

## MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

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

MATHEUS YAN FREITAS SILVA

BIOESTIMULANTES NA GERMINAÇÃO E ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE COQUEIRO (Cocos nucifera L.).

BELÉM/PA 2022

#### MATHEUS YAN FREITAS SILVA

# BIOESTIMULANTES NA GERMINAÇÃO E ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE COQUEIRO (Cocos nucifera L.).

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pósgraduação em Agronomia para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Agronomia

Orientadora: Prof.ª Drª. Gisele Barata da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Dalton Dias da Silva Júnior

BELÉM/PA 2022

#### MATHEUS YAN FREITAS SILVA

# BIOESTIMULANTES NA GERMINAÇÃO E ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE COQUEIRO (Cocos nucifera L.).

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

Data da aprovação

#### BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Gisele da Silva Barata Presidente/Orientadora Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dra. Maria Carolina Quecine Verdi 1ª Examinadora Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

> Dr. Paulo Manoel Pontes Lins 2° Examinador Empresa SOCOCO S/A

Prof. Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro 3º Examinador Universidade Federal Rural da Amazônia

Aos meus pais, meus tios, meu irmão, meu sobrinho, meu cachorro e amigos por todo incentivo e apoio.

"Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes".

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus e a Nossa Senhora de Nazaré pelo dom da vida e me proporcionar momentos incríveis durante minha trajetória pessoal e acadêmica, obrigado por ter me cercado de pessoas incríveis, especialmente minha família e amigos.

A minha família, que formaram meu caráter e jamais me abandonaram. Aos meus pais Marcelo Monteiro e Maricezar Xavier que eu amo demais por sempre me apoiarem e me ensinarem o valor da vida. A minha tia Marinês Freitas que ajudou a me criar quando meus pais não estavam por perto devido as obrigações de trabalho, você é mais que uma tia, é uma mãe. Ao meu irmão Marcelo Junior, que sempre me aconselhou nas minhas decisões e me ensinou valores para me tornar uma pessoa melhor, te amo muito! Ao meu sobrinho, Pietro, que nasceu dias antes da minha qualificação e trouxe um novo sentido para o amor, não só em mim como em todos nós. Te amo meu sobrinho! Ao meu cachorro, Baruck, que é meu confideiro fiel, que sempre me recebeu com muita felicidade no retorno das atividades do mestrado, independente se era um dia ou semanas longe. Obrigado pelo companheirismo nas madrugadas em claro, seguirei sempre tentando retribuir seu carinho e fidelidade. Aos meus avós, Maria Silva, Domingos Ferreira, Hamilton Silva (in memorian) e Genoveva Silva (in memorian) pela troca de experiências e pelas conversas de motivação. Aos meus tios, Marcilon Freitas, Hamiraldo Freitas, Josias Freitas, Valmir Freitas (in memorian), Marideia Freitas, Vilma Freitas, Marcia Silva, Maylton Miranda pelas conversas e momentos de felicidade. Aos meus primos, Vanderson Xavier, Diego Xavier, Layane Freitas, Roger Braga, Rafael Braga, Evellyn Braga, Jeanne Freitas, Simara Souza, Simone Souza, Edilvane Souza, Geovana Cardim, Maria Luiza, Manoela Quaresma, pelos risos e descontrações.

Aos meus amigos do Ideal que me proporcionaram momentos únicos nos 4 anos que passei por lá, obrigado Mateus Winker, Hélio Brisola, Andrei Pinheiro, Paulo Antônio, Arthur Lima, Bruno Lima, Breno Gomes, Gustavo Lopes, Mateus Neves, Victor Vidonho, Jorge Cabeça, Caio Miranda, Cassio Feio, Edgar Wilson, Matheus Pedrosa, Tainá Martins, Bruna Reis, Amalia Cabeça, Gisele Lourinho, Beatriz Nunes, Marina Macedo, Yana Nicácio, Pamela Ferreira, Valena Correia, Carol Medeiros. Todos vocês moram no meu coração e sempre sou agradecido por vocês terem feito parte da minha trajetória.

Aos amigos que fiz durante a vida pessoal, Rafael Lima, Danilo Lima, Guilherme Junior, Vitor Amoras, Felipe Vaz, Gabriel Pina, Isolda Goes, Wagner Vasconselos, Helaíne Vasconselos, Estela Lima, Anne Castro, Bruno Ferreira, Adriana Fagundes, Camila

Damasceno, Ana Rosa, Bianca Abraham, Milene Mascarenhas, Marlene Figueiredo, Neto Braga e Diogo Alves.

Aos meus amigos do grupo Foco no 10: Igor Cristian, Gabriel Ito, Erika Teixeira e Francisco Souza, meu muito obrigado por todos os momentos, que não foram poucos, de alegria e de parcerias. Obrigado por todos os trabalhos desenvolvidos na graduação, pelas viagens práticas, pelas brincadeiras, pelos momentos que estiveram comigo quando as coisas não iam bem. Vivemos momentos de muito estresse, mas essas circunstâncias serviram para fortalecer nossa amizade. Tenho muito orgulho de ter vocês como parceiros de profissão. Vocês me inspiram. Obrigado pela amizade, vocês moram no meu coração.

Aos meus amigos de pós-graduação: Grasiela Dias, Pêola Souza, Hildo Nunes, Nena Sardinha, Flavio Rodrigues, Wagner Filho, Ítalo Sampaio, Yan Lima, Dandara Lima. Em especial a Deborah Pires, que sempre esteve comigo nos momentos bons e ruins, contribuindo sempre para o meu crescimento desde a graduação. Você é uma inspiração para mim.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PGAgro - UFRA) que proporcionaram o conhecimento das diversas áreas que abrange essa ciência que é a Agronomia. Obrigado pela dedicação, paciência e pelo profissionalismo.

Aos funcionários e técnicos da UFRA-Belém que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal: Seu Zezinho, Mônica, Telma, Sandra, Fernando, Hilma, e a todos os guardas que iam me cumprimentando a cada chegada na universidade para inúmeras atividades do mestrado, seja de dia, noite ou madrugada.

Aos amigos do Laboratório de Proteção de Plantas, que sempre contribuíram com meu desenvolvimento no mestrado, seja tirando dúvidas ou com conversar leves que aliviaram por vezes as minhas frustrações e preocupações: Alessandra Moraes, Alice Cavalcante, Thayná Ferreira, Diego Alves, Juliete Oliveira, Rafael Costa, Rubson Leite, Maria Luiza, Maria Gomes, Juliana Tavares, Verônica Paes, Danielle Mendonça, Brenda Rodrigues, Ivy Saliba, Milena Raiman, Josiane Alfaia, Maria Sarto e Graziele Rabelo. Em especial, a Gleiciane Rodrigues que me ajudou (e muito) nas análises de açucares e passou noites acordada tentando ajustar o protocolo. A você, meu muito obrigado! Espero retribuir essa gratidão no futuro.

A empresa SOCOCO, que abriu as portas para que eu pudesse conhecer melhor essa cultura maravilhosa, sempre estando à disposição nos dias de coleta e visitas. Em especial ao Gestor da empresa, Dr. Paulo Lins, por me receber e acreditar na pesquisa, contribuindo de forma significativa com o avanço da cadeia de produção de coco no Estado. A você, meu muito

obrigado. Ao corpo técnico da empresa: Samuel Cohen, Jean Chagas, Jurandir Rabelo, Gualberto, Gerson Morais, Iraelson Ferreira, Sebastião Silva e Celson. Aos colaboradores da pesquisa que seguiam firme comigo no campo, mesmo em dias de muito sol: Genival, Cleberson, Capixaba, Silvin, Reinaldo, Azul, Banana, Vado, Carlinhos. Aos colaboradores do viveiro que sempre se dispuseram para o sucesso do experimento: Binho, Odair, Magrão, Pelo, Negão, Manél, Irmaozão, Irmãozinho, Paca, Taperebá, Laércio, Javali, Sopa, Orlandinho. Em especial, ao colaborador do viveiro José Rayan, que abriu a porta da sua casa para me receber nas idas a fazenda e contribuiu de forma única na condução do experimento. A você e toda sua família (Suzana, Nice, Maurício, Zé Filho, Hilary e Safíra), minha gratidão e amor. A todos os colaboradores que diretamente e indiretamente contribuiu para a realização desse estudo.

Aos amigos do vôlei de quinta, que sempre tiravam a pressão das preocupações e me descontraia mesmo em dias de frustações: Alexandre Pantoja, Jessica Cardoso, Gabriela Stefanie, Ramon Jati, Luiz Guilherme, Mauricio Raiol, Jonathan Lobo, Luiz Felipe, Victor, Junior Pantoja, Alan Miranda e Thiago. Grato pelas partidas, gargalhadas e estresses de jogadas ruins. Em especial a Tamyris Fortes, que conheci no vôlei e hoje é minha namorada e amiga. Obrigado pelo incentivo, amor e companheirismo.

A minha banca avaliadora: Dra. Maria Carolina Quecine Verdi, Dr. Paulo Manoel Pontes Lins e Dr. Gledson Luiz Salgado de Castro, que contribuíram para o aperfeiçoamento dessa dissertação e para a ciência na Amazônia, corroborando com o desenvolvimento da agricultura de forma mais sustentável na cadeia de produção do coco.

A minha orientadora, Gisele da Silva Barata, por ter me recebido no Laboratório de Proteção de Plantas (LPP-UFRA) e ter me concedido a oportunidade de crescer profissionalmente e academicamente. Obrigado pela orientação, pelas palavras de sabedoria, pelos puxões de orelha e por acreditar em mim. A você, toda a minha admiração e gratidão.

Ao meu coorientador Dalton Dias da Silva Junior, por ter aceitado esse desafio e contribuído para a elaboração dessa pesquisa. Obrigado pelas conversas, pelos conselhos, pela paciência e pela amizade e por me apresentar a turma do vôlei de quinta feira. A você, toda minha gratidão e companheirismo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo que permitiu a execução do experimento.

E a todas as pessoas que direta e indiretamente contribuíram para a produção deste trabalho.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 -</b> Germinação (A) e altura do coleóptilo (B) em se ( <i>Cocos nucifera</i> L.) submetidos a inoculações com bioest germinadora	imulantes na 13ª semana em caixa
<b>Figura 2 -</b> Aspecto visual das plântulas de coqueiro híbrido semana em caixa germinadora submetid bioestimulantes.	os a inoculações com
<b>Figura 3 -</b> Teores de clorofila de plântulas de coqueiro híbita semana em caixa germinadora subme bioestimulantes	etidos a inoculações com
<b>Figura 4 -</b> Taxa de assimilação líquida de CO <sub>2</sub> - A (A), c água - $g_s$ (B), transpiração - $E$ (C) e eficiência de carbo coqueiro híbrido PB-141 ( <i>Cocos nucifera</i> L.) na 13ª semana a inoculações com bioestimulantes	xilação - A/Ci (D) de plântulas de a em caixa germinadora submetidos
<b>Figura 5</b> - Eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema de elétrons – ETR (B), fluorescência inicial - Fo (C) e fi plântulas de coqueiro híbrido PB-141 ( <i>Cocos nucifera</i> L.) n submetidos a inoculações com bioestimulantes	luorescência máxima – Fm (D) de a 13ª semana em caixa germinadora
<b>Figura 6 -</b> Teores de amido (A), glicose (B), frutose (C) e sa híbrido PB-141 ( <i>Cocos nucifera</i> L.) na 13 <sup>a</sup> semana em inoculações com bioestimulantes	caixa germinadora submetidos a

### LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b> Parâmetros na germinação (G%), índice de crescimento (IC), índice de tempo médio de germinação em semanas (TMG) de sementes de coqueiro híl ( <i>Cocos nucifera</i> L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoc	orido PB-141 culações com
bioestimulantes.	23
<b>Tabela 2 -</b> Biometria em planta jovem de coqueiro híbrido PB-141 ( <i>Cocos nucifa</i>	,
semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes. *	Comocuração
de Bacillus sp. e Trichoderma asperellum	24

#### LISTA DE ABREVIATURAS

DAS – Dias após a semeadura;

G% - Porcentagem de germinação final;

TMG – Tempo médio de germinação;

IC – Índice de crescimento:

IV – Índice de vigor;

*A* − Taxa líquida de assimilação de gás carbônico;

 $g_s$  – Condutância estomática no vapor de água;

A/Ci – Eficiência da carboxilação;

E – Transpiração;

CO<sub>2</sub>-Gás carbônico;

PAR – Radiação fotossinteticamente ativa;

PSII – Fotossistema II

Fo – Fluorescência inicial;

*Fm* – Fluorescência final;

Fv/Fm' – Eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II;

ETR – Taxa de transporte de elétrons;

MS – Matéria fresca:

Mix - Coinoculação com Bacillus sp. e três cepas de Trichoderma asperellum;

Chla - Clorofila "a"

Chlb - Clorofila "b"

# SUMÁRIO

1.	CON	TEXTUALIZAÇÃO	13				
2.	REV	ISÃO DE LITERATURA	14				
	2.1.1.	A cultura do coqueiro	14				
	2.1.2.	A semente do coqueiro	15				
	2.1.3.	Microrganismos promotores de crescimento	16				
3.	RES	UMO	19				
4.	ABS	TRACT	20				
1.	. INTRODUÇÃO21						
2.	MAT	TERIAL E MÉTODOS	23				
	2.1. M	aterial vegetal	23				
	2.2. Pr	reparo e inoculação dos microrganismos	23				
	2.3. Ge	erminação e emergência	24				
	2.4. Bi	ometria e biomassa seca	25				
	2.4.1.	Parâmetros de trocas gasosas	25				
	2.4.2.	Fluorescência da clorofila a	26				
	2.4.3.	Coleta do material e análise bioquímica	26				
	2.4.4.	Quantificação de clorofila	26				
	2.4.5.	Quantificação de glicose, frutose e sacarose	27				
	<i>2.4.6.</i>	Quantificação de amido	27				
	2.4.7.	Análise estatística	28				
3.	RES	ULTADOS	29				
4.	DISC	CUSSÃO	36				
5.	CONCLUSÃO42						
6.	REF	ERÊNCIAS	42				

### 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma palmeira monocotiledônea, pertencente à família Arecaceae e subfamília Cocoideae (BATUGAL; RAO; OLIVER, 2005). A cultura teve sua origem no sudeste do continente asiático e possui grande importância econômica devido ao seu aproveitamento, podendo gerar diversos produtos para indústrias alimentícias e farmacêuticas, além de sua fibra servir de composto para a agricultura (BENASSI; FANTON; SANTANA, 2013).

Essa cultura é considerada uma das espécies tropicais de maior relevância, dada a grande variedade de produtos e subprodutos oriundas não apenas dos frutos, mas também das estruturas vegetativas da palmeira (LÉDO et al., 2019). Por isso, a cocoicultura vem ganhando notoriedade com incentivos à produção de leite de coco, coco ralado e principalmente a água de coco (MARTINS, C. R., JESUS JÚNIOR, 2014).

A importância da cultura e suas utilidades para a humanidade contribuiu com o aumento das áreas de produção no Brasil apesar dessa contribuição corresponder apenas com 3,8% da produção mundial (FAO, 2021). O Brasil detém uma área cultivada de 187,5 mil ha com produção de 1,6 bilhões de frutos. A região nordeste é a mais produtora com 73,5% da produção nacional de coco. Na região Norte, o Pará é o estado de maior contribuição, com destaque para a cidade de Moju, que é o segundo município mais produtor do país (IBGE, 2021).

No processo de produção de mudas, a propagação sexuada (via seminal) é a principal forma de propagação da espécie (LÉDO et al., 2019). O processo de germinação e o estabelecimento da plântula é fundamental para obtenção de plantas saudáveis e viáveis, sendo essa prática fundamental para a uniformização das plântulas que irão à campo. O estabelecimento de plântulas viáveis permitirá maior capacidade de suportar as condições adversas dos fatores bióticos e abióticos no campo (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 2018).

Problemas relacionados a não padronização e o baixo aproveitamento das plantas na fase de produção de mudas é um fator presente nesta etapa. Mudas que não atendam as qualidades requeridas irão interferir no processo e nos custos de produção (LÉDO et al., 2019). Essas particularidades podem ser explicadas pela fecundação cruzada, no caso dos coqueiros híbridos, que irá promover uma alta variabilidade de cargas genéticas e pela maturidade das sementes, seja fisiológica ou física, interferindo no tempo de estabelecimento da plântula (PERERA et al., 2009).

Como estratégia para atenuar esses fatores que possam desfavorecer a produção de mudas, a utilização de microrganismos promotores de crescimento em plantas pode auxiliar na emergência e no estabelecimento das plântulas, refletindo inclusive em benefícios que possam alterar o fenótipo. Em várias culturas, a utilização de microrganismos auxilia, em estádios precoces de crescimento, no maior acúmulo de biomassa, no sistema radicular e caule (KLOEPPER et al., 2004).

O uso de microrganismos na agricultura vem ganhando destaque crescente, visto a necessidade de atenuar as consequências ambientais resultante das práticas agrícolas no mundo. O rápido crescimento da população no globo aumenta a demanda por alimentos e para tentar atender essa questão, a agricultura praticada investe no uso de insumos sintéticos para fertilização dos campos e controles fitossanitários de forma exaustiva, contribuindo para a contaminação de alimentos, solos e rios (CZYŻEWSKI; MATUSZCZAK; MUNTEAN, 2019).

Esse cenário de desequilíbrio embasou e motivou a Organização das Nações Unidas (ONU) a estabelecer um plano com 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) baseada, entre outras dimensões, na sustentabilidade ambiental. Portanto, o uso de produtos biológicos se torna uma ferramenta para mitigação dos efeitos negativos da agricultura praticada mundialmente (FRITZ et al., 2019).

Diante do entendimento dos benefícios do uso desses microrganismos na agricultura, a hipótese desta pesquisa é de que a espécie de rizobactéria do gênero *Bacillus* sp. e três isolados fúngicos de *Trichoderma asperellum* potencializem o vigor e emergência das sementes de coqueiro híbrido e induzem plântulas mais robustas.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1. A cultura do coqueiro

A classificação taxonômica do coqueiro foi ajustada de acordo com Tomlinson (1968, apud (NIRAL; JERARD, 2018), e está classificado da seguinte forma: Reino: Plantae; Subreino: Tracheobionta; Superdivisão: Spermatophyta; Divisão: Magnoliophyta; Classe: Liliopsida; Subclasse: Arecidae; Pedido: Arecales; Família: Arecaceae; Gênero: Cocos e Espécie: *Cocos nucifera* L.

No cenário mundial, em 2021, a Indonésia teve destaque na produção do coco, obtendo uma produção de 16,5 mil de toneladas enquanto o Brasil foi o quinto país mais produtor, com 2,5 mil de toneladas (FAO, 2021). A cocoicultura no Brasil vem ganhando notoriedade com

incentivos à produção de coco seco, coco ralado e principalmente a água de coco, corroborando para o aumento das áreas cultivadas (BRAINER, 2021).

Segundo dados do IBGE (2021), o Estado do Pará, contribuiu com 11,6% da produção nacional e ocupa a terceira colocação em estados mais produtores. O município de Moju é o principal produtor paraense e o segundo produtor nacional (BRAINER, 2021). Nesse município se encontra a maior área de cultivo contínuo de coqueiros da variedade híbrida implantada pela empresa Sococo S/A Indústrias Alimentícias justificando a posição de destaque do município paraense.

Em relação aos recursos genéticos do coqueiro, a cultura tem duas variedades cultivadas no Brasil, *C. nucifera* var. *typica* (coqueiro gigante) e *C. nucifera* var. *nana* (coqueiro anão) (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 2018). A variedade *typica* possui importância paisagística, principalmente em regiões litorâneas e tem aptidão para a produção *in natura* (coco-seco), além de usos culinários na indústria alimentícia. A variedade *nana* se destaca pela comercialização da água de coco, sendo representada pelas cultivares Amarela, Verde e Vermelha (SIRIPHANICH et al., 2011).

O cruzamento entre estas variedades (*Nana* x *Typica*) resultam em híbridos intervarietais, sendo esses usados para incentivar a cocoicultura mundial devido sua ampla atividade comercial (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 2018). Em relação aos seus genitores, estes híbridos possuem vantagens na produção e tamanho dos frutos, precocidade na floração, além da porcentagem de germinação (FARIAS; GAÍVA; PEREIRA, 2002; SANTOS et al., 1982).

#### 2.2. A semente do coqueiro

O processo de polinização inicia com a deposição da estrutura masculina no estigma da flor, que irá induzir a formação do tubo polínico permitindo a translocação do gameta masculino até o gameta feminino (ZHANG et al., 2017). No interior do tubo polínico, ocorre a formação de duas células espermáticas que será responsável pela dupla fecundação. Uma célula irá se fundir com a oosfera iniciando o processo de formação e desenvolvimento do embrião e a outra célula irá unir com os núcleos polares originando o tecido endospermático (BEWLEY, JD; BLACK, 2013)

No coqueiro, a semente se encontra no interior do fruto, que por sua vez é classificado como fruto seco do tipo drupa, sendo formado de epicarpo, mesocarpo e endocarpo, onde essas três camadas constituem o pericarpo (FONTES; FERREIRA; SIQUEIRA, 2002). O endocarpo

é pétreo e envolve a semente. A semente apresenta três orifícios envoltas no endocarpo, e seu interior é constituído de uma cavidade, o endosperma (líquido e sólido) e o embrião. O endosperma líquido possui elevados teores de açúcares e o endosperma sólido é rico em lipídeos, ambos irão fornecer suporte nutricional ao processo germinativo e ao estabelecimento (crescimento) da plântula (LI et al., 2019).

O processo germinativo da semente, compreende uma sequência ordenada de eventos metabólicos que resulta no reinício do crescimento do embrião até originar uma plântula (BEWLEY et al., 2013). O processo de germinação tem como etapa inicial o processo de absorção de água que pode é conhecido como embebição. Nessa etapa ocorre absorção de água e de oxigênio para que seja intensificada as atividades enzimáticas, e consequente oxidação do tecido de reserva (tecido endospermático) (BEWLEY; BLACK, 2013).

A segunda etapa é denominada como indução do crescimento ou repouso, onde ocorre o crescimento e multiplicação das células devido ao processo de absorção de água e intensificação da respiração e da assimilação de produtos oxidados. Por fim, a terceira etapa é caracterizada como a emergência da plântula. Nesse processo irá ocorrer a protusão da radícula, intensificação da divisão celular e a promoção do crescimento da plântula (BEWLEY, JD; BLACK, 2013).

A germinação da semente de coco é iniciada pela absorção da água e irá promover o aumento gradativo do embrião, forçando sua saída por um dos poros germinativos do endocarpo, formando a radícula e a plúmula (BALACHANDRAN; ARUMUGHAN, 1995). Na medida que o processo vai avançando, o embrião irá se distender para o interior da cavidade, formando o haustório que é um tecido esponjoso que age como tecido de reserva e mobilizador, que irar promover a nutrição do embrião em desenvolvimento (ARIVALAGAN; MANIKANTAN; YASMEEN, 2018).

Uma vez que o mesocarpo oculta a emergência do embrião, comumente se considera como semente germinada, a emergência do broto pelo pericarpo. Fatores como maturação do embrião, umidade da semente, espessura do mesocarpo, tempo de polinização e de inflorescência irão interferir no tempo que essa plúmula irá emergir (HARRIES, 2012).

#### 2.3. Microrganismos promotores de crescimento

Existem numerosas espécies de microrganismos que são capazes de auxiliar as plantas em seu crescimento e estabelecimento. Em várias culturas, a utilização desses seres auxilia, em estágios precoces de desenvolvimento, no maior acúmulo de biomassa, além de incrementos no

sistema radicular e caule (KLOEPPER et al., 2004). Como exemplos de alguns desses microrganismos, existem as rizobactérias promotoras de crescimento do gênero *Bacillus* spp. (KUMAR; PRAKASH; JOHRI, 2011) e os fungos do gênero *Trichoderma* spp. (HERMOSA et al., 2012).

O gênero Bacillus (COHN, 1875) pertence ao domínio bactéria (WOESE; KANDLER; WHEELIS, 1990). São grupos de bactérias que apresentam forma de bastonetes e são *gram* positivas, podendo ser ou não aeróbicas (BRENNER; KRIEG; STALEY, 2005). Possuem grande dispersão em diversos habitats e resistência a condições ambientais desfavoráveis devido ao seu metabolismo fisiológico e a formação de endósporos (TIWARI; PRASAD; LATA, 2019).

A maioria das bactérias do gênero Bacillus são encontradas naturalmente no ecossistema, e por este motivo, esse gênero é bem aceito no desenvolvimento de produtos comerciais (BHATTACHARYYA; GOSWAMI; BHATTACHARYYA, 2016). Este gênero tem ampla capacidade de crescimento, compreendendo temperaturas que variam de 3 °C até 75 °C podendo algumas espécies suportarem extremos de alcalinidade e acidez, com o pH variando entre 2 e 10 (TIWARI; PRASAD; LATA, 2019).

Os fungos do gênero *Trichoderma* spp. são microrganismos de vida livre que pertencem a família Hypocreaceae. Estes microrganismos possuem alto poder de colonização nos seus habitats além de sua capacidade de produção de compostos antibióticos, como metabólitos e enzimas (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010). Eles atuam como promotores de crescimento agindo no sistema radicular por intermédio da produção de fitohormônios além de assimilar nutrientes para as plantas. Ademais, estes seres são capazes de induzir resistência a doenças e estresses abióticos (HARMAN et al., 2004).

A interação entre os microrganismos e as plantas é realizada por intermédio das raízes, onde ocorre o processo de quimiotaxia, coordenado por exsudatos radiculares liberados pelo sistema radicular no solo (e.g. carboidratos, ácidos orgânicos etc.). Esses, sinalizam a atração da população microbiana benéfica que apresenta afinidade pelos exsudatos, os metabolizam e realiza seus processos metabólicos vitais para que favoreçam a sua proliferação na rizosfera (CAFARO et al., 2011).

Existem dois mecanismos que os microorganismos utilizam para promover o crescimento em plantas (FRIESEN et al., 2011). De forma direta, os microrganismos participam de rotas de solubilização de nutrientes como nitrogênio, fósforo e sideróforos, além de sintetizar compostos que modulam a produção de fitohormônios (JEYANTHI; KANIMOZHI, 2018).

Indiretamente, esses mecanismos atuam na produção de antibióticos e enzimas extracelulares que irá interferir nos nichos fitopatogênicos, promovendo maior defesa da planta contra seres indesejados (GLICK, 2012).

Os microrganismos estão presentes naturalmente na solução do solo, e podem colonizar as raízes das plantas estabelecendo uma interação biótica que irá produzir metabólitos, além de contribuir para o crescimento do sistema radicular (GROVER et al., 2011; LIMA et al., 2020). Trabalhos envolvendo esses microrganismos relatam vantagens no seu uso, em relação ao manejo tradicional, na promoção de crescimento em palmeiras como coqueiro (GEORGE et al., 2018), palma de óleo (LIMA et al., 2020), açaizeiro (CASTRO et al., 2020). Além de algumas forrageiras (ARAUJO; GUABERTO; SILVA, 2012) e culturas do milho (KHATI et al., 2018), soja (SILVA et al., 2020), melancia (KOKALIS-BURELLE et al., 2003), batata (EKIN, 2019) e alface (CARDOSO et al., 2019).

Durante o processo de produção de mudas, a não sincronia do processo germinativos associado à desuniformidade das plântulas são problemas recorrentes na cultura do coqueiro. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar como os microrganismos podem alterar o processo de geminação e estabelecimento das plântulas de coqueiro.

# BIOESTIMULANTES NA GERMINAÇÃO E ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE COQUEIRO (Cocos nucifera L.).

#### 3. RESUMO

O coqueiro (Cocos nucifera L.) é uma das espécies vegetais tropicais de maior relevância para o mundo, devido à variedade de produtos e subprodutos oriundos do seu cultivo e beneficiamento. O processo de obtenção de mudas possui falhas devido a heterogeneidade das plantas matrizes para a obtenção das sementes, além de barreiras físicas inerentes à germinação da espécie. Uma estratégia para mitigar esses problemas é o uso de microrganismos promotores de crescimento na fase de pré-viveiro, que incrementa o crescimento e a qualidade das plântulas na emergência, e atende às necessidades das políticas sustentáveis na agricultura. O objetivo do estudo foi avaliar o uso de microrganismos na uniformidade, emergência e o estabelecimento plântulas de coqueiro híbrido. O experimento foi conduzido em viveiro comercial na cidade de Moju-PA, e a produção de microrganismos foi realizada no Laboratório de Proteção de Plantas (LPP/UFRA), Belém-PA. As sementes utilizadas foram de coqueiro híbrido (PB-141), proveniente do cruzamento entre as variedades Anão-Verde-do-Brasil e Gigante-do-Oeste-Africano, foram submetidas a quatro tratamentos, sendo: controle; Bacillus sp.; Trichoderma asperellum; e mix (Bacillus sp. + Trichoderma asperellum). Durante o período de três meses foram avaliados semanalmente os parâmetros de emergência, biométricos, fisiológicos e o acúmulo de biomassa seca ao final do ensaio. Os resultados alcançados foram que os tratamentos com a aplicação de microrganismos promotores de crescimento estimularam o processo germinativo, aumentou o vigor e o índice de crescimento das plântulas. Pois os bioestimulantes induziram aumentos de até 14% na germinação, 18-23% no índice de vigor, 11-21% na assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e 29,5% na biomassa radicular, onde neste foi mais expressivo o efeito dos bioestimulantes. Logo, a aplicação de microrganismos promotores de crescimento estimula o processo germinativo, aumentam o vigor e o crescimento e induzem eficiência no aparato fotossintético em plântulas de Cocus nucifera L.

Palavras-chaves: Bacillus sp. Trichoderma asperellum. trocas gasosas.

#### 4. ABSTRACT

Coconut (Cocos nucifera L.) is one of the most relevant tropical plant species for the world, due to the variety of products and by-products derived from its cultivation and processing. The process of obtaining young plants has flaws due to the heterogeneity of the matrix plants to obtain the seeds, in addition to physical barriers inherent to the germination of the species. A strategy to mitigate these problems is the use of growth-promoting microorganisms in the prenursery phase, which increases the growth and quality of young plants in the emergency, and meets the needs of sustainable policies in agriculture. The aim of this study was to evaluate the use of microorganisms in uniformity, emergence and the establishment of hybrid coconut seedlings. The experiment was conducted in a commercial nursery in the city of Moju-PA, the production of microorganisms was carried out at the Plant Protection Laboratory (LPP/UFRA). Belém-PA. The seeds used were hybrid coconut palm (PB-141), from the crossing between the varieties Green-Green-of-Brazil and West African Giant, were submitted to four treatments, being: control; Bacillus sp.; Trichoderma asperellum; and mix (Bacillus sp. + Trichoderma asperellum). During the three-month period, the emergency, biometric, physiological and dry biomass accumulation parameters were evaluated weekly at the end of the assay. The results were that the treatments with the application of growth-promoting microorganisms stimulated the germination process, increased the vigor and growth rate of seedlings. Because biostimulants induced increases of up to 14.0% in germination, 18.0-23.0% in vigor index, 11.0-21.0% in the liquid assimilation of CO<sub>2</sub> and 29.5% in root biomass, where the effect of biostimulants was more expressive. Therefore, the application of growth-promoting microorganisms stimulates the germination process, increases vigor and growth and induces efficiency in the photosynthetic device in seedlings of Cocus nucifera L.

**Keywords**: Bacillus sp. Trichoderma asperellum. gas exchange.

### 1. INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma árvore perene, com características de climas tropicais e pertencente à família Arecaceae (CZYŻEWSKI; MATUSZCZAK; MUNTEAN, 2019). Essa cultura é originária do sudeste da Ásia e das ilhas entre os oceanos Índico e Pacífico (PERERA; BAUDOUIN; MACKAY, 2016). A dispersão da cultura para os continentes provavelmente está relacionada com a capacidade do fruto de flutuar nos oceanos sem perder a viabilidade das sementes. Além também no transporte de material pelos humanos (CZYŻEWSKI; MATUSZCZAK; MUNTEAN, 2019).

O maior produtor mundial do fruto do coqueiro é a Indonésia, correspondendo a 16,5 milhões de toneladas. O Brasil ocupa a quarta colocação contribuindo com apenas 3,8% da produção mundial, porém detém a maior produtividade dentre os maiores países mais produtores (FAO, 2021). No Nordeste, os estados do Ceará, Bahia e Sergipe são responsáveis por mais da metade da produção nacional. O Estado do Pará contribui com 11% da produção nacional, evidenciando o estado como o único representante expressivo do norte brasileiro, despontando como o terceiro estado mais produtor do país (IBGE, 2021).

No cenário mundial, em 2021, a Indonésia teve destaque na produção do coco, obtendo uma produção de 16,5 mil toneladas enquanto o Brasil foi o quinto país mais produtor, com 2,5 mil toneladas (FAO, 2021). A cocoicultura no Brasil vem ganhando notoriedade com incentivos à produção de coco seco, coco ralado e principalmente a água de coco, corroborando para o aumento das áreas cultivadas (BRAINER, 2021).

Segundo dados do IBGE (2021), o Estado do Pará, contribuiu com 11,6% da produção nacional e ocupa a terceira colocação em estados mais produtores. O município de Moju é o principal produtor paraense e o segundo produtor nacional (BRAINER, 2021). Neste município se encontra a maior área de cultivo contínuo de coqueiros da variedade híbrida implantada pela empresa Sococo S/A Indústrias Alimentícias justificando a posição de destaque do município paraense.

O processo de obtenção das mudas é iniciado em caixas retangulares chamadas de germinadouro. As sementes que germinarem em 120 dias e obtiverem coloração uniforme, média de 15 cm de altura, livre de doenças e sem sinais de deformação são transferidos diretamente para o solo ou para sacos de polietileno contendo substrato (FONTES; FERREIRA; SIQUEIRA, 2002).

A principal forma de propagação da espécie ainda é via sementes, logo a melhor condução na fase de pré-viveiro (germinadouro) e viveiro se torna relevante para a geração de

mudas saudáveis e vigorosas para serem transplantadas para campo (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 2018). As sementes precisam de condições ambientais favoráveis, principalmente umidade e temperatura para poder promover plântulas saudáveis e vigorosas para a etapa de produção de mudas (FONTES; FERREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Na cadeia de produção das palmeiras amazônicas, a utilização de microrganismos são uma alternativa em relação a mitigação de inconvenientes oriundos da agricultura tradicional que utilizam pacotes tecnológicos de insumos e defensivos (GUPTA et al., 2015). Essas alternativas são infundadas nos benefícios de promoção de crescimento e biocontrole que estes microrganismos são capazes de induzir (NAAMALA; SMITH, 2020). Experimentos com coco (CARDOSO et al., 2021), palma de óleo (LIMA et al., 2020) e açaí (CASTRO et al., 2020) já demonstraram resultados positivos em relação a indução de crescimento e proteção contra patógenos nessas culturas.

Problemas relacionados a não padronização e o baixo aproveitamento das plantas na fase de pré-viveiro é um fator presente na etapa de produção de mudas do coqueiro. Mudas que não atendam as qualidades requeridas irão interferir no processo e nos custos de produção (LÉDO et al., 2019). Dito isso e sabendo dos benefícios do uso de microrganismos, o objetivo deste estudo foi avaliar como os microrganismos podem alterar uniformidade, emergência e o estabelecimento de plântulas de coqueiro híbrido.

#### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. Material vegetal

O experimento foi realizado no viveiro de sementes e mudas da Fazenda SOCOCO, localizada na cidade de Moju (PA) com coordenadas geográficas de (2° 07' 00" de latitude Sul e 48° 40' 10" de longitude Oeste de Greenwich) e teve duração de três meses (perfazendo 13 semanas). A classificação climática segundo Koppen é do tipo Ami, com temperatura média entre 25 °C e 27 °C e precipitação pluviométrica anual variando entre 2.000 mm a 3.000 mm (ALVARES et al., 2013).

Sementes de coqueiro híbrido PB-141 (Anão-verde do Brasil x Gigante do Oeste Africano) com idades de 12 meses foram coletados do campo de produção de sementes da Fazenda SOCOCO e semeados em posição horizontal à pleno sol em germinadouro com dimensão de 2 metros de largura x 60 metros de comprimento contendo fibra de coco, que cobriu a semente até sua metade. O total de sementes utilizadas foram de 800 sementes. A irrigação foi do tipo aspersor de 2,5 m³ s⁻¹ sendo acionada sempre no período da manhã com o objetivo de manter o substrato úmido, levando em consideração a ocorrência de pluviosidade e fazendo as devidas compensações.

#### 2.2. Preparo e inoculação dos microrganismos

Os microrganismos utilizados foram obtidos a partir da Coleção de Cultura Maria Duarte (CCMD) pertencente ao banco de microrganismos do Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal Rural da Amazônia (LPP/UFRA). Foram utilizados dois tipos de microrganismos, a rizobactéria *Bacillus* sp. (genbank MN393059), e três isolados de *Trichoderma asperellum*. (UFRA T-09, T-17 e T-19).

A rizobactéria foi cultivada em meio de cultura sólido 523 (KADO; HESKETT, 1970) por 48 horas, em temperatura de 28 °C (FILIPPI et al., 2011). Para o preparo das suspensões bacterianas foi utilizado meio de cultura líquido 523 (KADO; HESKETT, 1970) e água destilada (esterilizada). Sua concentração foi ajustada em 10<sup>8</sup> UFC (unidades formadoras de colônia) no espectrofotômetro (MAFIA et al., 2009).

Para o cultivo dos fungos foi utilizado meio de cultura BDA (batata, dextrose e água), encubados em placas de pétri por cinco dias à temperatura de 28 °C. Para cada isolado, preparou-se uma solução e esses foram misturados de forma homogênea para aplicação em arroz úmido e autoclavado para que permanecesse em caixas hermeticamente fechadas por uma semana (RÊGO et al., 2014). Após esse período foi realizada a contagem de esporos em câmara

de Neubauer para o ajuste da concentração da suspensão para 10<sup>8</sup> conídios mL<sup>-1</sup>(ALFENAS, ACELINO COUTO.; MAFIA, 2016).

A inoculação dos microrganismos foi realizada no dia da semeadura, 30 e 60 dias após a semeadura (DAS). Essa inoculação foi realizada entre os horários de 7h e 9h da manhã em todas as sementes do canteiro utilizando pulverizador costal de capacidade de 20 litros, a uma distância de aproximadamente 20 cm das sementes no canteiro, sendo aplicado um volume médio de 100 ml de suspensão em cada semente.

#### 2.3. Germinação e emergência

A germinação foi registrada como o surgimento do tecido foliar na fissura da plúmula, após a extrusão dessa do mesocarpo. Isso foi considerado devido ao mesocarpo não permitir a observação direta da diferenciação do embrião (ZIZUMBO-VILLARREAL; ARELLANO-MORÍN, 1998). As avaliações ocorreram semanalmente a partir da primeira semana após a semeadura.

Após a obtenção desses dados foi possível realizar a estimativa dos parâmetros de germinação e emergência através do pacote SeedCalc no software R (R CORE TEAM, 2020; SILVA; MEDEIROS; OLIVEIRA, 2019). O Percentual de germinação final (G%) é a quantidade de sementes germinadas em 200 sementes dispostas para germinar (**equação 1**):

$$G\% = (n/N) \times 100 (1)$$

Onde, G% é a porcentagem de germinação; n é o número de sementes germinadas e N é o número total de sementes.

O tempo médio de germinação (TMG) é o tempo necessário em semanas para determinada quantidade de sementes atingir a germinação máxima (**equação 2**):

$$TMG = (\sum Ni.Ti)/\sum Ni (2)$$

Onde, TMG é o tempo médio de germinação em semanas; Ni é o número de sementes germinadas dentro de um determinado intervalo de tempo e Ti é o tempo desde o início do teste de germinação até a i-ésima observação.

O índice de crescimento (IC) relaciona o comprimento da plântula com o comprimento radicular e suas respectivas biomassas (**equação 3**):

$$IC = [(h.hw) + (r.rw)]$$
 (3)

Onde, IC é o índice de crescimento; h é a altura média da plântula; r é o comprimento médio da raiz e hw e rw são médias de valores de peso seco ajustáveis para parte aérea e raiz, com valores de referência de 10 e 90 respectivamente (SAKO et al., 2001).

O índice de vigor (IV) relaciona o IC com a uniformidade e o peso seco de suas respectivas biomassas (equação 4):

$$IV = [(IC.wg) + (IU.wu)]$$
 (4)

Onde, IV é o índice de vigor; *IU* é o índice de uniformidade e *wg* e *wu* são pesos ajustáveis na fórmula de crescimento e uniformidade, com valores padrões de 70 e 30 respectivamente (SAKO et al., 2001).

#### 2.4. Biometria e biomassa seca

O crescimento e acúmulo de biomassa das plântulas foram avaliados no final do experimento, na 13ª semana após a semeadura. A altura das plantas e comprimento da raiz foram mensuradas com fita métrica graduada. Para a altura, foi considerada a medida entre a base inferior do coleto e o ápice da folha mais longa. O diâmetro do coleto foi mensurado usando um paquímetro digital. O número de folhas foi avaliado fazendo a contagem direta das folhas completamente expandidas e a área foliar foi estimada através de registro fotográfico dos folíolos posicionados em uma superfície de cor azul e posteriormente essas fotos foram processadas no software APS Acess 2.0 (LAMARY, 2008).

Para obtenção da biomassa as plantas foram seccionadas em parte aérea e raiz, e posteriormente armazenadas em sacos de papel Kraft, devidamente identificados, e levados à estufa à 65 °C, a fim de se obter o peso de matéria seca das plantas.

#### 2.5. Parâmetros de trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas foram estimados em plântulas, da 13ª semana a partir do semeio. As folhas utilizadas foram a segunda ou terceira folha fisiologicamente madura, sadia e completamente expandida, do ápice para a base da planta. Os parâmetros de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática ao vapor de água (*g<sub>s</sub>*), eficiência de carboxilação (*A*/Ci) e a taxa de transpiração (E) foram estimadas entre 09:00 e 11:00h usando um sistema portátil de fluxo aberto de trocas gasosas (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE) sob uma concentração externa de CO<sub>2</sub> de 400 µmol mol<sup>-1</sup> de ar e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) artificial de 1000 µmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. O intervalo de medição (09:00 - 11:00 h) foi ajustado de acordo com os resultados obtidos através da curva diurna de trocas gasosas para a cultura e o ambiente de experimentação.

#### 2.6. Fluorescência da clorofila a

A fluorescência da clorofila a foi determinada simultaneamente com as trocas gasosas usando uma câmara de fluorescência (IG 6400-40; LI-COR Inc.) unida a um sistema portátil de troca gasosa de fluxo aberto. Folhas adaptadas no escuro por 30 min foram iluminadas com um pulso de luz fraca e modulada  $(0,03 \, \mu \text{mol m}^{-2} \, \text{s}^{-1})$  para obter a fluorescência inicial (Fo). Um pulso de luz branca saturada  $(6000 \, \mu \text{mol m}^{-2} \, \text{s}^{-1})$  foi aplicado para garantir a emissão máxima de fluorescência (Fm). Posteriormente, pulsos de luz branca saturantes foram aplicados para atingir a fluorescência máxima (Fm'). A luz actínica foi então desligada e uma iluminação vermelho-distante foi aplicada para medir a fluorescência inicial adaptada à luz (Fo'). A partir dessas medições, os seguintes parâmetros foram calculados: eficiência fotoquímica efetiva de PSII  $[F \, v \, ' \, F \, m \, ' = (F \, m \, ' - F \, o \, ') \, / \, F \, m \, ']$  (OXBOROUGH; BAKER, 1997) e a taxa de transporte de elétrons (ETR).

#### 2.7. Coleta do material para análise bioquímica

Foram realizados cortes de aproximadamente 5 cm do ápice para a base da segunda ou terceira folha completamente expandida e sadia do coqueiro. Esse material foi armazenado em envelopes de alumínio identificado e mergulhado imediatamente no nitrogênio líquido e armazenadas em freezer, - 20 °C, até a análise.

Aproximadamente 20 mg de matéria fresca foram maceradas em 250 µL de etanol 98%, posteriormente incubadas por 20 minutos a 80 °C e centrifugadas por 7 minutos a 13.000 rpm em 28 °C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em outro microtubo. O resíduo foi lavado novamente de forma separada por etanol 80% e 50% repetindo o processo anteriormente descrito. O sobrenadante das três lavagens, armazenado em um único microtubo (extrato vegetal), e o material precipitado foram acondicionadas no freezer -20 °C. Esses materiais foram utilizados nas análises bioquímicas.

#### 2.8. Quantificação de clorofila

Para a quantificação de clorofila foi retirado uma alíquota de 35 μL de extrato vegetal e adicionado ao meio de reação contendo 120 μL de etanol 98% e 15 μL de mix etílico (etanol 98%; 80%; 50% na mesma proporção) em placa de 96 poços (volume final de 170 μL). Foram realizadas leituras com comprimento de onda de 645 e 665 nm das amostras em um espectrofotômetro Multiskan (Thermofisher Scientific, Vaarta, Finlândia). As concentrações de

clorofila A (Chl<sub>a</sub>), clorofila B (Chl<sub>b</sub>), razão de clorofila A e B (Chl<sub>a</sub>/Chl<sub>b</sub>) e clorofila total (Chl<sub>a+b</sub>) foram estimadas de acordo com as fórmulas A e B descritas por Porra et al. (1989).

Chla = 
$$5.48*$$
Abs $665 - 2.16*$ Abs $645 (\mu g/poço) (A)$ 

Chlb = 
$$9.67*Abs645 - 3.04*Abs665 (\mu g/poço)$$
 (B)

#### 2.9. Quantificação de glicose, frutose e sacarose

A glicose, frutose e sacarose foram estimados através do ensaio de substrato enzimático contínuo, descrito por Fernie et al., (2001). Foi utilizado uma alíquota de 20  $\mu$ L do extrato etanólico obtido anteriormente para a montagem do meio de reação de 205  $\mu$ L (KOH 0,1 M + 30 mM MgCl<sub>2</sub> em pH 7,0); 4,65  $\mu$ L de ATP 109 mM (60 mg mL<sup>-1</sup>); 4,65  $\mu$ L de NADP<sup>+</sup> 48,4 mM (36 mg mL<sup>-1</sup>); 0,77  $\mu$ L de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH – 700 U mL<sup>-1</sup>); 25  $\mu$ L de etanol 80% e 40 $\mu$ L de H<sub>2</sub>O ultra pura] em microplaca por poço. Para a leitura, foi utilizado um espectrofotômetro Multiskan (Thermofisher Scientific, Vaarta, Finlândia), ajustado no comprimento de 340 nm. A cinética foi avaliada por meio de formação do NADPH resultante da reação de adição da Hexocinase (1,5 U em 5  $\mu$ L), possibilitando a quantificação de glicose presente no extrato. Após a estabilização da reação, foi adicionado Phosphoglucose isomerase - PGI (0,7 U em 5  $\mu$ L), formando novamente NADPH, possibilitando nesta fase, determinar a quantidade de frutose no extrato. Por fim, após a estabilização da reação, foi adicionado a Invertase (5 U em 5  $\mu$ L) para a quantificação da sacarose, a partir da isomerização e posteriormente oxidação da glicose e frutose com a formação de NADPH. Os cálculos foram baseados na equação:

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

Os valores foram corrigidos considerando a massa inicial das amostras e os resultados foram expressos em mmol de glicose, frutose e sacarose kg<sup>-1</sup> massa seca (MS).

#### 2.10. Quantificação de amido

Para a determinação do amido, o precipitado da extração etanólica foi solubilizada por aquecimento a 95 °C, em 400 μL de KOH (0,2 M). Em seguida, 61,25 μL de solução de ácido acético (1 M) para neutralização e em seguida a degradação do amido. Essa degradação ocorreu

a partir da adição de 40  $\mu$ L de extrato neutralizado e 60  $\mu$ L do mix de degradação [59  $\mu$ L de tampão acetato de sódio (50 mm, pH 4,9) + 1  $\mu$ L de amilo glucosidase (170 U mL<sup>-1</sup>) + 0,012  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilase (325 U mL<sup>-1</sup>)]. Essa solução foi incubada a 56 °C por uma hora para que ocorresse a degradação do amido.

Após essa etapa, foi retirado uma alíquota de 30 μL do extrato obtido e adicionado em meio de reação de 200 μL [150 μL de tampão HEPES (KOH 1 M + 30 mM MgCl<sub>2</sub> em pH 7,0); 4,65 μL de ATP 109 mM (60 mg mL<sup>-1</sup>); 4,65 μL de NADP<sup>+</sup> 48,4 mM (36 mg mL<sup>-1</sup>); 0,77 μL de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH – 700 U mL<sup>-1</sup>) e 40μL de H<sub>2</sub>O ultra pura] em microplaca de 96 poços. A leitura ocorreu em um espectrofotômetro Multiskan (Thermofisher Scientific, Vaarta, Finlândia), com o comprimento de onda ajustado em 340 nm. A cinética foi avaliada por meio da formação de NADPH, devido a adição de 2 U de Hexocinase (2 U em 5 μL), sendo possível estimar o conteúdo de amido determinado como equivalentes de glicose (HENDRIKS et al., 2003) de acordo com a equação:

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

#### 2.11. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados (DBC), composto de quatro tratamentos: T1- controle; T2- *Bacillus* sp. - MN393059; T3- *Trichoderma asperellum* (UFRA T-09, T-17 e T-19); e T4- mix (bactéria + fungo), com 5 repetições constituídas de 20 sementes cada, apenas para avaliações de germinação e emergência, e 5 repetições para a variáveis de emergência, parâmetros biométricos e trocas gasosas. Os dados foram submetidos a teste de normalidade e análise de variância, sendo as médias das variáveis comparadas pelo teste Tukey (p < 0.05) através do software R (R CORE TEAM, 2020).

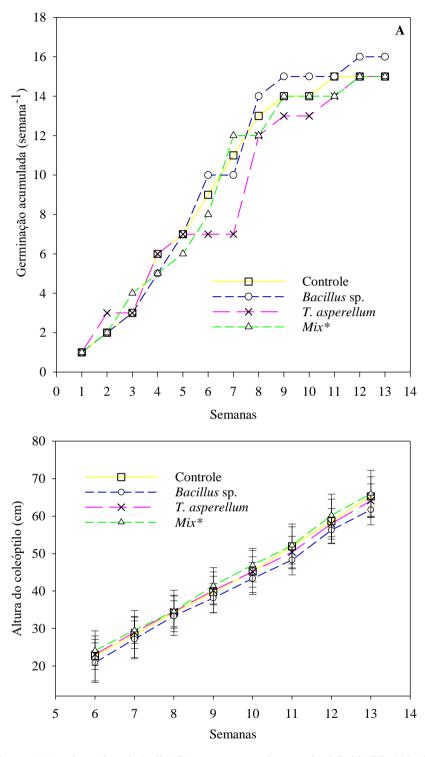
#### 3. RESULTADOS

Para considerar a semente como germinada, foi avaliada a altura do coleóptilo do embrião durante a emergência e quantidade de sementes germinadas ao longo do tempo, conforme observado na figura 1. Foi considerado para o início das observações de crescimento, o tempo médio de germinação (TMG) atingindo 51% em todos os tratamentos (Tabela 1).

As sementes controle de coqueiro híbrido apresentam germinação de 73% com alta variação ao longo do tempo avaliado (Tabela 1). A partir da segunda semana, foi possível verificar as plúmulas sendo emergidas no mesocarpo, de forma mais frequente. Antes disso, apenas algumas sementes isoladas conseguiram atravessar essa barreira. Os resultados indicaram que o tempo para a germinação dessas sementes é de 9 semanas, isso indica que após esse período, não há germinação que irá interferir de forma significativa.

A germinação acumulada na primeira semana de avaliação já registrava sementes em processos de emergência nos tratamentos bioestimulados (Figura 1.A). Nas semanas seguintes, observa-se um comportamento variado até a nona semana, onde houve uma estabilização da germinação acumulada, com média de 14 sementes para os tratamentos bioinoculados.

A altura do coleóptilo apresentou comportamento semelhante entre os tratamentos em relação ao crescimento no decorrer das semanas para todos os tratamentos (Figura 1.B). Na oitava semana, os tratamentos apresentaram seus valores próximos, com médias de 34,16 cm no controle; 33,29 cm para *Bacillus* sp.; 34,49 cm para o *T. asperellum* e 34,58 cm para o *mix*. Posteriormente, é possível observar que houve variação na altura do coleóptilo. O tratamento *mix* teve maior média de todos os tratamentos na 13ª semana.



**Figura 1.** Germinação (A) e altura do coleóptilo (B) em sementes de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) submetidos a inoculações com bioestimulantes na 13ª semana em caixa germinadora. Valores representam média de 10 repetições constituídos de 20 sementes cada. Os tratamentos não se diferiram entre si pelo teste Tukey (p < 0,05). \*Coinoculação com *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*.

Os valores encontrados para germinação (G%) dos tratamentos bioinoculados apresentaram diferença estatística nas médias encontradas. O tratamento *Bacillus* sp. teve

melhor comportamento para a variável em questão, com 82% de germinação. Esse valor teve incremento de 14% em relação ao controle. Os tratamentos de *T. asperellum* e o *mix* indicaram incrementos de 4% e 7%, respectivamente, em relação ao controle.

Para o parâmetro de índice de crescimento (IC), a variação dos valores médios obtidos dos tratamentos bioinoculados em relação ao controle foi entre 19% a 23%, onde o *Bacillus* sp. obteve maior destaque, seguido pelo *T. asperellum*. O parâmetro de índice de vigor (IV) apresentou comportamento semelhante ao IC para os tratamentos avaliados. A variação do acréscimo dos tratamentos bioinoculados foi entre 18% a 21%, em relação ao tratamento controle.

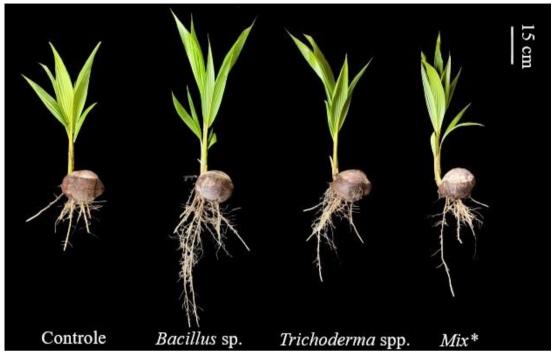
**Tabela 1.** Parâmetros na germinação (G%), índice de crescimento (IC), índice de vigor (IV) e tempo médio de germinação em semanas (TMG) de sementes de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes.

Tratamentos	G%	<b>⁄o</b>	IC		IV		TMG	
Controle	73% <b>b</b>	± 2,7	4799,84 <b>b</b>	± 273,5	3659,88 <b>b</b>	± 191,45	5,61 <b>a</b>	± 0,52
Bacillus sp.	82% <b>a</b>	$\pm 2,7$	5907,42 <b>a</b>	$\pm 559,70$	4435,19 <b>a</b>	$\pm 391,79$	5,98 <b>a</b>	$\pm 0,58$
T. asperellum	75% <b>ab</b>	± 5,0	5807,54 <b>a</b>	$\pm$ 564,18	4365,28 <b>a</b>	$\pm 394,92$	5,93 <b>a</b>	$\pm 0,14$
Mix*	77% <b>ab</b>	± 7,5	5723,54 <b>ab</b>	$\pm605{,}06$	4306,48 <b>ab</b>	$\pm$ 423,54	5,83 <b>a</b>	$\pm$ 1,09

Valores representam médias de 10 repetições biológicas constituído de 20 sementes ± desvio padrão. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0,05). \*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*.

Ao final do período de pré-viveiro, as plântulas controle apresentaram diâmetro de coleto de 22 mm e 60 cm de altura considerando o conjunto de plantas semelhantes em termos de crescimento. As folhas ainda não se diferenciaram nessa fase, apresentando três folhas completas e uma em expansão (Figura 1), conferindo uma área foliar de 930 cm² em condições de campo. Em relação as raízes, foi registrado 46 cm de comprimento, com maior proporção de raízes primárias em relação as raízes secundárias.

Para as variáveis de crescimento, os tratamentos apresentaram comportamentos distintos (Figura 2). No crescimento da parte aérea os tratamentos *Bacillus* sp. e *mix* apresentaram destaques positivos, com aumento de 10% e 9% em relação ao controle. Em relação ao diâmetro do coleto, não houve diferença entre os tratamentos, assim como no número de folhas. Porém, na área foliar, registrou-se um incremento para as plantas bioinoculadas, com o maior valor para o tratamento coinoculado, com aumento em 13% em relação a planta controle. Em relação a biomassa da planta, a parte aérea e as raízes tiveram ganhos de massa nos tratamentos bioinoculados, com ênfase no *Bacillus* sp., que apresentou o maior ganho em relação ao controle, correspondendo aumento de 18% na parte aérea e 54% no sistema radicular. (Tabela 2).



**Figura 2.** Aspecto visual das plântulas de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes. \*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*.

**Tabela 2.** Biometria de plântulas de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes.

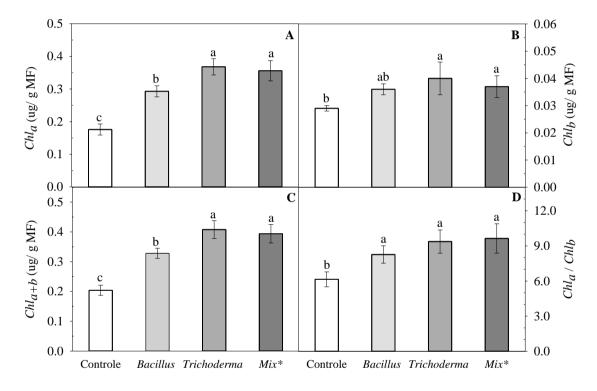
Variáveis/isolados	Controle Bacillus sp.		T. asperellum	Mix*
Biometria				
Altura da plântula (cm)	64,30 b	71,02 a	62,8 b	70,1 a
Diâmetro do coleto (mm)	25,74 a	27,01 a	24,87 a	28,05 a
Número de folhas	3,00 a	3,00 a	3,00 a	3,00 a
Área foliar (cm²)	930,12 b	972,57 ab	1027,10 ab	1038,10 a
Comprimento da raiz (cm)	46,08 b	58,78 a	56,26 ab	57,40 a
Biomassa				
Parte aérea (g)	21,24 c	25,05 a	22,03 bc	23,52 ab
Raiz (g)	4,07 b	6,28 a	5,77 a	4,51 b

Valores representam médias de 5 repetições biológicas escolhidas de acordo com o comportamento fenotípico dos tratamentos. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0,05). \*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*.

Em relação aos parâmetros fisiológicos, as plântulas de coqueiro híbrido com 13 semanas após a semeadura conseguem assimilar em torno de 12 μmol de CO<sub>2</sub> m² s⁻¹ isso referente a uma massa total de clorofila de 0,2 μg/ g de matéria fresca. Nesta fase de pré-viveiro, a proporção de *Chla* e *Chlb* é de 6:1. A transpiração fica próximo de 4 mmol de H<sub>2</sub>O/m² s⁻¹. Para o teor de açucares, a presença de amido é maior em relação aos outros (glicose, frutose e

sacarose), atingindo valores de 100 µg/ g de matéria fresca. Depois deste, em termos de teores de concentração, está a sacarose, frutose e glicose nesta ordem.

Todas os bioestimulantes induziram aumentos nos teores de clorofila (Figura 3). O *T. asperellum* e o tratamento coinoculado dobraram os teores para *Chla* (Figura 3.A). Em relação a *Chlb*, os aumentos foram de 32% para os mesmos tratamentos (Figura 3.B). Consequentemente, esses tratamentos tiveram os melhores desempenhos neste parâmetro. A relação de *Chla* para *Chlb* também obteve ganhos nos tratamentos bioestimulados com incrementos de 33% para o Bacillus sp. e 50% para o *T. asperellum* e o coinoculado (Figura 3.D).

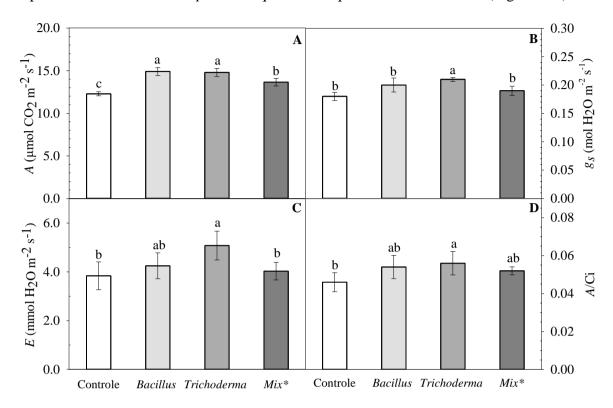


**Figura 3.** Teores de clorofila em plântulas de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes. \*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*. Valores representam médias de 5 repetições biológicas escolhidas de acordo com o comportamento fenotípico dos tratamentos. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0,05).

Os parâmetros de trocas gasosas estão apresentados na figura 4. Em relação a taxa de assimilação líquida de  $CO_2$  (A), as plantas bioinoculadas foram significativamente superiores ao controle, tendo com *Bacillus* sp., e T. asperellum, aumentos de 21% e o tratamento mix de 11% quando comparados ao controle (Figura 4.A).

Em relação a condutância estomática ao vapor de água  $(g_s)$ , o T. asperellum foi o único tratamento que se destacou, apresentando 18% de incremento em relação ao controle (Figura

4.B). A transpiração (*E*) apresentou aumento de 11% para plantas tratadas com *Bacillus* sp. e surpreendentes 32% no *T. asperellum* quando comparado com o controle (Figura 4.C). Todas



as plantas bioinoculadas induziram aumento na eficiência de carboxilação  $(A/C_i)$  que variaram entre 13% a 21% (Figura 4.D).

**Figura 4.** Taxa de assimilação líquida de  $CO_2$  - A (A), condutância estomática ao vapor de água -  $g_s$  (B), transpiração - E (C) e eficiência de carboxilação - E (D) em planta jovem de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes. \*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*. Valores representam médias de 5 repetições biológicas escolhidas de acordo com o comportamento fenotípico dos tratamentos. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0,05).

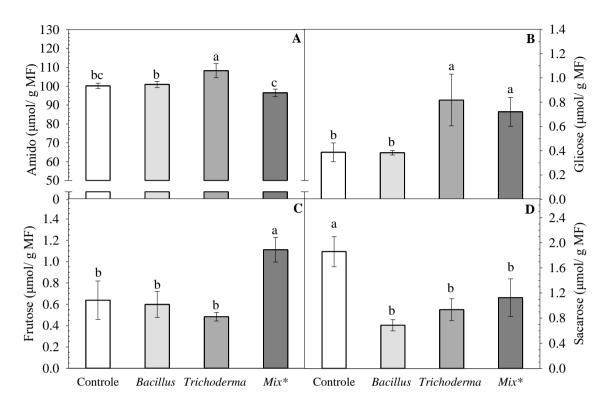
Dentre os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* (figura 5), destaca-se a eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (PSII) (*Fv'/Fm'*) nas plântulas bioinoculadas. Nestes, os aumentos foram de 23% para *Bacillus* sp.; 35% para *T. asperellum* e 27% no tratamento coinoculado em relação ao controle (Figura 5.A). A cadeia de transporte de elétrons (ETR) também ocasionou aumento, com aumento de 8% nos tratamentos bioinoculados em comparação com o controle (Figura 5.B). Em relação a florescência inicial (*Fo*) todos os tratamentos apresentaram reduções consideráveis atingindo valores de 46%, 68% e 59% para os tratamentos *Bacillus* sp., *T. asperellum* e o *mix*, respectivamente, em relação ao controle (Figura 5.C). Para florescência máxima (*Fm*) o *Bacillus* sp. e o *mix* se destacaram, com aumentos de 13% e 6% respectivamente em comparação com o controle (Figura 5.D).

100 1.4 В A 1.2 ab 1.0 a ab b T a T ab 0.8 0.6 0.4 20 0.2 0.0 0 C D 400 2500 Ι Ι 300 2000 Ι 1500 🖺 200 bc 1000 100 500 0 0 Controle Bacillus Trichoderma Mix\*Controle Bacillus Trichoderma Mix\*

**Figura 5.** Eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II - Fv'/Fm' (A), taxa de transporte de elétrons – ETR (B), fluorescência inicial - Fo (C) e fluorescência máxima – Fm (D) em planta jovem de coqueiro híbrido PB-141 ( $Cocos\ nucifera\ L$ .) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes. \*Coinoculação de  $Bacillus\ sp.$  e  $Trichoderma\ asperellum$ . Valores representam médias de 5 repetições biológicas escolhidas de acordo com o comportamento fenotípico dos tratamentos. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0.05).

As concentrações de açúcar e amido estão descritas na figura 6. Nas plântulas controle, a concentração de açucares, em ordem decrescente, foi sacarose, frutose e glicose e esse mesmo comportamento foi percebido nas plântulas inoculadas com *Bacillus* sp. e Coinoculado de *Bacillus* sp. e *T. asperellum*. A exceção foi nas plântulas inoculadas com *T. asperellum* onde a ordem decrescente de concentração de açucares foi sacarose, glicose e frutose, mostrando uma inversão de glicose e frutose em relação ao demais tratamentos.

A concentração de amido foi somente alterada em plântulas com *T. asperellum* com aumento de 8% em relação as plântulas controle (Figura 6.A). Em comparação ao controle, as plântulas inoculadas com o *T. asperellum* e o tratamento coinoculado tiveram destaques para concentração de glicose, com 113% e 89% de aumento, respectivamente (Figura 6.B). A concentração de frutose em plântulas coinoculadas obteve incremento em 76% (Figura 6.C). Por outro lado, plantas bioestimuladas redução média em 52% na concentração de sacarose comparado ao controle. (Figura 6.D).



**Figura 6.** Teores de amido (A), glicose (B), frutose (C) e sacarose (D) em plântulas de coqueiro híbrido PB-141 (*Cocos nucifera* L.) na 13ª semana em caixa germinadora submetidos a inoculações com bioestimulantes\*Coinoculação de *Bacillus* sp. e *Trichoderma asperellum*. Valores representam médias de 5 repetições biológicas escolhidas de acordo com o comportamento fenotípico dos tratamentos. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra entre os microrganismos utilizados, não diferem entre si, pelo teste Tukey (p < 0,05).

#### 4. DISCUSSÃO

A utilização de bioestimulantes alterou a germinação de semente de coqueiro e potencializou o estabelecimento das plântulas e consequentemente seu vigor. Em condições de campo, os incrementos observados no IC e IV indicam os efeitos destes microrganismos, *Bacillus* sp. e *T. asperellum*, no crescimento inicial das plântulas, conforme observado na tabela 1. A prática da bioinoculação promove o crescimento em plântula de arroz (CHAMAM et al., 2013), alterando a fisiologia e funcionamento dos tecidos pela disponibilidade e absorção de nutrientes além de desencadear respostas sistêmicas referentes a expressão de genes e acúmulos de metabólitos (VACHERON et al., 2013).

A interação dos microrganismos com as sementes não foi refletida na altura do coleóptilo (Figura 1.B), fato observado no comportamento dos tratamentos que não obtiveram diferença ao longo do tempo para a variável em questão. Essa análise considerou todas as sementes, logo, devido as barreiras físicas da morfologia da semente e ao seu grau de

maturação, provavelmente tiveram sementes que emergiram de forma mais tardia, interferindo na média total de determinado tratamento. Segundo Sáenz et al. (2013) a alta variabilidade dos eventos da germinação é ocasionada pela heterozigose das palmeiras.

Por outro lado, a porcentagem de germinação dos tratamentos bioinoculados foi superior (Tabela 1). Essa percepção pode estar relacionada nas observações de germinação que foram realizadas, uma vez que para este experimento, foi considerado a emergência da plúmula, e nesse estádio a emissão da radícula já ocorreu. Logo, a interação dos microrganismos já se torna efetiva nas primeiras raízes emitidas, refletindo nos resultados de estabelecimento das sementes bioestimuladas. O maior valor de G% para o tratamento com bactérias pode ter ocorrido devido ao estímulo dessa em associação com a radícula, pois a bactéria pode modular a síntese de ácido indolacético (AIA), citocininas, e de compostos voláteis (e,g, butanodiol e acetoína) estimulando, consequentemente, a emergência (TRUYENS et al., 2015). Em ensaios com nabo forrageiro, Junges et al. (2017) também verificou que a inoculação de *Bacillus subtilis* obteve melhores resultados que o *T. asperellum* no parâmetro de porcentagem de germinação.

No comprimento da parte aérea, foi observado comportamentos distintos entre os microrganismos e sua coinoculação (Tabela 2). Segundo Jambon et al. (2018), a dinâmica dos fungos e bactérias são distintos, uma vez que fatores como a microbiota do solo e a interação das espécies irão interferir nos efeitos refletidos na espécie vegetal. Efeitos de *Bacillus* sp. e *Trichoderma harzianum* aplicados de forma isolada ou coinoculado demostraram efeitos positivos e negativos em parâmetros de trocas gasosas, crescimento e acúmulo de nutrientes em mudas de banana (MOREIRA et al., 2021).

Em relação ao número de folhas e ao diâmetro do coleto não foi possível verificar diferença das plântulas bioinoculadas em relação as plântulas controle (Tabela 2). No entanto, o efeito dos microrganismos aumentou a área foliar. Esses efeitos podem estar relacionados na fase avaliada da produção de mudas do coqueiro, visto que a fase de pré-viveiro confere em torno de 120 dias (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 2018). Porém, essa resposta não significa que a produção de mudas bioestimuladas não irá interferir de forma positiva na quantidade de folhas e na espessura do coleto. George et al, (2013) evidenciaram que tratamentos inoculados com *Serratia marcescens* e *Enterobacter* sp, promoveram aumento de 7% no diâmetro da muda de 6 meses de idade. Enquanto Indriyanti et al, (2020) mostraram incrementos com a inoculação de *T. asperellum* no número de folhas apenas a partir do segundo mês de mudas de coqueiro.

A aplicação isolada e conjunta de *Bacillus* sp. indicou maior acúmulo de biomassa no sistema radicular em relação as plântulas controle (Tabela 2). Em trabalhos anteriores, a mesma cepa bacteriana (MN393059) indicou produção de AIA, sideróforos e solubilização de fosfato em testes bioquímicos (CARDOSO et al., 2021). Essa capacidade pode ter conferido maior crescimento radicular, uma vez que essas bactérias podem regular a relação de triptofano, que é precursor para a biossíntese de AIA na planta (ZHANG, Nan et al., 2015). Em mudas de palma de óleo inoculadas com rizobactérias foi observado aumento no crescimento das raízes primárias e secundárias, e foi atribuído a maior síntese de AIA (ASTRIANI et al. 2016). Além disso, o maior crescimento radicular pode ser atribuído a capacidade das rizobactérias de sintetizar a enzima ACC-desaminase, a qual diminui os níveis do hormônio etileno que atua como inibidor do crescimento, aumentando a relação AIA/ etileno (ASLANTAŞ et al. 2007; VAN LOON 2007).

O crescimento da parte aérea teve valores mais expressivos nos tratamentos com o *Bacillus* sp. isolado e coinoculado (Tabela 2). Consequentemente os valores de biomassa da parte aérea acompanharam esse comportamento. Os resultados corroboram que o aumento da raiz e a sua dinâmica interferiu na partição de carbono para a parte aérea, onde a planta irá equilibrar o suprimento de carbono, que está relacionado a quantidade de nutrientes e água absorvidos nas raízes e na parte aérea com o produto do processo fotossintético. Esse equilíbrio irá determinar os padrões de crescimento na planta (VANLERBERGHE et al., 2020)

O desenvolvimento do sistema radicular, em fases iniciais das culturas, induzidos pelos microrganismos não está diretamente associado com o crescimento da parte aérea. Essa relação pode ser atribuída a maior área de contato das raízes com a solução do solo e isso irá conferir melhor absorção de água e nutrientes, permitindo assim o desenvolvimento do sistema radicular e que provavelmente, de forma mais tardia, irá refletir na parte aérea (AMIR et al., 2005).

Os microrganismos podem afetar características fisiológicas das plantas. Neste estudo verificou-se o aumento de todos os teores de clorofila "a" e "b" nas plântulas bioestimuladas (Figura 3). Aumentos nos teores de clorofila total também foram relatados em folhas de morangueiro do cultivar "Chandler" inoculados com *Bacillus licheniformis* e *B. subtilis* (MIKICIUK et al., 2019). Da mesma forma, plantas de pepino inoculadas com o *Trichoderma pseudokoningii* tiveram melhores resultados, com incrementos de 40% em relação ao controle (LI et al., 2019).

Os melhores resultados de teor de clorofila para os tratamentos bioestimulados pode estar relacionado com o aumento da absorção de nutrientes como nitrogênio e fósforo,

ocasionado pelo incremento do sistema radicular, que também foi relatado nos trabalhos com mudas de bananeira e inoculação com *Trichoderma asperellum* (MOREIRA et al., 2021) e mudas de tomateiro inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* (SZILAGYI-ZECCHIN et al., 2015).

Os valores mais expressivos nos tratamentos inoculados com o fungo revelam uma melhor estratégia desses seres em relação a essa variável. Possivelmente esses microrganismos possibilitaram uma eficiência na absorção de nutrientes através de solubilização e quelação de minerais, que são mecanismos envolvidos no crescimento de plantas induzidas por *Trichoderma* (HARMAN et al., 2007). O alto teor de clorofila geralmente está relacionado a uma alta taxa de fotossíntese, o que pode favorecer melhor adaptação das mudas após o transplantio (AFONSO et al., 2017).

Os resultados indicam que o período de caixa de sementes pode ser reduzido, uma vez que a resposta fisiológica no controle, avaliada na 13ª semana, evidenciou valor de 12,28 µmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> para *A* (figura 4.A). Cardoso et al. (2021), em experimento com coqueiro anão verde e uso de *Bacillus* sp, encontrou aproximadamente valores de 7 µmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> para *A* em mudas controle de 3 três meses de idade, A fotossíntese permite a produção de fotoassimilados para o crescimento e desenvolvimento das mudas (SMITH, Millicent R; RAO; MERCHANT, 2018), logo o aumento da taxa de *A* influenciada por microrganismos pode auxiliar no transplantio precoce das plântulas de coqueiro.

Atualmente, o uso de parâmetros fotossintéticos como marcadores metabólicos de indução sistêmica por agentes microbianos está aumentando. Os microrganismos utilizados nesse estudo contribuíram para o aumento dos valores de *A*, com incrementos entre 11-21% em relação ao controle (Figura 4.A). Uma alta taxa na fotossíntese na maioria dos casos se relaciona com o grau de abertura dos estômatos, que permite maior entrada de CO<sub>2</sub> nas folhas (MINER; BAUERLE; BALDOCCHI, 2017). Entretanto, os valores de *gs* não apresentaram esse comportamento, registrando aumento de 17% apenas nas plântulas inoculadas com *T. asperellum* em comparação com o controle que apresentou média de 0,18 mol, H<sub>2</sub>O/ m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> (Figura 4.D). Assim, a maior taxa fotossintética pode estar associada a eficiência da carboxilação da ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (SHI; LOU; LI, 2010) como foi refletido nos valores de *A*/Ci, onde todas as plântulas bioinoculadas registraram aumentos de 13% a 22%, dependendo do tratamento avaliado (figura 4.D).

Outro fator que pode estar associado a maior taxa fotossintética dos tratamentos bioinoculados é o incremento do comprimento do sistema radicular (Tabela 2). Segundo

(NASCENTE et al., 2017) os microrganismos benéficos presentes na rizosfera são capazes de sintetizar ácido indol-acético (AIA) através de compostos exsudados pela planta proporcionando esse crescimento nas raízes. A otimização do sistema radicular, beneficia a absorção de água e nutrientes promovendo ainda mais a fotossíntese (PAN et al., 2019), Resultados semelhantes foram observados por Castro et al. (2020), onde rizobactérias induziram crescimento radicular de até 36% em mudas de açaizeiro com 5 meses de idade em comparação com plântulas não inoculadas, que registraram 22,70 cm de comprimento.

A transpiração é de fundamental importância, pois permite a manutenção térmica da planta, turgescência e pressão osmótica das células além de servir como meio de transporte de dos nutrientes minerais para todos os tecidos vegetais (LIN et al., 2017). Segundo Fan et al. (2015), em condições de abundância hídrica, a transpiração se torna vantajosa devido a translocação de água favorecer os produtos da fotossíntese, sucedendo ganhos no crescimento vegetal. Neste estudo, o uso de *T. asperellum*, de forma isolada mostrou potencial na melhoria dos parâmetros de transpiração, resultando em aumentos de 32% em relação à média do controle (Figura 4.C)

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* indicam o estado de funcionamento do fotossistema II (PSII) e como essa energia oriunda dos elétrons que são absorvidos nos complexos antena está sendo utilizada, seja na forma de absorção para a geração de ATP e NADPH no processo fotoquímico, na dissipação do excesso de energia em forma de calor ou na reemissão da luz em forma de fluorescência, sendo estes dois últimos prejudiciais ao PSII (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Os valores de ETR e *Fv/Fm'*, com incrementos de 7-9% e 23-35%, nesta ordem nos tratamentos bioinoculados em relação ao controle (figura 5.A e B) podem estar associados a maior capacidade da plastoquinona de realizar reações de oxidoredução além de presumir maior integridade das proteínas D1, responsáveis pela transferência de elétrons (LUCAS et al., 2014; SURESH et al., 2012).

O processo fotossintético possibilita a produção e utilização de carboidratos que vão estar intimamente relacionados com o acúmulo de biomassa na planta. Esses carboidratos fornecem energia para a manutenção do metabolismo e crescimento nas espécies vegetais (SMITH; ALISON; STITT, 2007). O excesso de açucares produzidos pelo processo fotossintético são armazenados nas folhas em forma de carboidratos não estruturais, como sacarose e amido transitório. Este processo irá garantir o suprimento de carbono até que a planta tenha acesso a luz novamente. (SULPICE et al., 2014).

Para o conteúdo de amido foi observado maior concentração quando comparados com os açucares (sacarose, frutose e glicose) (Figura 6). A elevada concentração de amido em plântulas provavelmente está relacionada com os tecidos de reserva, no caso das palmeiras, o haustório, que detém grande quantidade desse carboidrato nesse estágio, corroborando com os resultados de concentrações de amido em plântulas das espécies de palmeira *Butia capitata* (OLIVEIRA et al., 2013) e *Acrocomia aculeata* (BICALHO et al., 2016). O *T. asperellum* induziu maior acúmulo de amido entre os tratamentos testatados, com 8% de aumento em relação ao controle. Shoresh e Harman (2008) observaram que o aumento do amido em mudas de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum* estava relacionada com o conteúdo de gliceraldeído-3-P-desidrogenase (GAPDH) que é uma enzima essencial na via glicolítica e essa via está intimamente relacionada a síntese de amido.

Durante o dia, as plantas armazenam os produtos fotossintéticos excedente em forma de amido, para então serem utilizados quando não há o fornecimento de radiação. Esse amido é convertido em açucares mais simples, como glicose e frutose, que são exportados do cloroplasto para serem sintetizados em sacarose. Essa dinâmica supri as demandas energéticas das plantas quando não há o funcionamento da maquinaria fotossintética. (SMIRNOVA; FERNIE; STEUP, 2015).

Em relação aos açucares (Figura 6 B C e D), a aplicação dos bioestimulantes induziram a utilização mais evidente de sacarose nas plântulas bioestimuladas. Esse comportamento indica que os bioestimulantes induziram o consumo de sacarose, provavelmente para fornecer energia para os eventos metabólicos, que irá contribuir com os processos de crescimento (TOGNETTI; PONTIS; MARTÍNEZ-NOËL, 2013). Os efeitos mais expressivos da bioestimulação nesse açúcar pode estar relacionando com a sua motilidade nos tecidos, uma vez que a translocação desse carboidrato é maior que a glicose e frutose, ocasionado maior utilização deste pela planta (YOON et al., 2021), refletindo no menor teor nas folhas bioestimuladas. O acúmulo de açúcares induzido por *Trichoderma harzianum* (T22) em plantas de tomate tem sido relacionada com a regulação positiva de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos e fotossíntese (COPPOLA et al., 2019). Em relação a inoculação fúngica, o Trichoderma pode não só afetar a distribuição e o metabolismo da sacarose dentro da planta como elas representam um mecanismo de reconhecimento planta-fungo importante para uma simbiose duradoura (ESPARZA-REYNOSO et al., 2021). Por outro lado, os resultados bioquímicos em plântulas de coqueiro corroboraram com os estudos de Radhakrishnan e Lee (2017) que verificaram

incrementos de sacarose e glicose quando inoculou *Bacillus methylotrophicus* em plântulas de gergelim.

De modo geral, os resultados mostraram que a inoculação de *Bacillus* sp. e *T. asperellum* influenciam de forma diferente em características fisiológicas, morfológicas em plântulas coqueiro, A resposta de cada espécie de microrganismo irá depender do modo de ação e compatibilidade dos isolados e das suas combinações. Portanto, sugerimos que a eficiência dos microrganismos promotores de crescimento é influenciada pela existência de uma especificidade inerente de cada microrganismo. Além de que essa eficiência dos microrganismos promotores de crescimento pode ser influenciada pelo ambiente de crescimento ou pela existência de especificidade na combinação de espécies de micróbios.

## 5. CONCLUSÃO

A aplicação de microrganismos promotores de crescimento estimulou o processo germinativo, aumentou o vigor e a precocidade de obtenção de mudas de *Cocus nucifera* L. O estímulo observado nesse trabalho evidencia que aplicação durante o processo germinativo, de *Bacillus* sp. e *T. asperellum* reduzem o período de emergência da plântula e contribui para obtenção de plântulas antes dos 90 dias após o semeio em canteiro.

Identificamos que independente do microrganismo utilizado foi possível avaliar as diferenças no crescimento radicular (tamanho e massa), aumento na taxa fotossintética e efeitos positivos nos parâmetros fotoquímicos avaliados. Em conjunto, as informações obtidas oferecem uma melhor compreensão da associação estabelecida entre os microrganismos e a radícula da plântula.

## 6. REFERÊNCIAS

AFONSO, M. V.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z.; VILLELA, F. A. Parâmetros fisiológicos de mudas de *albizia niopoides* produzidas em diferentes composições de substrato. **Ciência Florestal**, vol. 27, nº 4, p. 1395–1402, 2017. DOI 10.5902/1980509830221. Acessado em: 8 ago. 2022.

ALFENAS, ACELINO COUTO.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. 2ª. Viçosa. 516p. 2016.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, vol. 22, n° 6, p. 711–728. 2013. DOI 10.1127/0941-2948/2013/0507. Acessado em: 18 ago. 2021.

- AMIR, H. G.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MARZIAH, M.; RAMLAN, M. F. Enhancement in Nutrient Accumulation and Growth of Oil Palm Seedlings Caused by PGPR Under Field Nursery Conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, vol. 36, n° 15–16, p. 2059–2066. 2005. DOI 10.1080/00103620500194270. Acessado em: 4 out. 2021.
- ARAUJO, F. F. de; GUABERTO, L. M.; SILVA, I. F. da. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em Brachiaria brizantha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 41, nº 3, p. 521–527. 2012. DOI 10.1590/S1516-35982012000300007. Acessado em: 4 out. 2021.
- ARIVALAGAN, M.; MANIKANTAN, M.; YASMEEN, A. YASMEEN, A. M., SREEJITH, S., BALASUBRAMANIAN, D., HEBBAR, K. B., & KANADE, S. R. Physiochemical and nutritional characterization of coconut (*Cocos nucifera* L.) haustorium based extrudates. **LWT**, 89, 171-178. 2018. DOI https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.049. Acessado em: 16 ago. 2021.
- BALACHANDRAN, C.; ARUMUGHAN, C. Biochemical and cytochemical transformations in germinating coconut (Cocos nucifera Linn.). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 72, no 11, p. 1385–1391. 1995. DOI https://doi.org/10.1007/BF02546216. Acessado on: 16 ago. 2021.
- BATUGAL, P.; RAO, R. R.; OLIVER, J. Poverty reduction in coconut growing communities: a strategy for coconut in situ/on-farm conservation. In: **Batugal P, Ramanatha Rao V, Oliver J (eds) Coconut genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute-Regional Office for Asia, the Pacific and Oceania (IPGRI-APO)**, Serdang, pp 161–189, 2005. Acessado em: 18 jan. 2021.
- BENASSI, A. C.; FANTON, C. J.; SANTANA, E. N. de. O cultivo do coqueiro-anão-verde: tecnologias de produção. 2013. Acessado em: 18 jan. 2021.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Springer Science & Business Media, 2013. Acessado em: 16 ago. 2021.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**. 3 ed. 392p. 2013. Acessado em: 22 ago. 2021.
- BHATTACHARYYA, P. N.; GOSWAMI, M. P.; BHATTACHARYYA, L. H. Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario: a review. **Journal of Phytology**, vol. 8, p. 26. 2016. DOI 10.19071/jp.2016.v8.3022. Acessado em: 1 set. 2021.
- BICALHO, E. M.; MOTOIKE, S. Y.; E BORGES, E. E. D. L.; ATAÍDE, G. D. M.; GUIMARÃES, V. M. Enzyme activity and reserve mobilization during Macaw palm (Acrocomia aculeata) seed germination. **Acta Botanica Brasilica**, vol. 30, n° 3, p. 437–444, 1 jul. 2016. DOI 10.1590/0102-33062016ABB0181. Disponível em: https://locus.ufv.br//handle/123456789/25429. Acessado on: 15 ago. 2022.
- BRAINER, M. S. de C. P. Coco: produção e mercado. 2021. DOI 10.78511.861. Acessado em: 9 ago. 2022.

- BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (Orgs.). **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology**. Boston, MA: Springer US, 2005. DOI 10.1007/0-387-29298-5. Acessado em: 17 out. 2021.
- CAFARO, M. J.; POULSEN, M.; LITTLE, A. E. F.; PRICE, S. L.; GERARDO, N. M.; WONG, B.; STUART, A. E.; LARGET, B.; ABBOT, P.; CURRIE, C. R. Specificity in the symbiotic association between fungus-growing ants and protective Pseudonocardia bacteria. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, vol. 278, n° 1713, p. 1814–1822, 2011. DOI 10.1098/rspb.2010.2118. Acessado em: 18 out. 2021.
- CARDOSO, A. F.; ALVES, E. C.; DA COSTA, S. D. A.; DE MORAES, A. J. G.; DA SILVA JÚNIOR, D. D.; LINS, P. M. P.; DA SILVA, G. B. Bacillus cereus Improves Performance of Brazilian Green Dwarf Coconut Palms Seedlings With Reduced Chemical Fertilization. **Frontiers in Plant Science**, vol. 0, p. 919. 2021. DOI 10.3389/FPLS.2021.649487. Acessado em: 17 out. 2021.
- CARDOSO, A. F.; RÊGO, M. C. F.; BATISTA, T. F. V.; VIANA, R. G.; LINS, A. L. F. de A.; DA SILVA, G. B. Morphoanatomy and Chlorophyll of Lettuce Plants Induced by Rhizobacteria. **Journal of Agricultural Studies**, vol. 7, n° 2, p. 196. 2019. DOI 10.5296/jas.v7i4.15218. Acessado em: 23 ago. 2021.
- CHAMAM, A.; SANGUIN, H.; BELLVERT, F.; MEIFFREN, G.; COMTE, G.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; BERTRAND, C.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the Azospirillum–Oryza sativa association. **Phytochemistry**, vol. 87, p. 65–77. 2013. DOI https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2012.11.009. Acessado em: 10 ago. 2022.
- COHN, F. Untersuchungen über Bacterien. 1875. Acessado em: 24 ago. 2022.
- COPPOLA, M.; DIRETTO, G.; DIGILIO, M. C.; WOO, S. L.; GIULIANO, G.; MOLISSO, D.; PENNACCHIO, F.; LORITO, M.; RAO, R. Transcriptome and metabolome reprogramming in tomato plants by trichoderma harzianum straint22 primes and enhances defense responses against aphids. **Frontiers in Physiology**, vol. 10, n° 6, p. 745, 2019. DOI https://doi.org/10.3389/FPHYS.2019.00745/BIBTEX. Acessado em: 14 ago. 2022.
- CZYŻEWSKI, B.; MATUSZCZAK, A.; MUNTEAN, A. Approaching environmental sustainability of agriculture: environmental burden, eco-efficiency or eco-effectiveness. **Agricultural Economics (Zemědělská ekonomika)**, vol. 65, n° 7, p. 299–306. 2019. DOI 10.17221/290/2018-AGRICECON. Acessado em: 12 out. 2021.
- CASTRO, G. L. S. de; RÊGO, M. C. F.; SILVESTRE, W. V. D.; BATISTA, T. F. V.; DA SILVA, G. B. Açaí palm seedling growth promotion by rhizobacteria inoculation. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 51, no 1, 2020. DOI https://doi.org/10.1007/s42770-019-00159-2. Acessado em: 12 out. 2021.
- EKIN, Z. Integrated Use of Humic Acid and Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Ensure Higher Potato Productivity in Sustainable Agriculture. **Sustainability**, vol. 11, n° 12, p. 3417, 21 jun. 2019. DOI https://doi.org/10.3390/SU11123417. Acessado em: 22 ago. 2021.
- ESPARZA-REYNOSO, S.; RUÍZ-HERRERA, L. F.; PELAGIO-FLORES, R.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L. I.; MARTÍNEZ-TRUJILLO, M.; LÓPEZ-CORIA, M.; SÁNCHEZ-NIETO,

- S.; HERRERA-ESTRELLA, A.; LÓPEZ-BUCIO, J. Trichoderma atroviride-emitted volatiles improve growth of Arabidopsis seedlings through modulation of sucrose transport and metabolism. **Plant, Cell & Environment**, vol. 44, n° 6, p. 1961–1976. 2021. DOI 10.1111/PCE.14014. Acessado em: 14 ago. 2022.
- FAN, X.; HU, H.; HUANG, G.; HUANG, F.; LI, Y.; PALTA, J. Soil inoculation with Burkholderia sp. LD-11 has positive effect on water-use efficiency in inbred lines of maize. **Plant and Soil**, vol. 390, n° 1–2, p. 337–349, 2015. DOI 10.1007/s11104-015-2410-z. Acessado em: 6 out. 2021.
- FAO FAOSTAT. 2021. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. Acessado em: 24 mar. 2022.
- FARIAS, W. S. de; GAÍVA, H. N.; PEREIRA, W. E. Comportamento de cinco genótipos de coqueiro (Cocos nucifera L.) na fase de germinação e de crescimento de mudas, sob diferentes sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 24, nº 2, p. 458–462. 2002. DOI 10.1590/s0100-29452002000200035. Acessado em: 14 mar. 2021.
- FERNIE, A. R.; ROSCHER, A.; RATCLIFFE, R. G.; KRUGER, N. J. Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: Fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling heterotrophic cells. **Planta**, vol. 212, no 2, p. 250–263, 2001. DOI https://doi.org/10.1007/S004250000386. Acessado em: 20 jul. 2022.
- FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. A cultura do coqueiro no Brasil. 3. ed. Brasília, DF, 2018.
- FILIPPI, M. C. C.; DA SILVA, G. B.; SILVA-LOBO, V. L.; CÔRTES, M. V. C. B.; MORAES, A. J. G.; PRABHU, A. S. Leaf blast (Magnaporthe oryzae) suppression and growth promotion by rhizobacteria on aerobic rice in Brazil. **Biological Control**, vol. 58, n° 2, p. 160–166. 2011. DOI 10.1016/j.biocontrol.2011.04.016. Acessado em: 18 ago. 2021.
- FONTES, H.; FERREIRA, J.; SIQUEIRA, L. Sistema de produção para a cultura do coqueiro. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP**, nº 2, p. 458–462, 2002. Acessado em: 16 ago. 2021.
- FRIESEN, M. L.; PORTER, S. S.; STARK, S. C.; VON WETTBERG, E. J.; SACHS, J. L.; MARTINEZ-ROMERO, E. Microbially Mediated Plant Functional Traits. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, vol. 42, n° 1, p. 23–46, 4 dez. 2011. DOI 10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039. Acessado em: 15 mar. 2021.
- FRITZ, S.; SEE, L.; CARLSON, T.; HAKLAY, M.; OLIVER, J. L.; FRAISL, D.; MONDARDINI, R.; BROCKLEHURST, M.; SHANLEY, L. A.; SCHADE, S.; WEHN, U.; ABRATE, T.; ANSTEE, J.; ARNOLD, S.; BILLOT, M.; CAMPBELL, J.; ESPEY, J.; GOLD, M.; HAGER, G.; WEST, S. Citizen science and the United Nations Sustainable Development Goals. **Nature Sustainability 2019 2:10**, vol. 2, n° 10, p. 922–930, 9 out. 2019. DOI 10.1038/s41893-019-0390-3. Acessado em: 21 ago. 2022.
- GEORGE, P.; GUPTA, A.; GOPAL, M.; THOMAS, L.; THOMAS, G. v. 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 Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol. 29, n° 1, p. 109–117, 2013. DOI 10.1007/s11274-012-1163-6. Acessado em: 4 out. 2021.

- GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, vol. 2012, p. 1–15, 2012. DOI 10.6064/2012/963401. Acessado em: 9 fev. 2022.
- GROVER, M.; ALI, S. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol. 27, n° 5, p. 1231–1240, 2011. DOI https://doi.org/10.1007/s11274-010-0572-7. Acessado em: 10 abr. 2020.
- GUPTA, G.; PARIHAR, S. S.; AHIRWAR, N. K.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. **Article in Journal of Microbial & Biochemical Technology**, vol. 7, n° 2, p. 96–102, 2015. DOI 10.4172/1948-5948.1000188. Acessado em: 9 mar. 2022.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 2, n° 1, p. 43–56, 2004. DOI 10.1038/nrmicro797. Acessado em: 1 set. 2021.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions Between Trichoderma harzianum Strain T22 and Maize Inbred Line Mo17 and Effects of These Interactions on Diseases Caused by Pythium ultimum and Colletotrichum graminicola. **Phytopathology**, vol. 94, no 2, p. 147–153, 2007. DOI 10.1094/PHYTO.2004.94.2.147. Acessado em: 8 ago. 2022.
- HARRIES, H. C. Germination rate is the significant characteristic determining coconut palm diversity, 2012. DOI 10.1093/AOBPLA/PLS045. Acessado em: 16 ago. 2021.
- HENDRIKS, J. H. M.; KOLBE, A.; GIBON, Y.; STITT, M.; GEIGENBERGER, P. ADP-Glucose Pyrophosphorylase Is Activated by Posttranslational Redox-Modification in Response to Light and to Sugars in Leaves of Arabidopsis and Other Plant Species. **Plant Physiology**, vol. 133, n° 2, p. 838, 2003. DOI 10.1104/PP.103.024513. Acessado em: 15 jul. 2022.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. **Microbiology**, vol. 158, no 1, p. 17–25, 2012. DOI 10.1099/mic.0.052274-0. Acessado em: 23 ago. 2021.
- IBGE. IBGE | Cidades | Brasil | Pesquisa | Produção Agrícola Lavoura Permanente Cocoda-Bahia. **2021**. Disponível em:
- https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/11863?tipo=grafico&indicador=11929. Acessado em: 24 mar. 2022.
- INDRIYANTI, D. R.; RAHMAWATI, R.; WIDIATNINGRUM, T.; PURWANTOYO, E. Effect of Trichoderma sp. secondary metabolite on the increase in leaf number of coconut plant. **Journal of Physics: Conference Series**, vol. 1567, p. 032040, 2020. DOI 10.1088/1742-6596/1567/3/032040. Acessado em: 4 out. 2021.
- JAMBON, I.; THIJS, S.; WEYENS, N.; VANGRONSVELD, J. Harnessing plant-bacteriafungi interactions to improve plant growth and degradation of organic pollutants. **Journal of Plant Interactions**, vol. 13, no 1, p. 119–130, 2018. DOI 10.1080/17429145.2018.1441450. Acessado em: 30 set. 2021.

- JEYANTHI, V.; KANIMOZHI, S. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Prospective and Mechanisms: A Review. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, vol. 12, no 2, p. 733–749, 2018. DOI 10.22207/JPAM.12.2.34. Acessado em: 23 jan. 2022.
- JUNGES, E.; FÁTIMA, M.; MUNIZ, B.; DE OLIVEIRA BASTOS, B.; ORUOSKI, P.; MICHELON, C. J. Techniques microbiolization seed forage radish with Trichoderma spp. and Bacillus subtilis. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 12, n° 2, p. 135–141, 2017. DOI 10.5039/agraria.v12i2a5430. Acessado em: 3 ago. 2022.
- KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas, and Xanthomonas. **Phytopathology**, vol. 60, n° 6, p. 969–976, 1970. DOI https://doi.org/10.1094/Phyto-60-969. Acessado em: 17 ago. 2020.
- KHATI, P.; PARUL; BHATT, P.; NISHA; KUMAR, R.; SHARMA, A. Effect of nanozeolite and plant growth promoting rhizobacteria on maize. **3 Biotech**, vol. 8, n° 3, 2018. DOI https://doi.org/10.1007/s13205-018-1142-1. Acessado em: 17 ago. 2020.
- KLOEPPER, J. W.; REDDY, M. S.; RODRÍGUEZ-KABANA, R.; KENNEY, D. S.; KOKALIS-BURELLE, N.; MARTINEZ-OCHOA, N. Application for rhizobacteria in transplant production and yield enhancement. **Acta Horticulturae**, vol. 631, n° 631, p. 219–229, 2004. DOI 10.17660/ActaHortic.2004.631.28. Acessado em: 17 ago. 2020.
- KOKALIS-BURELLE, N.; VAVRINA, C. S.; REDDY, M. S.; KLOEPPER, J. W. Amendment of muskmelon and watermelon transplant media with plant growth-promoting rhizobacteria: Effects on seedling quality, disease, and nematode resistance. **HortTechnology**, vol. 13, n. 3, p.476-482, 2003. DOI https://doi.org/10.21273/horttech.13.3.0476. Acessado em: 17 ago. 2020.
- KUMAR, A.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Bacillus as PGPR in Crop Ecosystem. **Bacteria** in **Agrobiology: Crop Ecosystems**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 37–59. DOI 10.1007/978-3-642-18357-7\_2. Acessado em: 23 ago. 2021.
- LAMARY, L. Assess 2.0 Image Analysis Software for Plant Disease Quantification. Winnipeg, Canada, 2008.
- LÉDO, A. da S.; PASSOS, E. E. M.; FONTES, H. R.; FERREIRA, J. M. S.; TALAMINI, V.; VENDRAME, W. A. Advances in Coconut palm propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 41, n° 2, 2019. DOI 10.1590/0100-29452019159. Acessado em: 10 out. 2021.
- LI, J.; HTWE, Y. M.; WANG, Y.; YANG, Y.; WU, Y.; LI, D.; KAREEM, A.; WANG, R. Analysis of sugars and fatty acids during haustorium development and seedling growth of coconut. **Agronomy Journal**, vol. 111, n° 5, p. 2341–2349, 2019. DOI https://doi.org/10.2134/AGRONJ2019.02.0137. Acessado em: 16 ago. 2021.
- LI, M.; MA, G. shu; LIAN, H.; SU, X. lin; TIAN, Y.; HUANG, W. kun; MEI, J.; JIANG, X. liang. The effects of Trichoderma on preventing cucumber fusarium wilt and regulating cucumber physiology. **Journal of Integrative Agriculture**, vol. 18, n° 3, p. 607–617, 2019. DOI https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62057-X. Acessado em: 7 ago. 2022.

- LIN, H.; CHEN, Y.; ZHANG, H.; FU, P.; FAN, Z. Stronger cooling effects of transpiration and leaf physical traits of plants from a hot dry habitat than from a hot wet habitat. **Functional Ecology**, vol. 31, no 12, p. 2202–2211, 2017. DOI 10.1111/1365-2435.12923. Acessado em: 17 out. 2021.
- LUCAS, J. A.; GARCÍA-CRISTOBAL, J.; BONILLA, A.; RAMOS, B.; GUTIERREZ-MAÑERO, J. Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, vol. 82, p. 44–53, 2014. DOI 10.1016/j.plaphy.2014.05.007. Acessado em: 7 out. 2021.
- MAFIA, R.; ALFENAS, A.; MAFFIA, L.; ÁRVORE, E. F.-R. Microbiolização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto. **Revista Árvore**, vol. 33, nº 5, p. 789–797, 2009. DOI https://doi.org/10.1590/S0100-67622009000500002. Acessado em: 19 ago. 2021.
- MARTINS, C. R., JESUS JÚNIOR, L. A. DE. **Produção e Comercialização de Coco no Brasil Frente ao Comércio Internacional: Panorama 2014**. 1ª Edit. Aracaju, SE, 2014. Acessado em: 10 out. 2021.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, vol. 51, n° 345, p. 659–668, 2000. DOI 10.1093/jexbot/51.345.659. Acessado em: 7 out. 2021.
- MIKICIUK, G.; SAS-PASZT, L.; MIKICIUK, M.; DERKOWSKA, E.; TRZCIŃSKI, P.; GŁUSZEK, S.; LISEK, A.; WERA-BRYL, S.; RUDNICKA, J. Mycorrhizal frequency, physiological parameters, and yield of strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. **Mycorrhiza**, vol. 29, n° 5, p. 489–501, 2019. DOI 10.1007/S00572-019-00905-2/TABLES/6. Acessado em: 7 ago. 2022.
- MINER, G. L.; BAUERLE, W. L.; BALDOCCHI, D. D. Estimating the sensitivity of stomatal conductance to photosynthesis: a review. **Plant Cell and Environment**, vol. 40, n° 7, 2017. DOI https://doi.org/10.1111/pce.12871. Acessado em: 7 ago. 2022.
- MOREIRA, F. M.; CAIRO, P. A. R.; BORGES, A. L.; SILVA, L. D. da; HADDAD, F. Investigating the ideal mixture of soil and organic compound with Bacillus sp. and Trichoderma asperellum inoculations for optimal growth and nutrient content of banana seedlings. **South African Journal of Botany**, vol. 137, p. 249–256, 2021. DOI https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2020.10.021. Acessado em: 8 ago. 2022.
- NAAMALA, J.; SMITH, D. L. Relevance of Plant Growth Promoting Microorganisms and Their Derived Compounds, in the Face of Climate Change. **Agronomy**, v. 10, n. 8, p. 1179, 2020. DOI 10.3390/AGRONOMY10081179. Acessado em: 9 mar. 2022.
- NASCENTE, A. S.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; DE SOUZA, A. C. A.; DA SILVA LOBO, V. L.; DA SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, vol. 24, n° 3, p. 2956–2965, 2017. DOI 10.1007/s11356-016-8013-2. Acessado em: 6 out. 2021.

- NIRAL, V.; JERARD, B. A. Botany, Origin and Genetic Resources of Coconut. The Coconut Palm (Cocos nucifera L.) Research and Development Perspectives. Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 57–111. DOI 10.1007/978-981-13-2754-4\_3. Acessado em: 15 ago. 2022.
- OLIVEIRA, N. C. C.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; MERCANDANTE-SIMÕES, M. O.; OLIVEIRA, L. A. A.; SILVÉRIO, F. O. Seed structure, germination, and reserve mobilization in Butia capitata (Arecaceae). **Trees Structure and Function**, vol. 27, n° 6, p. 1633–1645, 2013. DOI https://doi.org/10.1007/S00468-013-0910-0. Acessado em: 15 ago. 2022.
- OXBOROUGH, K.; BAKER, N. R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components calculation of qP and Fv-/Fm-; without measuring Fo-; **Photosynthesis Research**, vol. 54, n° 2, p. 135–142, 1997. DOI 10.1023/A:1005936823310. Acessado em: 18 out. 2021.
- PAN, J.; PENG, F.; XUE, X.; YOU, Q.; ZHANG, W.; WANG, T.; HUANG, C. The Growth Promotion of Two Salt-Tolerant Plant Groups with PGPR Inoculation: A Meta-Analysis. **Sustainability**, vol. 11, n° 2, p. 378, 2019. DOI 10.3390/su11020378. Acessado em: 6 out. 2021.
- PERERA, L.; BAUDOUIN, L.; MACKAY, I. SSR markers indicate a common origin of self-pollinating dwarf coconut in South-East Asia under domestication. **Scientia Horticulturae**, vol. 211, p. 255–262, 2016. DOI 10.1016/j.scienta.2016.08.028. Acessado em: 12 out. 2021.
- PERERA, L.; PERERA, S. A. C. N.; BANDARANAYAKE, C. K.; HARRIES, H. C. Coconut Oil Crops, p. 369–396, 2009. DOI https://doi.org/10.1007/978-0-387-77594-4\_12. Acessado em: 24 ago. 2022.
- PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIEDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics**, vol. 975, n° 3, p. 384–394, 1989. DOI https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0. Acessado em: 3 jul. 2022.
- R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2020. Disponível em: https://www.r-project.org/. Acessado em: 3 jul. 2022.
- RADHAKRISHNAN, R.; LEE, I. J. Foliar Treatment of Bacillus Methylotrophicus KE2 Reprograms Endogenous Functional Chemicals in Sesame to Improve Plant Health. **Indian Journal of Microbiology**, vol. 57, n° 4, p. 409–415, 2017. DOI https://doi.org/10.1007/S12088-017-0666-0. Acessado em: 15 ago. 2022.
- RÊGO, M. C. F.; ILKIU-BORGES, F.; FILIPPI, M. C. C. de; GONÇALVES, L. A.; SILVA, G. B. da. Morphoanatomical and biochemical changes in the roots of rice plants induced by plant growth-promoting microorganisms. **Journal of Botany**, vol. 2014, 25 nov, 2014. DOI https://doi.org/10.1155/2014/818797. Acessado em: 17 ago. 2020.
- SÁENZ, L.; MONTERO, M.; PÉREZ, T.; AZPEITIA, A.; ANDRADE, A.; CÓRDOVA, I.; CHAN, J. L.; OROPEZA, C. Coconut (Cocos nucifera L.) Somatic Embryogenesis and Related

- Gene Expression. In **Somatic embryogenesis and gene expression.** p.297-318, 2013. Acessado em: 17 ago. 2020.
- SAKO, Y.; MCDONALD, M. B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A. F.; BENNETT, M. A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, vol. 29, n° 3, p. 625–636, 2001. Acessado em: 16 fev. 2022.
- SANTOS, G. A.; CARPIO, C. B.; ILAGAN, M. C.; CANO, S. B.; DELACRUZ, B. V. Flowering and early performance of four IRHO coconuts hybrids in the Philippines. **Oléagineux**, vol. 37, n° 12, p. 571–580, 1982. Acessado em: 16 fev. 2022.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of Trichoderma. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 87, n° 3, p. 787–799, 2010. DOI 10.1007/s00253-010-2632-1. Acessado em: 1 set. 2021.
- SHI, Y.; LOU, K.; LI, C. Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (Beta vulgaris L.) by endophytic bacteria. **Photosynthesis Research**, vol. 105, n° 1, p. 5–13, 2010. DOI 10.1007/s11120-010-9547-7. Acessado em: 17 out. 2021.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E. The Molecular Basis of Shoot Responses of Maize Seedlings to Trichoderma harzianum T22 Inoculation of the Root: A Proteomic Approach. **Plant Physiology**, vol. 147, p. 2147–2163, 2008. DOI 10.1104/pp.108.123810. Acessado em: 15 ago. 2022.
- SILVA, L. J. da; MEDEIROS, A. D. de; OLIVEIRA, A. M. S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, vol. 41, n° 2, p. 250–257, 2019. DOI 10.1590/2317-1545v42n2217267. Acessado em: 15 ago. 2022.
- SILVA, M. A.; NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C. de; LANNA, A. C.; SILVA, G. B. da; SILVA, J. F. A. E. Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. **Revista Caatinga**, vol. 33, n° 3, p. 619–632, 2020. DOI 10.1590/1983-21252020V33N305RC. Acessado em: 23 ago. 2021.
- SIRIPHANICH, J.; SARADHULDHAT, P.; ROMPHOPHAK, T.; KRISANAPOOK, K.; PATHAVEERAT, S.; TONGCHITPAKDEE, S. Coconut (Cocos nucifera L.). In **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Cocona to Mango.** Elsevier Ltd., p. 8–33, 2011. DOI https://doi.org/10.1533/9780857092885.8. Acessado em: 14 mar. 2021.
- SMIRNOVA, J.; FERNIE, A. R.; STEUP, M. Starch degradation. In **Starch: Metabolism and Structure**, p. 239–290, 2015. DOI 10.1007/978-4-431-55495-0\_7/COVER. Acessado em: 14 ago. 2022.
- SMITH, A. M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, Cell & Environment**, vol. 30, no 9, p. 1126–1149, 2007. DOI 10.1111/J.1365-3040.2007.01708.X. Acessado em: 15 ago. 2022.
- SMITH, M. R.; RAO, I. M.; MERCHANT, A. Source-Sink Relationships in Crop Plants and Their Influence on Yield Development and Nutritional Quality. **Frontiers in Plant Science**, vol. 9, n. 20, 2018. DOI 10.3389/fpls.2018.01889. Acessado em: 17 out. 2021.

- SULPICE, R.; FLIS, A.; IVAKOV, A. A.; APELT, F.; KROHN, N.; ENCKE, B.; ABEL, C.; FEIL, R.; LUNN, J. E.; STITT, M. Arabidopsis Coordinates the Diurnal Regulation of Carbon Allocation and Growth across a Wide Range of Photoperiods. **Molecular Plant**, vol. 7, n° 1, p. 137–155, 2014. DOI https://doi.org/10.1093/MP/SST127. Acessado em: 15 ago. 2022.
- SURESH, K.; NAGAMANI, C.; KANTHA, D. L.; KUMAR, M. K. Changes in photosynthetic activity in five common hybrids of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) seedlings under water deficit. **Photosynthetica**, vol. 50, no 4, p. 549–556, 2012. DOI 10.1007/s11099-012-0062-2. Acessado em: 7 out. 2021.
- SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MÓGOR, Á. F.; RUARO, L.; RÖDER, C. Crescimento de mudas de tomateiro (Solanum lycopersicum) estimulado pela bactéria Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum FZB42 em cultura orgânica. **Revista de Ciências Agrárias**, vol. 38, nº 1, p. 26–33, 2015. DOI https://doi.org/10.19084/rca.16865. Acessado em: 8 ago. 2022.
- TIWARI, S.; PRASAD, V.; LATA, C. Bacillus: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biotechnology in Agro-environmental Sustainability**, p. 43–55, 2019. DOI https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1. Acessado em: 24 jul. 2022.
- TOGNETTI, J. A.; PONTIS, H. G.; MARTÍNEZ-NOËL, G. M. A. Sucrose signaling in plants: A world yet to be explored. **Plant signaling & behavior**, vol. 8, n° 3, 2013. DOI 10.4161/PSB.23316. Acessado em: 14 ago. 2022.
- TRUYENS, S.; WEYENS, N.; CUYPERS, A.; VANGRONSVELD, J. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. **Environmental Microbiology Reports**, vol. 7, n° 1, p. 40–50, 2015. DOI 10.1111/1758-2229.12181. Acessado em: 4 out. 2021.
- VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.-L.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, vol. 4, p. 356, 2013. DOI 10.3389/fpls.2013.00356. Acessado em: 29 set. 2021.
- VALENTE LIMA, J.; TINÔCO, R. S.; OLIVARES, F. L.; MORAES, A. J. G. de; CHIA, G. S.; SILVA, G. B. da. Hormonal imbalance triggered by rhizobacteria enhance nutrient use efficiency and biomass in oil palm. **Scientia Horticulturae**, vol. 264, p. 109161, 2020. DOI 10.1016/j.scienta.2019.109161. Acessado em: 10 abr. 2020.
- VANLERBERGHE, G. C.; DAHAL, K.; ALBER, N. A.; CHADEE, A. Photosynthesis, respiration and growth: A carbon and energy balancing act for alternative oxidase. **Mitochondrion**, vol. 52, p. 197–211, 2020. DOI https://doi.org/10.1016/J.MITO.2020.04.001. Acessado em: 24 ago. 2022.
- WOESE, C. R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M. L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 87, n° 12, p. 4576–4579, 1990. DOI 10.1073/PNAS.87.12.4576. Acessado on: 24 ago. 2022.

YOON, J.; CHO, L. H.; TUN, W.; JEON, J. S.; AN, G. Sucrose signaling in higher plants. **Plant Science**, vol. 302, 2021. DOI https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110703. Acessado em: 22 ago. 2021.

ZHANG, J.; HUANG, Q.; ZHONG, S.; BLECKMANN, A.; HUANG, J.; GUO, X.; LIN, Q.; GU, H.; DONG, J.; DRESSELHAUS, T.; QU, L.-J. Sperm cells are passive cargo of the pollen tube in plant fertilization. **Nature Plants**, vol. 3, nº 6, p. 17079, 2017. DOI 10.1038/nplants.2017.79. Acessado em: 22 ago. 2021.

ZHANG, N.; YANG, D.; WANG, D.; MIAO, Y.; SHAO, J.; ZHOU, X.; XU, Z.; LI, Q.; FENG, H.; LI, S.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Whole transcriptomic analysis of the plant-beneficial rhizobacterium Bacillus amyloliquefaciens SQR9 during enhanced biofilm formation regulated by maize root exudates. **BMC Genomics**, vol. 16, no 1, p. 1–20, 2015. DOI 10.1186/S12864-015-1825-5/FIGURES/8. Acessado em: 4 ago. 2022.

ZIZUMBO-VILLARREAL, D.; ARELLANO-MORÍN, J. Germination patterns in coconut populations (Cocos nucifera L.) in Mexico. In **Genetic Resources and Crop Evolution**, vol. 45, p. 465–473, 1998. Acessado em: 19 ago. 2021.