicas adequadas que são preconizadas pela CESH-PA, podendo ir para o campo mais prematuramente, o que representa um ganho de três a cinco meses de precocidade.

3.5 Conclusão

Os resultados apresentados indicam que a inoculação com microrganismos promove alterações na arquitetura do sistema radicular em mudas inoculadas levando a raízes mais ramificadas, com maior número de pontas e raízes mais grossas, aos cinco meses de idade. Em adição, um maior acúmulo de nutrientes, incluindo os macronutrientes K, Mg, P, Ca e S, foi também observada, sugerindo que o sistema radicular tenha sido capaz de explorar, de forma efetiva, um maior volume do solo. Ademais, a promoção do crescimento radicular aqui observada, e necessária em alta frequência sob condições de campo, torna esses microrganismos uma tecnologia sustentável e potencial para o aumento da absorção de nutrientes e redução da

dependência de fontes químicas e não renováveis de nutrientes como o P, pois melhora a eficiência de uso nutricional pelas plantas. Registre-se, portanto, que essas alterações aqui observadas, provavelmente, auxiliam as mudas a se estabelecerem às condições de campo, principalmente no primeiro ano de estabelecimento. É plausível sugerir, portanto, que os benefícios da inoculação com esses microrganismos sejam mantidos, mesmo em plantas adultas e já produtivas. Não obstante, trabalhos futuros são ainda necessários para identificar as alterações metabólicas e hormonais moduladas pelos microrganismos e sua associação com o crescimento e produtividade em condições de campo.

REFERÊNCIAS

- ALONI, R.; ALONI, E.; LANGHANS, M.; ULLRICH, C. I. (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Ann. Bot.** 97, 883–893. doi: 10.1093/aob/mcl027
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C. et al (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22:711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- AMIR, H.G.; SHAMSUDDIN, Z.H.; HALIMI, M.S. et al (2005) Enhancement in nutrient accumulation and growth of oil palm seedlings caused by PGPR under field nursery conditions. **Commun Soil Sci Plant Anal** 36:2059–2066. <https://doi.org/10.1080/00103620500194270>
- ARAÚJO, G.C.L.; GONZALEZ, M.H.; FERREIRA, A.G. et al (2002) Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochim Acta Part B At Spectrosc** 57:2121–2132. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00164-7)
- ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W.T. (1997) Plant Growth-Regulating Substances in the Rhizosphere: Microbial Production and Functions. **Adv Agron** 62:45–151. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60567-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60567-2)
- ASARI, S.; TARKOWSKÁ, D.; ROLCIK, J. et al (2017) Analysis of plant growth-promoting properties of *Bacillus amyloliquefaciens* UCMB5113 using *Arabidopsis thaliana* as host plant. **Planta** 245:15–30. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2580-9>
- AZARMI, R.; HAJIEGHRARI, B.; GIGLOU, A. (2011) Effect of trichoderma isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. **African J Biotechnol** 10:5850–5855. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1600>
- BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. (2001) Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Sci Technol** 11:557-574. <https://doi.org/10.1080/09583150120076120>
- CANNON, W.A. (2014) A Tentative Classification of Root Systems Source: Ecology, Vol. 30, No. 4 (Oct., 1949), pp. 542-548 Published by: **Ecological Society of America** Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/1932458>. 30:542–548
- CASTRO, G.L.S.; RÊGO, M.C.F. et al (2019a) Açaí palm seedling growth promotion by rhizobacteria inoculation. **Brazilian Journal of Microbiology** <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2>
- CASTRO, G.L.S.; SILVA JÚNIOR, D.D.; VIANA, R.G. et al (2019b) Photosynthetic apparatus protection and drought effect mitigation in açaí palm seedlings by rhizobacteria. **Acta Physiol Plant** 41:1–12. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2952-4>

CASTELLANOS, J.; JARMILLO, V.J.; STANFORD JR, R.L.; KAUFFMAN, J.B. (2001) Slash-and-burn effects on fine root biomass and productivity in a tropical dry forest ecosystem in México. **For Ecol Manage** 148:41–50

COMAS, L.H.; BECKER, S.R.; CRUZ, V.M.V. et al (2013) Root traits contributing to plant productivity under drought. **Front Plant Sci** 4:1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442>

DWIVEDI, P. (2018) Trichoderma asperellum T42 Reprograms Tobacco for Enhanced Nitrogen Utilization Efficiency and Plant Growth When Fed with N Nutrients. 9: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00163>

EL ZEMRANY, H.; SONIA, Z.; HALLETT, P.D. et al (2007) Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1. 109–118. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9178-0>

EL ZEMRANY, H.; CORTET, J.; PETER, M.L. et al (2006) Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum* CRT1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilisation. **Soil Biol Biochem** 38:1712–1726. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.11.025>

ELOY, E.; CARON, B.O.; SCHMIDT, D. et al (2013) Avaliação da qualidade de mudas de eucalyptus grandis utilizando parâmetros morfológicos. **Floresta** 43:373–384. <https://doi.org/10.5380/rev.v43i3.26809>

FERREIRA, D.F. (2014) Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciênc. agrotec.** [online] vol.38, n.2 [citado 2015-10-17], pp. 109-112. Disponível em: ISSN 1413-7054. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; SILVA-LOBO, V.L.; CÔRTEZ, M.V.C.B.; MORARES, A.J.G.; PRABHU, A.S. (2011) Leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biol Control** 58(2):160–166. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.016>

FITTER, A (2002) Characteristics and Functions of Root Systems. **Plant Roots** 15–32. <https://doi.org/10.1201/9780203909423.ch2>

FORDE, B.; LORENZO, H. (2001) The nutritional control of root development. **Plant Soil** 232:51–68. <https://doi.org/10.1023/A:1010329902165>

FRANÇA, S.K.S. DE; CARDOSO, A.F.; LUSTOSA, D.C. et al (2014) Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agron Sustain Dev** 35:317–324. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0244-3>

GEORGE, P.; GUPTA, A.; GOPAL, M. et al (2013) Multifarious beneficial traits and plant growth promoting potential of *Serratia marcescens* KiSII and *Enterobacter* sp. RNF 267 isolated from the rhizosphere of coconut palms (*Cocos nucifera* L.). **World J Microbiol Biotechnol** 29:109–117. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1163-6>

- GOSWAMI, D.; THAKKER, J.N.; DHANDHUKIA, P.C. (2016) Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food Agric** 19:1–19. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500>
- JOCHUM, M.D.; MC WILLIAMS, K.L.; BORREGO, E.J. et al (2019) Bioprospecting Plant Growth-Promoting Rhizobacteria That Mitigate Drought Stress in Grasses. **Front Microbiol** 10:1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02106>
- JOHNSON, C.M.; ULRICH, A. (1959) **Analytical methods for use in plants analyses**. Los Angeles: University of California. p. 32-33 (Bulletin, 766)
- KADO, C.I.; HESKETT, M.G. (1970) Selective Media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. **Phytopathology**. 60(6):969. <https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969>
- KIST, V.; SILVEIRA, G. da; COSTA, P.M. de A.; OLIVEIRA, M.W. de; BARBOSA, M.H.P. (2015) Nutrient use efficiency in sugarcane cultivars. <http://dx.doi.org/10.15361/1984-5529.2015v43n2p117-125>
- LEÃO, F.M.; MIRANDA, I.S.; JARDIM, F.C.S. (2014) Fine root biomass in gaps of ‘Terra Firme’ forest in eastern Amazonia. 130–137 <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2014.006>
- LIMA, T.T.S.; MIRANDA, I.S.; VASCONCELOS, S.S. (2012) Fine-root production in two secondary forest sites with distinct ages in Eastern Amazon. 42:95–104
- LYNCH, J. (1995) Root architecture and plant productivity. **Plant Physiol** 109:7–13. <https://doi.org/10.1104/pp.109.1.7>
- MAFIA, R.G.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A. et al (2009) Microbiolização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto. **Rev Arvore** 33:789–797. <https://doi.org/10.1590/s0100-67622009000500002>
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Delegacia Federal de Agricultura no Pará. Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Pará. Normas técnicas e padrões para a produção de mudas fiscalizadas no Estado de Pará. Belém, 1997. 40p.
- MOLL, R.H.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A. (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** 74(3):562–564.
- MUÑIZ-MIRET, N.V.R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MENDELSON, R.O. (1996) The economic value of managing the açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in the floodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. **For Ecol Manag** 87:163–173
- NAKAHATA, R.; OSAWA, A. (2017) Fine root dynamics after soil disturbance evaluated with a root scanner method. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3361-3>
- NOGUEIRA, M.A.; CARDOSO, E.J.B.N. (2002) Interações microbianas na disponibilidade e absorção de manganês por soja. **Pesqui Agropecu Bras** 37:1605–1612. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2002001100012>

- OM, A.C.; GHAZALI, A.H.A.; KENG, C.L.; ISHAK, Z. (2009) Microbial inoculation improves growth of oil palm plants (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Trop Life Sci Res** 20:71–77
- ORHAN, E.; ESITKEN, A.; ERCISLI, S. et al (2006) Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. **Sci Hort** (Amsterdam) 111:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.09.002>
- ORTÍZ-CASTRO, R.; CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; LÓPEZ-BUCIO, J. (2009) The role of microbial signals in plant growth and development. 701–712
- RAMOS, B.S.; BARRIUSO, J.; GUTIÉRREZ, F.J.M. (2008) Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Plant-Bacteria Interact Strateg Tech to Promot Plant Growth* 41–54. <https://doi.org/10.1002/9783527621989.ch3>
- REIS, G.G. dos; REIS, M. das G.F.; FONTAN, I. da C.I. et al (2006) Eucalyptus spp submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Rev Arvore** 30:921–931
- 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** 2014: 10. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/818797>.
- ROBINSON, D.; HODGE, A.; FITTER, A. (2003) Constraints on the Form and Function of Root Systems. 168:1–31. https://doi.org/10.1007/978-3-662-09784-7_1
- ROBINSON, D.; LINEHAN, D.J.; CAULS, S. (1991) What limits nitrate uptake from soil? **Plant Cell Environ** 14:77–85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01373.x>
- ROGERS, E.D.; BENFEY, P.N. (2015) ScienceDirect Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. **Curr Opin Biotechnol** 32:93–98. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.015>
- SILVESTRE, W.V.D.; PINHEIRO, H.A.; SOUZA, R.O.R. de M.; PALHETA, L.F. (2016) Morphological and physiological responses of açaí seedlings subjected to different watering regimes. **Rev Bras Eng Agrícola e Ambient** 20:364–371. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n4p364-371>
- SILVESTRE, W.V.D.; SILVA, P.A.; PALHETA, L.F. et al (2017) Differential tolerance to water deficit in two açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) plant materials. **Acta Physiol Plant** 39:. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2301-9>
- SIMONSZ, H.J. (2008) Historical perspective: First description of the Moebius syndrome. *Strabismus* 16:3. <https://doi.org/10.1080/09273970801891446>
- SINGH, S.P.; SINGH, H.B.; SINGH, D.K.; RAKSHIT, A. (2014) Trichoderma-mediated enhancement of nutrient uptake and reduction in incidence of *Rhizoctonia solani* in tomato. **Egypt J Biol** 16:29. <https://doi.org/10.4314/ejb.v16i1.4>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. (2017) Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 888 p.

VARDHARAJULA, S.; ALI, S.Z.; GROVER, M. et al (2011) Drought-tolerant plant growth promoting bacillus spp.: Effect on growth, osmol ytes, and antioxidant status of maize under drought stress. **J Plant Interact** 6:1–14. <https://doi.org/10.1080/17429145.2010.535178>

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINE, B.; MOENE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. (2013) **Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning**. 4:1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>

VIÉGAS, I. de J.M.; FRAZÃO, D.A.C.; THOMAZ, M.A.A. et al (2004) Limitações nutricionais para o cultivo de açaizeiro em latossolo amarelo textura média, Estado do Pará. **Rev Bras Frutic** 26:382–384. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452004000200052>

WEGER, L.A. de; BIJ, A.J.V.D.; DEKKERS, L.C. et al (1995) Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. **FEMS Microbiol Ecol** 17:221–227. [https://doi.org/10.1016/0168-6496\(95\)00031-5](https://doi.org/10.1016/0168-6496(95)00031-5)

TABELAS SUPLEMENTARES

Tabela 6. Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais do comprimento total de raízes das mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).

Classes	Controle	<i>B. pyrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
0 < D ≤ 1,0	91,56 ± 0,93a	86,99 ± 1,81a	88,63 ± 1,07a	89,26 ± 1,64a
1,0 < D ≤ 2,0	7,69 ± 0,86a	9,88 ± 1,62a	8,76 ± 0,74a	7,49 ± 1,31a
2,0 < D ≤ 3,0	0,63 ± 0,16b	2,57 ± 0,34a	2,07 ± 0,29a	2,40 ± 0,26a
3,0 < D ≤ 4,0	0,09 ± 0,05c	0,36 ± 0,03b	0,37 ± 0,06b	0,59 ± 0,09a
>4,5	0,01 ± 0,08b	0,15 ± 0,06a	0,14 ± 0,04a	0,24 ± 0,11a

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre tratamentos pelo teste de Scott Knott para $P \leq 0,05$.

Tabela 7. Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais da área total da superfície de raízes das mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).

Classes	Controle	<i>B. pyrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
0 < D ≤ 1,0	72,5 ± 10,5a	61,3 ± 2,72b	63,9 ± 3,00b	63,4 ± 3,29b
1,0 < D ≤ 2,0	23,1 ± 2,13a	24,4 ± 2,82a	22,8 ± 1,54a	19,3 ± 2,11a
2,0 < D ≤ 3,0	3,41 ± 0,78b	10,8 ± 1,20a	9,64 ± 1,18a	11,3 ± 0,86a
3,0 < D ≤ 4,0	0,73 ± 0,43c	2,21 ± 0,12b	2,34 ± 0,28b	3,82 ± 0,40a
>4,5	0,12 ± 0,08b	1,30 ± 0,41a	1,35 ± 0,39a	2,13 ± 0,88a

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre tratamentos pelo teste de Scott Knott para $P \leq 0,05$.

Tabela 8. Média e erro-padrão da média das mensurações proporcionais do volume de raízes das mudas de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) não inoculadas (controle) e inoculadas com bioestimulantes: rizobactérias BRM-32113 (*Burkholderia pyrrocinia*) e UFRA-92 (*Bacillus subtilis*) e *T. asperellum* (UFRA T-06, T-09, T-12 e T-52).

Classes	Controle	<i>B. pyrrocinia</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>T. asperellum</i>
0 < D ≤ 1,0	47,6 ± 3,45a	30,4 ± 1,11b	33,4 ± 2,94b	30,5 ± 2,92b
1,0 < D ≤ 2,0	38,6 ± 3,18a	31,6 ± 3,69b	30,7 ± 1,18b	24,2 ± 1,39b
2,0 < D ≤ 3,0	9,93 ± 2,14b	25,6 ± 1,89a	22,4 ± 2,01a	25,0 ± 2,02a
3,0 < D ≤ 4,0	2,93 ± 1,68b	7,48 ± 0,78a	7,43 ± 0,39a	11,5 ± 0,96a
> 4,5	0,66 ± 0,40b	5,03 ± 1,46a	6,16 ± 1,70a	8,79 ± 3,38a

Letras minúsculas diferentes indicam diferença entre tratamentos pelo teste de Scott Knott para $P \leq 0,05$