

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍTO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

THAIS SANTANA DO NASCIMENTO

**FERTILIZANTE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA ASSOCIADO A
INOCULANTE NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *COFFEA*
*CANEPHORA***

SÃO MATEUS-2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL

**FERTILIZANTE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA ASSOCIADO A
INOCULANTE NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *COFFEA*
*CANEPHORA***

THAIS SANTANA DO NASCIMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para a obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Ivoney Gontijo

SÃO MATEUS-2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

N244f Nascimento, Thais Santana do, 1996-
Fertilizante de liberação controlada associado a inoculante no desenvolvimento de mudas de coffea canephora / Thais Santana do Nascimento. - 2024.
88 f. : il.

Orientador: Ivoney Gontijo.
Coorientador: Edilson Romais Schmildt.
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo.

1. Café. 2. Fertilidade do solo. 3. Mudas. I. Gontijo, Ivoney. II. Schmildt, Edilson Romais. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 63

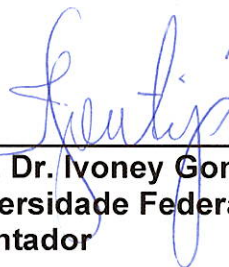
THAIS SANTANA DO NASCIMENTO

**FERTILIZANTE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA ASSOCIADO A
INOCULANTE NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE COFFEA
CANEPHORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Aprovada em 22 de março de 2024.

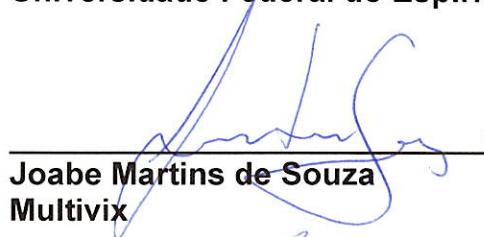
COMISSÃO EXAMINADORA




Prof. Dr. Ivoney Gontijo
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto
Universidade Federal do Espírito Santo



Joabe Martins de Souza
Multivix



Prof. Dr. Edilson Romais Schildt
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador

AGRADECIMENTOS

Ao senhor Jesus, por ter me sustentado todos os dias nesses dois anos. Por ter me concedido saúde, livramentos e por cuidar da minha mãe.

Agradeço a minha mãe Edileuza, que está ao meu lado em todos os momentos, se preocupando com as minhas preocupações e comemorando as minhas alegrias e conquistas. Obrigada por cada ida ao viveiro comigo.

Agradeço ao meu noivo Isaque pelo apoio e por ser minha família.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), agradeço pela oportunidade concedida, ao CNPq pela concessão da bolsa que possibilitou minha permanência no curso de Pós-Graduação.

Agradeço ao professor e orientador Ivoney Gontijo, pela orientação, paciência, disponibilidade e dúvidas retiradas durante esses dois anos.

Ao professor e coorientador Edilson Romais Schmildt, por sua disponibilidade e esclarecimento de dúvidas.

Ao professor Antelmo Ralph Falqueto, por todo apoio, disponibilidade, dúvidas retiradas.

Por fim, ao Viveiro Marinato e a gerente Tereza Gonçalves Meloti, pelo apoio e suporte de campo para a realização do experimento.

“(...) Bem-aventurados os que não viram e creram.” **João 20:29**

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
3.1 Tendências de crescimento das publicações.....	13
3.2 Contribuição e Coautoria entre os países mais influentes	13
3.4 Palavras-chaves de maior ocorrência	15
4. CONCLUSÕES	17
5. REFERÊNCIAS.....	18

CAPÍTULO 2

1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Localização e material vegetal	27
2.2 Experimentos	27
2.3 Experimento 1	28
2.3.1 Composição dos tratamentos.....	28
2.3.2 Propagação vegetativa, inoculação e manejo.....	29
2.3.3 Avaliações.....	30
2.3.4 Análise estatística	30
2.4 Experimento 2	30
2.4.1 Composição dos tratamentos.....	31
2.4.2 Propagação vegetativa, inoculação e manejo.....	31
2.4.3 Avaliações.....	31
2.3.4 Análise estatística	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
3.1 Análise de variância e regressão	32
3.2 Teste de Dunnett.....	36
3.3 Dados qualitativos.....	38
3.4 Análise temporal (quantitativo x qualitativo).....	39
3.5 Tecnologias de adubações X inoculante.....	40
4. CONCLUSÃO.....	43
5. REFERÊNCIAS.....	44

CAPÍTULO 3

1. INTRODUÇÃO	51
2. MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1 Localização e material vegetal	53
2.2 Desenho experimental e tratamentos	53
2.3 Propagação vegetativa, inoculação e manejo	54
2.4 Fluorescência da clorofila a: Curvas OJIP, normalizações e teste JIP	55
2.5 Macro e micronutrientes das plantas	56
2.6 Análise estatística	56
3.RESULTADOS	57
3.1 Florescência da clorofila a	57
3.2 Parâmetros do teste JIP	61
3.3 Conteúdo mineral das mudas	64
3.4 Análise dos componentes principais (ACP)	65
4.DISSCUSSÃO	67
4.1 Florescência da clorofila a	67
4.2 Teste JIP	68
4.3 Conteúdo mineral foliar	70
4.4 Análise dos componentes principais (ACP)	72
5.CONCLUSÃO.....	73

LISTA DE ABREVIATURA E SÍMBOLOS

AP Altura de planta

AF Área foliar

ABS / CS_M Energia absorvida por seção transversal (CS) na fluorescência máxima (t = t_{FM}), igual aproximadamente a FM;

BPCP Bactérias promotoras de crescimento de plantas

Clor a Clorofila a

Clor b Clorofila b

Clor total Clorofila total

DBC Delineamento em blocos casualizados

DC Diâmetro do caule

DI₀/CS_M Dissipação térmica de energia do FSII por seção transversal (CS) em t = t_{FM}

ET₀/CS_M Fluxo de elétrons através do FSII por seção transversal (CS) em t = t_{FM}

FLC Fertilizante de liberação controlada

F₀ Fluorescência inicial

F₀/F_m produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII

FSI Fotossistema I

FSII Fotossistema II

F_v/F_m Rendimento quântico máximo do fotossistema II

F_v/F₀ Eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII

M_{FPA} Massa fresca da parte aérea

M_{FR} Massa fresca da raiz

M_{FT} Massa de matéria fresca total

M_{SPA} Massa seca da parte aérea

M_{SR} Massa seca da raiz

NF Número de folhas

R_{PAR} Relação massa seca da parte aérea com a massa seca das raízes

PIT_{total} Índice de desempenho total

QA Quinona A

RAD Relação altura da parte aérea com o diâmetro do caule

TR₀/CS_M Fluxo de energia capturada por centros de reação do fotossistema II (FSII) por seção transversal em $t = t_{FM}$;

V_J Fluorescência variável normalizada no ponto J (2 ms)

V_I Fluorescência variável normalizada no ponto I (30 ms)

φE₀ Rendimento quântico para o transporte de elétrons no FSII

φR₀ Rendimento quântico para redução dos aceptores de elétrons no lado acceptor do FSI

φP₀ Rendimento quântico fotoquímico máximo para fotoquímica primária

φD₀ Rendimento quântico da energia dissipada

RESUMO

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; março de 2024; **Uso de Fertilizante de liberação controlada associado a inoculante no desenvolvimento de mudas de *Coffea Canephora***; Orientador: Ivoney Gontijo, Co-orientador: Edilson Romais Schmildt.

A adubação constitui uma indispensável fase da produção de mudas, influenciando todo desenvolvimento da cultura. Assim, o uso de tecnologias que minimize perdas, aumente a eficiência e estabeleça interações planta-microrganismos precisam ser estudados. Dessa forma, objetivou-se avaliar o desenvolvimento de mudas de café conilon, submetidas a diferentes doses de fertilizante de liberação controlada, associadas ou não a inoculante comercial de bactérias promotoras de crescimento. O trabalho foi dividido em três capítulos: 1) revisão bibliométrica sobre uso dos biofertilizantes; 2) dados biométricos da cultura; 3) nutrição/fisiologia das plantas. O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial com tratamento adicional [(5 x 2) + 1] com 4 repetições, totalizando 44 unidades experimentais e 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são cinco doses de fertilizante de liberação controlada Basacote® Mini 3M (0;1;2;4 e 8 g planta⁻¹) e o segundo fator é a presença ou ausência de inoculante comercial (BIOFREE®) com as cepas (*Azospirillum brasiliense* Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03). O tratamento adicional é a adubação realizada pelo viveiro comercial (Calagem+Endurene®+Fertilizante fosfatado). Após 120 dias de experimento, foram analisadas as variáveis biométricas da parte aérea e sistema radicular da cultura. Sendo submetidos à análise de variância no software R, quando o fator qualitativo (inoculação), é significativo, foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey (p<0,05). Já o fator quantitativo (doses) foi submetido à análise de regressão com base na significância dos coeficientes e ao teste de Dunnett (p<0,05). Não houve interação significativa entre os fatores para as variáveis estudadas. Para o melhor desenvolvimento de mudas de *Coffea canephora*, genótipo A1 produzidas em tubetes é indicado o uso de fertilizantes de liberação controlada com dose de 6 g planta⁻¹. O uso do inoculante proporcionou aumento no número de folhas.

Para os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e teor mineral das mudas, foram observadas bandas L e K negativas indicando que o uso de FLC e inoculante proporcionaram melhor uso da energia de excitação com maior estabilidade ao sistema fotoquímico. Assim, maiores doses de FLC com inoculante promoveram aumentos nos valores ϕP_0 , F_v/F_0 e ϕE_0 , em contrapartida em mudas sem inoculante, observou-se redução em ϕE_0 evidenciando uma menor eficiência fotossintética. A interação significativa entre doses x inoculante para os teores nutricionais de Mn encontra-se acima das faixas recomendada para cultura. As variáveis que contribuíram positivamente para o grupo fotoquímico foram RC/CS_M , ϕP_0 , Area, F_v/F_0 e PI_{TOTAL} .

CAPÍTULO 1

RESUMO

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; março de 2024; **Tecnologia, inovação e desenvolvimento de biofertilizantes, uma pesquisa bibliométrica (2003-2023)**; Orientador: Ivoney Gontijo, Co-orientador: Edilson Romais Schmildt.

Os biofertilizantes atuam por meio de microrganismos benéficos ao solo, estabelecendo uma relação mutualística com as plantas, podendo agir como promotor de crescimento vegetal, produção de fitohormônios, atuar como agentes de biocontrole ou de forma multifuncional. Objetivou-se por este estudo relatar os avanços e identificar os principais países envolvidos em pesquisas científicas com biofertilizantes no mundo, desenvolvidas no período de janeiro de 2003 a junho de 2023, a partir do banco de dados da Scopus com as seguintes palavras-chaves: “*Biofertilizers*”, “*Agricult*”, “*Microorganism*”, “*Inoculant*”, “*Growth promoting bacteria*”, “*Azospirillum*” e “*Pseudomonas*”. Através da análise bibliométrica e auxílio do programa VOSviewer, foram identificadas 258 publicações de artigos científicos, contribuição e coautoria entre os países mais influentes, tendência de crescimento nas publicações e palavras-chaves de maior ocorrência. Ao longo dos 20 anos, o número de publicações se concentrou nas áreas de ciências agrárias e biológicas, com tendência de crescimento para os próximos anos. A Índia é o principal país produtor de conhecimento científico neste campo, com as palavras-chaves utilizadas nesta revisão. O termo “biofertilizante” lidera o número de vezes citado em artigos, entretanto não apresenta a mesma definição em todos os países, variando de acordo com a legislação de cada. A padronização do termo “internacionalmente” pode aumentar o número de trabalhos encontrados, reclassificando os dez países identificados.

Palavras-chaves: Inoculante, Agricultura, Análise, Microrganismos, BPCP

ABSTRACT

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Federal University of Espírito Santo; March 2024; **Technology, Innovation, and Development of Biofertilizers, a Bibliometric Research (2003-2023)**; Advisor: Ivoney Gontijo, Co-advisor: Edilson Romais Schmildt.

Biofertilizers work through beneficial soil microorganisms, establishing a mutualistic relationship with plants, potentially acting as plant growth promoters, producers of phytohormones, agents of biocontrol, or in a multifunctional manner. This study aimed to report the advances and identify the main countries involved in scientific research on biofertilizers worldwide, conducted from January 2003 to June 2023, using the Scopus database with the following keywords: "Biofertilizers," "Agricult," "Microorganism," "Inoculant," "Growth promoting bacteria," "Azospirillum," and "Pseudomonas." Through bibliometric analysis and the aid of the VOSviewer program, 258 scientific articles were identified, showing contributions and co-authorship among the most influential countries, growth trends in publications, and the most frequent keywords. Over the 20 years, the number of publications has concentrated in the areas of agricultural and biological sciences, with a growth trend for the coming years. India is the leading country in producing scientific knowledge in this field, with the keywords used in this review. The term "biofertilizer" leads in the number of citations in articles; however, it does not have the same definition in all countries, varying according to each country's legislation. The international standardization of the term could increase the number of studies found, reclassifying the ten identified countries.

Keywords: Inoculant, Agriculture, Analysis, Microorganisms, BPC

1. INTRODUÇÃO

Os biofertilizantes, também chamados de inoculantes são formulações microbianas de microrganismos vivos que podem proporcionar maior crescimento às plantas, produção de hormônios estimuladores de crescimento e alta fertilidade do solo (ALOO et al., 2022). Na visão internacional, o termo “biofertilizantes” inclui os inoculantes e fertilizantes orgânicos. No Brasil os termos são vistos de forma distintas, onde os inoculantes estão associados principalmente a fixação biológica de nitrogênio ou a bactérias promotoras de crescimento.

Os primeiros microrganismos utilizados como inoculantes foram os “rizóbios”, bactérias diazotróficas que colonizam a rizosfera, principalmente das leguminosas, realizando o processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e suprindo a demanda por N na planta (SANTOS et al., 2019). Outros microrganismos, como bactérias do gênero *Azospirillum* também realizam a FBN em várias espécies não leguminosas, favorecendo o crescimento e reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados (SPOLAOR et al., 2016). Utilizados pela agricultura, esses microrganismos benéficos para o solo são chamados de bactérias promotoras de crescimento de planta (BPCP) e tem sido uma das alternativas promissoras para diminuir o uso de fertilizantes e potencializar práticas agrícolas mais sustentáveis (URGILES-GÓMEZ et al., 2021).

O uso indiscriminado de fertilizantes químicos diminui a quantidade desses microrganismos no solo, além de associar-se a vários impactos ambientais como lixiviação, eutrofização de rios e emissões de gases de efeito estufa (SPOLAOR et al., 2016). Além disso, os fertilizantes são produzidos a partir de recursos naturais finitos, assim práticas que reduzam o uso e aumente a produção das culturas têm sido estudadas. Nos últimos 15 anos, houve um aumento no uso dos bioinsumos no Brasil, com um mercado de aproximadamente 45 milhões de doses de inoculantes líquidos e 10 milhões de doses de inoculantes sólidos (FLORENCIO et al., 2022).

Objetivou-se no presente estudo identificar, a partir do banco de dados da *Scopus*, os avanços e os principais países envolvidos em pesquisas científicas com biofertilizantes no mundo, desenvolvidas no período de janeiro de 2003 a junho de 2023.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A base de dados consultada para avaliar a evolução das pesquisas científicas com uso dos “biofertilizantes” no intervalo de janeiro de 2003 a junho de 2023 foi a *Scopus*, o maior banco de dados global de citações acadêmicas, com cerca de 90 milhões de documentos e 1,7 bilhão de referências citadas. Uma de suas vantagens é a possibilidade que o autor possui de analisar de forma aprofundada os autores individualmente e organizações por países, o que não é possível na base de dados da *Web of Science* (KOTSEMIR & SHASHNOV, 2017). O primeiro passo para uma análise bibliométrica, é definir os termos de pesquisa para evitar a generalização dos resultados (SANTANA et al., 2021). As palavras-chaves utilizadas para a busca foram: “*Biofertilizers*”, “*Agricult*”, “*Microorganism*”, “*Inoculant*”, “*Growth promoting bacteria*”, “*Azospirillum*” e “*Pseudomonas*”. Com os operadores booleanos *AND* e *OR* e o código de pesquisa: (TITLE-ABS-KEY (biofertilizers*) AND TITLE-ABS-KEY (agricult*) AND TITLE-ABS-KEY (microorganism*) OR TITLE-ABS-KEY (inoculant*) OR TITLE-ABS-KEY ("growth promoting bacteria") OR TITLE-ABS-KEY ("Azospirillum") OR TITLE-ABS-KEY("Pseudomonas")).

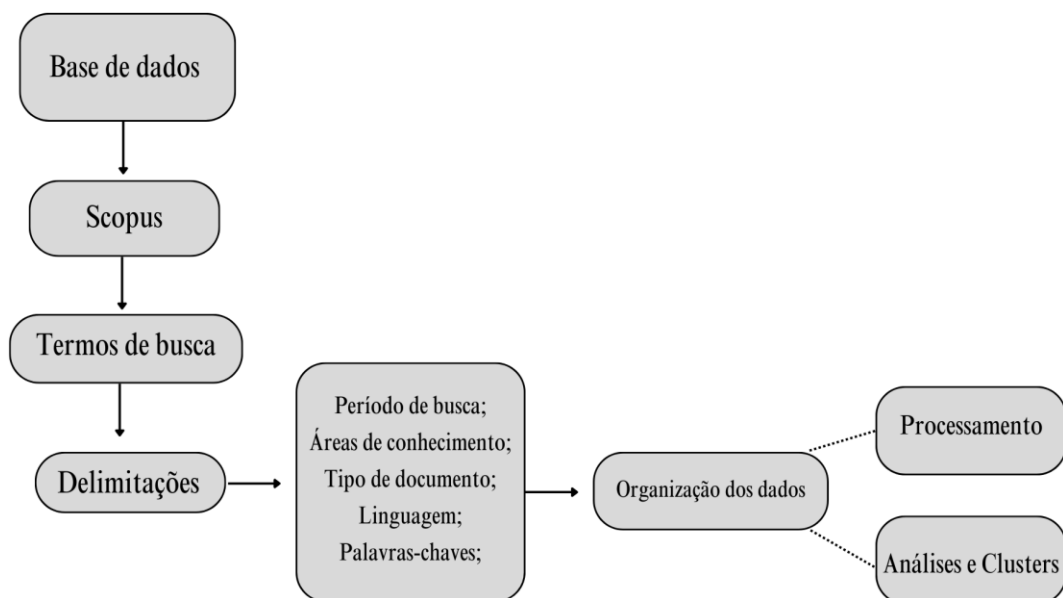


Figura 1. Processos da análise bibliométrica utilizados na pesquisa.

Os microrganismos utilizados na busca (*Azospirillum* sp. e *Pseudomonas* sp.) foram escolhidos por apresentarem resultados benéficos como biofertilizantes (HUNGRIA et al., 2010; EL-DEEN et al., 2020).

A partir das buscas, 911 artigos apresentaram os termos no título, palavras-chaves ou resumo. Foram aplicadas delimitações, com buscas em um período de dez anos nas áreas de ciências agrárias e biológicas, ciência ambiental, bioquímica, genética e biologia molecular. Selecionando artigos nos idiomas: Inglês, Espanhol, Chinês e Francês. Não houve exclusão de palavras-chaves. O processo pode ser observado na Figura 1. Ao final, 258 artigos foram selecionados e exportados para planilha do Excel e importados para o programa VOSviewer para construção das redes bibliométricas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tendências de crescimento das publicações

Através da análise bibliométrica, foram identificadas 258 publicações de artigos científicos nos últimos dez anos (janeiro de 2003 a junho de 2023). No ano de 2003 a 2016, observa-se oscilações anuais e crescimento lento (Figura 2). A partir de 2017, houve um crescimento expressivo, alcançando o pico de publicações em 2022, com tendência de crescimento nos próximos anos. Na tentativa de não depender exclusivamente dos fertilizantes químicos, vários países tem investido em pesquisas e diferentes tecnologias biotecnológicas. Assim, os biofertilizantes vem ganhando destaque e ampliando sua presença no mercado agrícola (ALOO et al., 2022).

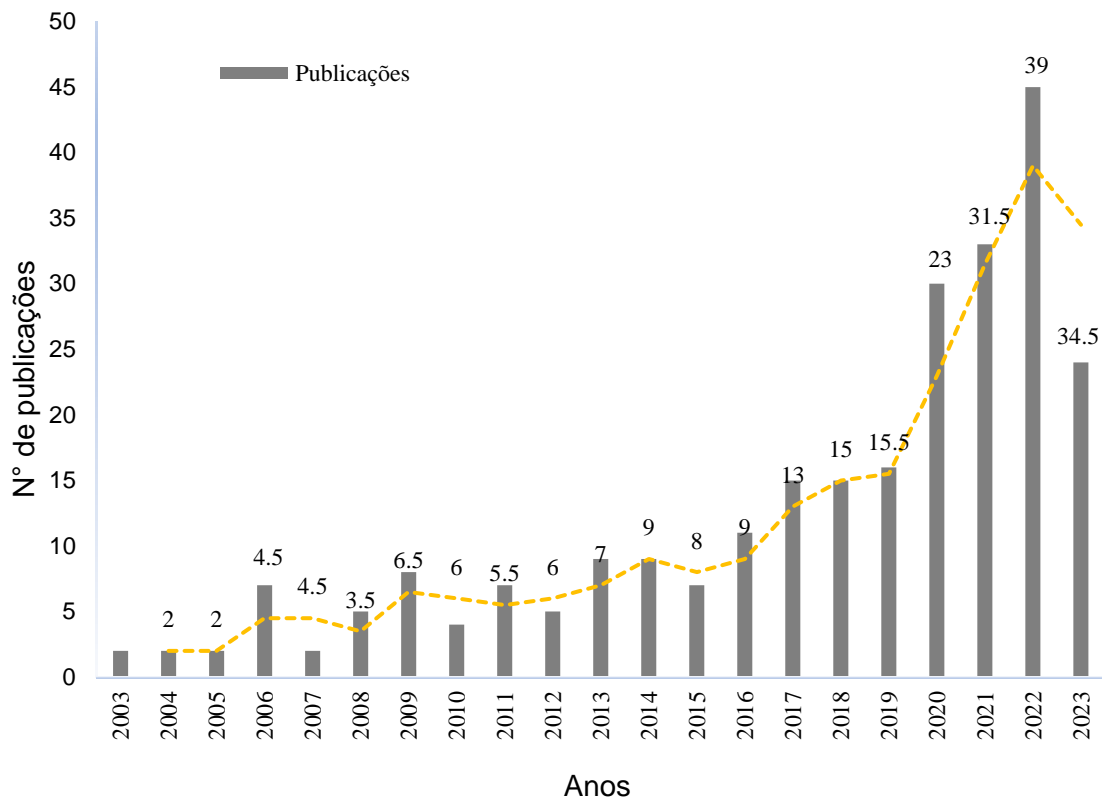


Figura 2. Evolução das publicações de artigos científicos acompanhada de média móvel nos períodos de janeiro de 2003 a junho de 2023.

3.2 Contribuição e Coautoria entre os países mais influentes

Dos 60 países com trabalhos indexados na base de dados da *Scopus*, os dez principais produtores de conhecimento científico neste campo são: Índia, Irã, México,

Espanha, Itália, Brasil, China, Egito, Estados Unidos e Canadá. Dos 258 artigos encontrados, 68,7% dos trabalhos estão concentrados nas áreas de ciências agrárias e biológicas, 17,5% ciência ambiental e 13,9% bioquímica, genética e biologia molecular. Duzentas publicações estão distribuídas entre os dez países, destes 82 trabalhos produzidos na Índia. O país, também tem se destacado na produção de grãos (3º), feijão (2º) e algodão (2º) na produção mundial (FAO, 2020).

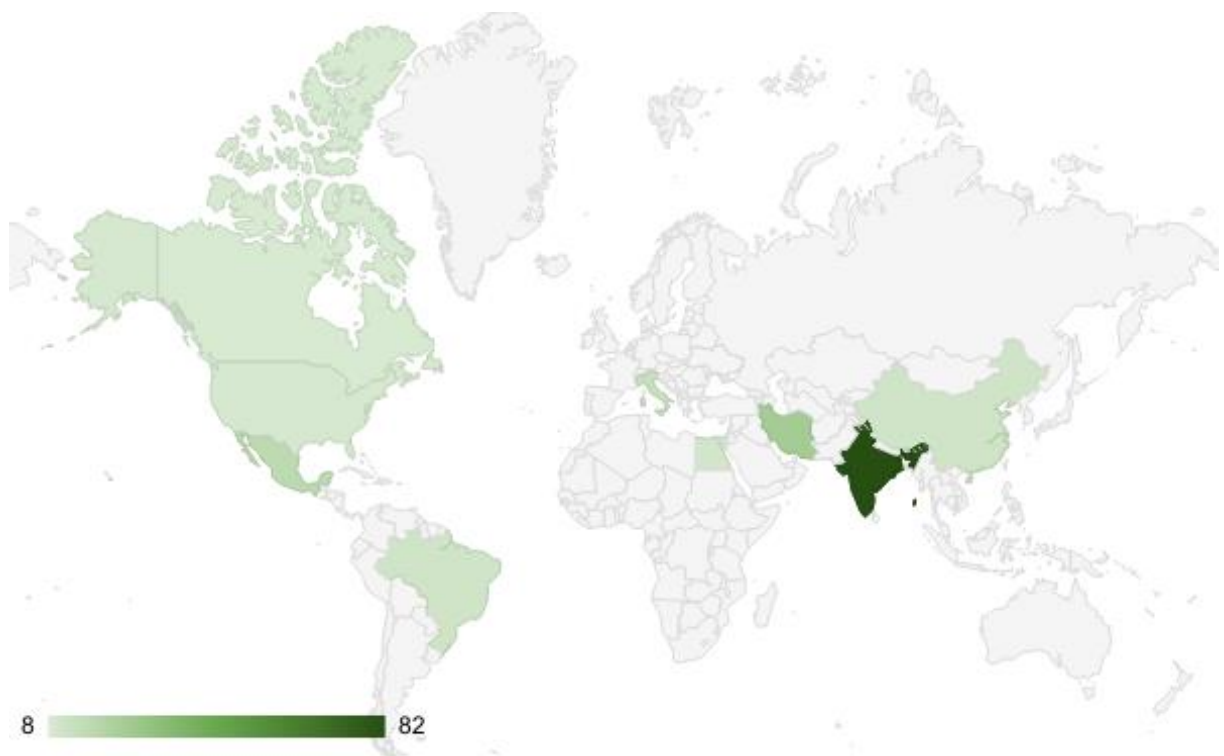


Figura 3. Países com maior número de publicações nos últimos dez anos.

Apesar do destaque na produção científica, os investimentos em insumos biológicos são poucos, para cada investimento de US\$ 1.000 em agricultura sustentável, um subsídio de US\$ 100.000 é destinado a fertilizantes químicos (PAUL et al., 2023). Nas últimas cinco décadas, a indústria de fertilizantes minerais da Índia vem se expandindo-se, ocupando a segunda posição em consumo e terceira em produção de fertilizantes minerais mundialmente (RANDIVE et al., 2021).

Tornou-se um grande desafio a transição aos biofertilizantes e o abandono a dependência aos fertilizantes químicos. Pesquisas têm sido desenvolvidas nos principais países encontrados nesta revisão, para que os biofertilizantes chegue a todos os agricultores e que receba maior incentivo governamental, explicando o grande número de trabalhos desenvolvidos.

Para coautoria entre os países, cinco *clusters* se formaram (amarelo, vermelho, verde, roxo e azul) com destaque para os maiores clusters (Figura 3), que indicam maior número de artigos realizados por estes países (Índia e Irã). A proximidade entre os *clusters* significa maior ocorrência de coautoria. O cluster central (Índia) possui redes de conexão com diversos países (Irã, Espanha, Austrália e Egito) e quanto mais distantes menor a ligação (Brasil).

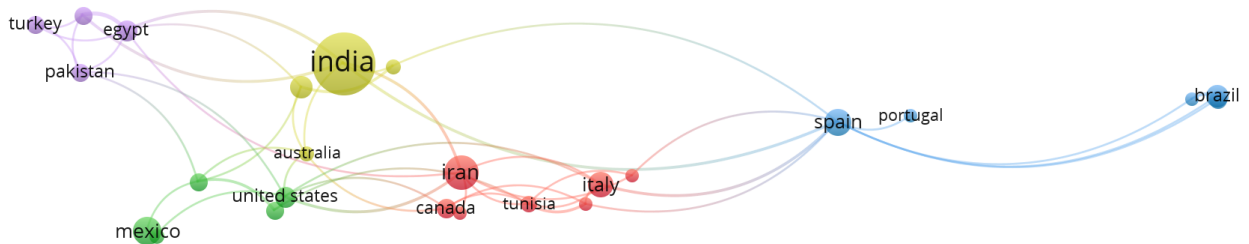


Figura 3. Coautoria entre países com no mínimo 4 documentos publicados.

3.4 Palavras-chaves de maior ocorrência

No período de 2014 a 2020 as doze palavras-chaves com maiores taxas de ocorrência, com pelo menos cinco incidência nos artigos encontrados são: *Biofertilizers* (76), *microorganism* (40), *bacterium* (29), *azotobacter* (29), *pgpr-bactérias promotoras de crescimento* (25), *nitrogen* (24), *fungi* (25), *sustainable agriculture* (24), *rhizosphere* (22), *phosporus* (19), *inoculation* (18) e *Azospirillum* (17).

Das 1727 palavras encontradas, 111 atenderam à exigência, na Figura 4 é possível identificar todas as palavras-chaves e a formação de três grupos (roxo, verde e amarelo) que possibilita avaliar a ordem cronológica do uso dessas palavras nas pesquisas e as inúmeras conexões.

4. CONCLUSÕES

Ao longo dos últimos 20 anos, o aumento do número de publicações concentrou-se nas áreas de ciências agrárias e biológicas, com tendência de crescimento para os próximos anos.

A Índia é o principal país produtor de trabalhos científicos com as palavras chaves utilizadas nessa revisão, mantendo redes de coautoria com outros países como Irã, Espanha, Austrália e Egito.

A palavra-chave de maior ocorrência é “biofertilizantes”, entretanto, sua definição pode variar entre países. A padronização do termo “internacionalmente” pode aumentar o número de trabalhos encontrados, reclassificando os dez países identificados.

5. REFERÊNCIAS

- ALOO, B. N.; TRIPATHI, V.; MAKUMBA, B. A.; MBEGA, E. R. Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1002448, 2022.
- EL-DEEN, S.R.O; EL-AZEEM, A.; SAMY, A.M; ABD ELWAHAB, A.F; MABROUK, S. S. Efeitos de microrganismos solubilizadores de fosfato na produtividade do trigo e na atividade da fosfatase. **Egyptian Journal of Microbiology**, v. 55, p. 71-86, 2020.
- FAO. FAOSTAT: FAO's corporate database: crops. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 3 jan. 2024.
- FLORENCIO, C.; BORTOLETTO-SANTOS, R.; FAVARO, C.; BRONDI, M.; VELLOSO, C., KLAIC, R.; RIBEIRO, C.; FARINAS, C.; MATTOSO, L. Avanços na produção e formulação de inoculantes microbianos visando uma agricultura mais sustentável. **Química Nova**, v. 45, p. 1133-1145, 2022.
- Hungria, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculação com cepas selecionadas de *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* melhora produtividade de milho e trigo no Brasil. **Solo Vegetal**, v. 331, p. 413-425, 2010.
- KOTSEMIR, M.; SHASHNOV, S. Measuring, analysis and visualization of research capacity of university at the level of departments and staff members. **Scientometrics**, v. 112, n. 3, p. 1659-1689, 2017.
- PAUL, B.; MURARI, K. K.; PATNAIK, U.; BAHINIPATI, C. S.; SASIDHARAN, S. Sustainability transition for Indian agriculture. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 7290, 2023.
- RANDIVE, K.; RAUT, T.; JAWADAND, S. An overview of the global fertilizer trends and India's position in 2020. **Mineral Economics**, p. 1-14, 2021.
- SANTANA, L. S.; FERRAZ, G. A. E. S.; TEODORO, A. J. D. S.; SANTANA, M. S.; ROSSI, G.; PALCHETTI, E. Advances in precision coffee growing research: A bibliometric review. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1557, 2021.
- SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **Amb Express**, v. 9, p. 1-22, 2019
- SHAMS EL-DEEN, R. O.; EL-AZEEM, A.; SAMY, A. M.; ABD ELWAHAB, A. F.; MABROUK, S. S. Effects of phosphate solubilizing microorganisms on wheat yield and phosphatase activity. **Egyptian Journal of Microbiology**, 2020, 55. The 14th Conference of Applied Microbiology: 71-86.
- SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P. D.; OLIVEIRA, A. L. M. D.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônomo de milho pipoca. **Bragantia**, v. 75, p. 33-40, 2016.

URGILES-GÓMEZ, N.; AVILA-SALEM, M.E.; LOJÁN, P.; ENCALADA, M.; HURTADO, L.; ARAUJO, S.; COLLAHUAZO, Y.; GUACHANAMÁ, J.; POMA, N.; GRANDA, K.; ROBLES, A.; SENÉS, C.; CORNEJO, P. Plant growth-promoting microorganisms in coffee production: from Isolation to field application. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1531, 2021.

CAPÍTULO 2

RESUMO

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; março de 2024; **Uso de Fertilizante de liberação controlada associado a inoculante no desenvolvimento de mudas de *Coffea Canephora***; Orientador: Ivoney Gontijo, Co-orientador: Edilson Romais Schmildt.

O estado do Espírito Santo se destaca como maior produtor de *Coffea canephora* do país. Para formação de uma lavoura produtiva, além da qualidade das mudas, o manejo nutricional influencia todo desenvolvimento da cultura. Assim, objetivou-se avaliar o desenvolvimento de mudas de café conilon, submetidas a doses de fertilizante de liberação controlada, associadas ou não a inoculante comercial contendo bactérias promotoras de crescimento. O experimento foi conduzido em viveiro comercial, localizado no município de Jaguaré, na região Norte do Espírito Santo, nos meses de março a julho de 2023. Foram realizados dois experimentos. No primeiro, o delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial com tratamento adicional [(5 x 2) + 1] com 4 repetições, totalizando 44 unidades experimentais e 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são cinco doses (0;1;2; 4 e 8 g planta⁻¹) de fertilizante de liberação controlada Basacote[®] Mini 3M (16-08-12 (2+)) e o segundo fator é a presença ou ausência de inoculante comercial (Biofree[®]) com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03). O tratamento adicional é a adubação realizada pelo viveiro comercial (Calagem+ Endurene[®]+ Fertilizante fosfatado). No segundo, o delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial (3 x 2), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais, cada uma contendo 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são diferentes tecnologias de adubação de base (fertilizante de liberação controlada, adubação tradicional do viveiro e controle), e o segundo fator consiste na presença ou ausência de inoculante comercial (Biofree[®]). Aos 120 dias de experimento, foram analisadas as variáveis biométricas da parte aérea, sistema radicular e os índices de clorofila. Sendo submetidos à análise de variância no software R, quando significativo o fator qualitativo (inoculação) foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey (p < 0,05). Já o fator quantitativo (doses), foi submetido à análise de regressão com base na significância dos coeficientes e ao teste de média Dunnett (p < 0,05). Não houve interação significativa entre os fatores para as variáveis estudadas. Para o melhor

desenvolvimento de mudas de *Coffea canephora*, genótipo A1, produzidas em tubetes de 160 cm³, é indicado o uso de fertilizantes de liberação controlada com dose de 6 g planta⁻¹. O uso do inoculante proporcionou aumento de 14,22% no número de folhas, quando comparado ao não inoculado.

Palavra-chave: *Azospirillum brasiliense*; *Pseudomonas fluorescens*; Bactérias promotoras de crescimento; Conilon, nutrição mineral.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Federal University of Espírito Santo; March 2024; **Technology, Innovation, and Development of Biofertilizers, a Bibliometric Research (2003-2023)**; Advisor: Ivoney Gontijo, Co-advisor: Edilson Romais Schmildt.

The state of Espírito Santo stands out as the largest producer of *Coffea canephora* in the country. For the establishment of a productive plantation, in addition to the quality of seedlings, nutritional management influences the entire development of the crop. Thus, the objective was to evaluate the development of conilon coffee seedlings subjected to doses of controlled-release fertilizer, associated or not with commercial inoculants containing growth-promoting bacteria. The experiment was conducted in a commercial nursery located in the municipality of Jaguaré, in the northern region of Espírito Santo, from March to July 2023. Two experiments were conducted. In the first, the experimental design employed was a randomized block design (RBD) in a factorial scheme with an additional treatment $[(5 \times 2) + 1]$ with 4 repetitions, totaling 44 experimental units and 14 plants per plot. The levels of the first factor are five doses (0; 1; 2; 4; and 8 g plant⁻¹) of controlled-release fertilizer Basacote® Mini 3M (16-08-12 (2+)) and the second factor is the presence or absence of a commercial inoculant (Biofree®) with strains of *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) and *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03). The additional treatment is fertilization performed by the commercial nursery (Lime+Endurene®+Phosphate fertilizer). In the second experiment, the experimental design employed was a randomized block design (RBD) in a factorial scheme (3 x 2), with 4 repetitions, totaling 24 experimental units, each containing 14 plants per plot. The levels of the first factor are different base fertilization technologies (controlled-release fertilizer, traditional nursery fertilization, and control), and the second factor consists of the presence or absence of a commercial inoculant (Biofree®). At 120 days of the experiment, biometric variables of the aerial part, root system, and chlorophyll indices were analyzed. The data were subjected to analysis of variance using R software. When the qualitative factor (inoculation) was significant, mean comparisons were performed using Tukey's test ($p < 0.05$). For the quantitative factor (doses), regression analysis was performed based on the significance of the coefficients and the Dunnett's mean test ($p < 0.05$).

There was no significant interaction between the factors for the variables studied. For the best development of *Coffea canephora* seedlings, genotype A1, produced in 160 cm³ tubes, the use of controlled-release fertilizers at a dose of 6 g plant⁻¹ is recommended. The use of the inoculant resulted in a 14.22% increase in the number of leaves compared to the non-inoculated treatment.

Keywords: *Azospirillum brasiliense*; *Pseudomonas fluorescens*; Growth-promoting bacteria; Conilon; mineral nutrition.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea*, pertencente à família *Rubiaceae*, detém 124 espécies já conhecidas (DAVIS et al., 2011), das quais *Coffea arabica* L. (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (café robusta) são economicamente exploradas no mercado global de café, com consumo mundial de 168,2 milhões de sacas no ano de 2022/23 e espera-se aumento de 5,8 % para o ano de 2023/24 (ICO, 2023).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, contribuindo para o desenvolvimento de vários setores da cadeia produtiva, gerando emprego e renda nos principais estados produtores. Segundo dados da CONAB (2024) a área destinada a cafeicultura é de 2,25 milhões de hectares, sendo 18,15 % dessa área correspondente à produção de *C. canephora*, tendo os estados do Espírito Santo, Rondônia e Bahia como principais produtores.

A produção de mudas, com bom crescimento vegetativo e vigor, constitui uma etapa importante para se garantir o bom desenvolvimento da cultura no campo (SILVEIRA et al., 2023). Em mudas produzidas com substratos comerciais, tem-se a vantagem da ausência de fitonematóides, menor risco de patógenos, redução de mão de obra e espaço para produção nos viveiros (ROSA et al., 2021). Com a produção de mudas em tubetes, utiliza-se um menor volume de substrato, no entanto há maior risco de lixiviação dos nutrientes pela irrigação, necessitando de aplicações frequentes de fertilizantes.

A eficiência dos fertilizantes químicos convencionais é baixa, sendo o nitrogênio (N) de 30 a 40%, fósforo (P) de 15 a 20%, potássio (K) de 50 a 55% (WANG et al., 2023). Uma alternativa para se aumentar a eficiência das adubações e evitar a perda desses nutrientes é o uso de fertilizantes com novas tecnologias. Obteve-se então os fertilizantes de liberação controlada (SANTOS et al., 2020). Estes, consistem em fertilizantes revestidos externamente, visando atrasar a liberação de nutrientes do núcleo do fertilizante (WANG et al., 2023), possibilitando a liberação de forma gradual de modo a minimizar perdas e disponibilizá-los nas fases de maior demanda da planta.

Os substratos comerciais, que recebem fertilização excessiva apresentam uma baixa população de microrganismos benéficos ao crescimento e a sanidade das plantas durante seu ciclo (URGILES-GÓMEZ et al., 2021), o que pode inviabilizar o estabelecimento de uma simbiose planta/microrganismos. Portanto, o uso de inoculantes que contêm bactérias promotoras de crescimento vegetal, aumenta a

eficiência dos fertilizantes químicos, reduzindo a frequência de aplicações dos mesmos (SPOLAOR et al., 2016). Além disso, existem outras características benéficas, como controle de patógenos nas plantas, melhora na absorção de nutrientes, formação de raízes e brotos, tolerância da planta a estresse abiótico, fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato (ARIF et al., 2020).

O uso de inoculantes na agricultura é amplamente estudado, apresentando-se como alternativa para práticas mais sustentáveis, demonstrando associações com grande número de espécies, como o milho (SHEN et al., 2021), trigo (SILVEIRA et al., 2016), pepino (SHAO et al., 2015) e tomate (PURI et al., 2020).

No cafeeiro, os estudos se concentram na espécie *Coffea arabica* (JIMENEZ-SALGADO et al., 1997; KEJELA et al., 2016; RAMÍREZ et al., 2020), com poucas pesquisas voltadas para *Coffea canephora*.

Nesse contexto, objetivou-se, nesse trabalho avaliar o desenvolvimento de mudas de café conilon, submetidas a doses de fertilizantes de liberação controlada, associados ou não a inoculante comercial de bactérias promotoras de crescimento, com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e material vegetal

O experimento foi realizado em viveiro comercial, localizado no município de Jaguaré (Figura 1), na região Norte do Espírito Santo, nos meses de março a julho de 2023. Os dados do viveiro são: latitude 18° 54'23" S, longitude 40° 04'31" W, altitude de 70 metros com temperatura média anual de 24,2 °C. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, clima tropical úmido, com estações bem definidas, inverno seco e chuvas máximas no verão (ALVARES et al., 2014). A espécie vegetal selecionada para estudo foi *Coffea canephora*, genótipo 'A1' que é produzida e comercializada pelo viveiro na região, seguindo os padrões de qualidade de acordo com o Registro Nacional de Sementes e Mudas (RENASSEM).



Figura 1. Localização da área de estudo.

2.2 Experimentos

Foram realizados dois experimentos, no primeiro, avaliou-se as doses de fertilizante de liberação controlada, com presença ou ausência de inoculante comercial. No segundo experimento, a avaliação se concentrou em tecnologias de adubação de base, considerando a presença ou ausência do inoculante.

2.3 Experimento 1

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial com tratamento adicional [(5 x 2) + 1] com 4 repetições, totalizando 44 unidades experimentais e 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são cinco doses de fertilizante de liberação controlada Basacote® Mini 3M (0;1;2; 4 e 8 g planta⁻¹) e o segundo fator é a presença ou ausência de inoculante comercial (Biofree®) com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03), com garantia de 1x10¹¹UFC L⁻¹, além do tratamento adicional que é a adubação realizada pelo viveiro comercial para tubetes (calagem + Endurene® + fertilizante fosfatado).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento. FLC = Fertilizante de liberação controlada.

Tratamento	Descrição	Dose (g planta ⁻¹)
T1	FLC com inoculante	0,0
T2	FLC sem inoculante	0,0
T3	FLC com inoculante	1,0
T4	FLC sem inoculante	1,0
T5	FLC com inoculante	2,0
T6	FLC sem inoculante	2,0
T7	FLC com inoculante	4,0
T8	FLC sem inoculante	4,0
T9	FLC com inoculante	8,0
T10	FLC sem inoculante	8,0
Tratamento adicional	Adubação tradicional	-----

2.3.1 Composição dos tratamentos

Vinte quatro bandejas tipo caixa, com capacidade para 54 tubetes cônicos de polipropileno de 160 cm³, passaram por limpeza em água corrente e expostos ao sol para desinfecção. O substrato comercial utilizado foi o Biomix®, composto por pó ou fibra de coco, casca de pinus moída e compostada, Biokashi (aditivo orgânico com nutrientes) e composto orgânico formulado pela empresa, todo material é isento de pragas e doenças.

Para 100 litros do substrato, com caracterização físico-química na Tabela 2, adicionou-se 100 g de calcário (30% de CaO e 20 % de MgO). Dezesesseis litros foram

separados para o tratamento adicional, com adição de 103 g de fertilizante fosfatado (14 % de P_2O_5 10% Ca) e 16 g de Endurene® (30% de N, 11% P_2O_5 , 1,3% Mg, 0,1% B, 1% Zn).

Todas as doses do fertilizante Basacote® Mini 3M, com formulação 16-08-12 (2+) e tempo de liberação de 3 meses (Tabela 2), foram aferidas em balança analítica com precisão de 0,0001 g e separadas em recipientes plásticos identificados, adicionando-se ao substrato de forma individualizada. Após, os tubetes receberam etiquetas de acordo com cada tratamento e repetição, sendo dispostos aleatoriamente em cada bloco.

Tabela 2. Composição físico-química do substrato e composição química do fertilizante de liberação controlada.

Biomix®	pH	C/N	UR	Mo	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B
	5,50	35/1	37,65	71,75	1,08	1,64	2,17	2,83	0,59	0,90	0,96	310,0	27,5	575,9	24,5
Basacote® Mini 3M	N	NO ³	NH ⁴	P ₂ O ₅	K ₂ O	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn		

2.3.2 Propagação vegetativa, inoculação e manejo

Hastes ortotrópicas jovens, foram previamente selecionadas em jardim clonal com a finalidade de produção de estacas para repasse ao viveiro. As estacas continham um par de folhas do tecido adulto, cada uma cortada pela metade da sua área para diminuir a transpiração e evitar o efeito guarda-chuva que prejudica a eficiência da irrigação. O tratamento fitossanitário foi realizado com imersão por cinco minutos no fungicida Brisa® WG indicado para controle de doenças na cultura, com posterior transplante nos tubetes.

A primeira inoculação ocorreu antes do transplante das estacas seguindo orientações do fabricante, aplicando-se 14,5 mL e a cada 30 dias uma nova aplicação, sendo um total de quatro aplicações no ciclo das mudas, conforme padrão adotado pelo viveiro. Todos os tratamentos culturais foram realizados pelo viveiro de acordo com a prática de produção de mudas de forma padrão em todos os tratamentos.

2.3.3 Avaliações

A cada 15 dias, foram analisadas as seguintes variáveis biométricas: altura da planta (AP), em cm, com auxílio de uma régua da base do colo da planta até gema apical, diâmetro do caule (DC), em mm, utilizando-se paquímetro digital, número de folhas (NF) contando-se manualmente o número total presentes em cada parcela e a relação da altura da parte aérea com o diâmetro do caule ($RAD = AP/DC$). Aos 120 dias de experimento, as mudas foram transportadas até a fazenda experimental da Universidade Federal do Espírito Santos, campus São Mateus. Foram então, retiradas dos tubetes e colocadas em baldes contendo água para a remoção do substrato. Após, separou-se os ramos ortotrópicos, as raízes e folhas. Para se obter o índice de clorofila total (CT) mediu-se eletronicamente por aparelho clorofiLOG® da marca Falker, realizando-se duas leituras por muda nas folhas do terço médio. A área foliar (AF), foi obtida com medidor de área foliar Li-COR modelo (L1-3100). A massa fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR), determinadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Após secagem em estufa de circulação forçada a 62°C até massa constante, determinou-se a massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) e relação da massa seca da parte aérea com a massa seca das raízes ($RPAR = MSPA/MSR$).

2.3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados no software R Core (TEAM, 2021), sendo submetidos à análise de variância, quando significativo o fator qualitativo (inoculação) foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Já o fator quantitativo (doses), foi submetido à análise de regressão com base na significância dos coeficientes e ao teste de média Dunnett ($p < 0,05$), utilizando-se o pacote 'Tratamentos.ad' (AZEVEDO, 2022). Os pontos de máxima eficiência física, foram determinados por meio da derivada primeira das equações de regressão quadrática.

2.4 Experimento 2

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial (3 x 2), com 4 repetições, totalizando 24 unidades experimentais, cada uma contendo 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são diferentes tecnologias de adubação de base (fertilizante de liberação controlada, adubação tradicional do viveiro e controle), e o segundo fator consiste na presença ou ausência

de inoculante comercial (Biofree®) com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03).

Tabela 3. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento.

Tratamento	Tecnologia de adubação	Inoculante
T1	Fertilizante liberação controlada	com
T2	Fertilizante liberação controlada	sem
T3	Adubação tradicional	com
T4	Adubação tradicional	sem
T5	Controle	com
T6	Controle	sem

2.4.1 Composição dos tratamentos

Oito bandejas tipo caixa, com 224 tubetes cônicos com capacidade de 160 cm³ foram preenchidos com o mesmo substrato descrito no item 2.3.1, com adição de 4 g planta⁻¹ do fertilizante Basacote® Mini 3M com formulação 16-08-12 (2+). Para o tratamento controle, que não recebeu adubação de base, 112 tubetes foram preenchidos com mesmo substrato descrito no item 2.3.1. Já a adubação tradicional do viveiro, realizada em sacos de polietileno com dimensões 10,5 x 20 cm, contendo (terra de barranco + calcário+ esterco bovino curtido + adubo fosfatado 14 % de P₂O₅ 10% Ca).

2.4.2 Propagação vegetativa, inoculação e manejo

Mesmos processos descritos no item 2.3.2

2.4.3 Avaliações

Mesmos processos descritos no item 2.3.2

2.4.4 Análise estatística

Os dados foram analisados no software R Core (TEAM, 2021), sendo submetidos à análise de variância. Quando significativo, a comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Utilizando-se o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2018).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise de variância e regressão

Não houve interação significativa entre os fatores (doses x inoculante) para as variáveis estudadas, indicando que o uso de inoculante independe da dose de FLC aplicada, avaliando-se os efeitos simples dos fatores. Para o desenvolvimento das mudas em função das doses de fertilizante de liberação controlada (FLC), todas as variáveis analisadas, exceto diâmetro do caule (DC) e relação da massa seca da parte aérea com a massa seca das raízes (RPAR = MSPA/MSR), foram significativas com comportamento quadrático, observando os menores valores na dose zero e maiores nas doses entre 4 e 8 g planta⁻¹.

A maior altura de planta (AP), foi observada na dose de 5,2 g planta⁻¹ com 8,7 cm, o que representa um aumento de 88,31 % comparado ao tratamento sem adição de fertilizante (Figura 2A). Esses resultados corroboram com Silva et al. (2010) que identificaram menores taxas de crescimento em mudas de *Coffea canephora* sem adição de fertilizante de liberação controlada. A altura das mudas é uma das principais características observadas pelos produtores para determinação do ponto de comercialização (BERILLI et al.,2014).

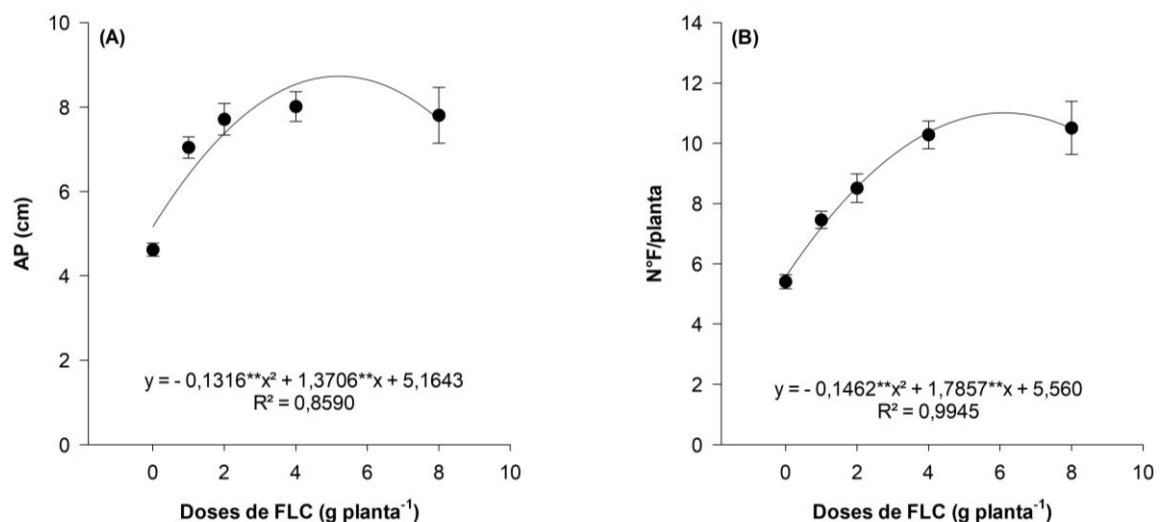


Figura 2. Altura de plantas (A) e número de folhas (B) do cafeeiro após aplicação de fertilizantes de liberação controlada Basacote®.

Quanto ao número de folhas por planta (Figura 2B), observou-se valor máximo de 11,05 folhas planta⁻¹, sendo a dose que proporcionou a máxima eficiência técnica 6,11 g planta⁻¹. O momento de levar a muda para campo, depende do número de

folhas completamente expandidas (BRASIL, 2012). Este número pode variar entre espécies e manejos adotados pelo viveiro. Valores encontrados por Bachião et al. (2018) em *C. arabica* também apresentou comportamento quadrático e maior número de folhas com incremento das doses.

A Massa fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR) e respectivas massas secas (MSPA, MSR), apresentaram maior produção de biomassa aérea e radicular (Figura 3), com pontos de máxima eficiência física nas doses de 6,17; 6,47; 6,26 e 6,30 g planta⁻¹, respectivamente. A (MSPA e MSR) apresentaram valores médios de 1,69 g e 0,52 g (correspondendo a 153 e 123% comparado a dose zero), quanto maior o valor dessas variáveis, melhor a qualidade das mudas produzidas (BATISTA et al., 2014).

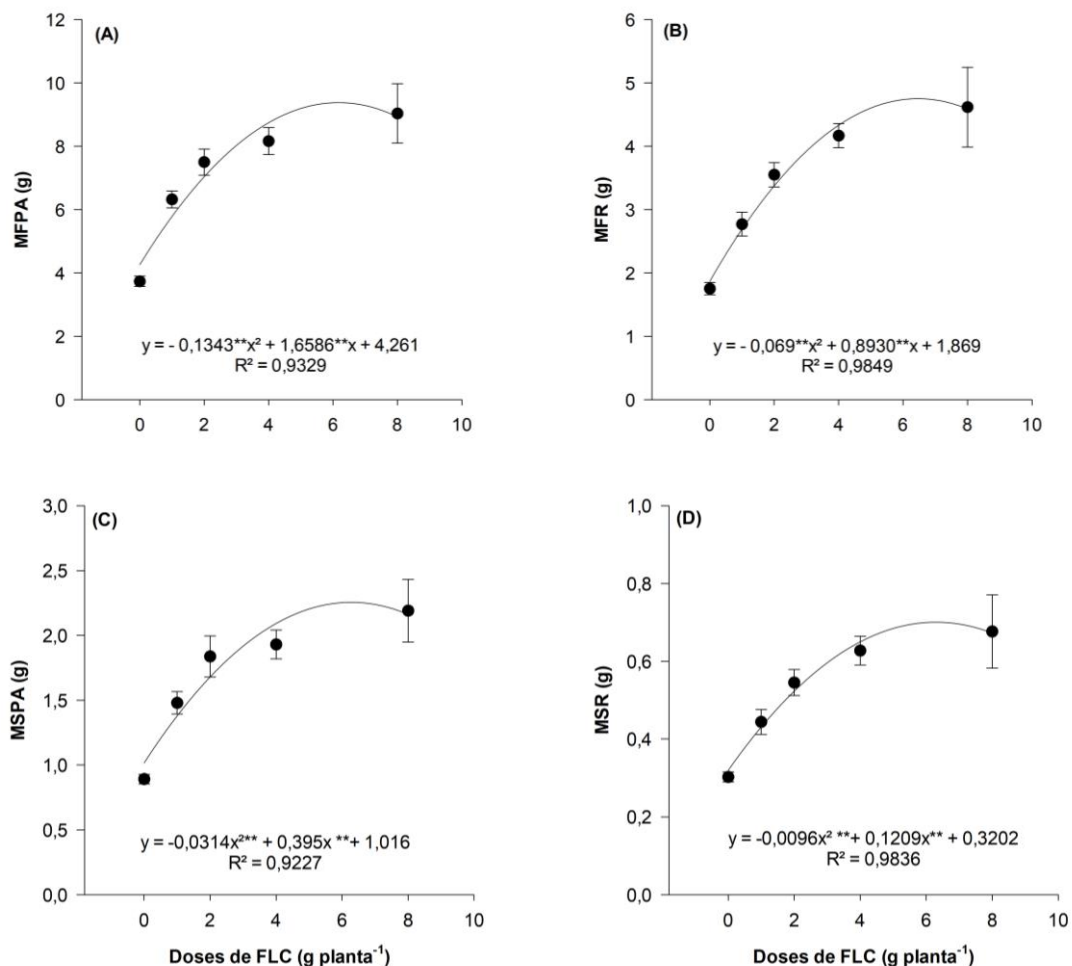


Figura 3. Massa fresca da parte aérea (A), massa fresca de raiz (B), massa seca da parte aérea (C) e massa seca de raiz (D) do cafeeiro após aplicação de fertilizantes de liberação controlada Basacote[®].

Os teores de clorofila a nas folhas do cafeeiro, alcançaram maior índice na dose de 5,35 g planta⁻¹, e houve redução na dose máxima aplicada. No entanto, a dose máxima proporcionou maiores teores relativos de clorofila b e total (Figura 4). Os pontos de máxima eficiência física encontrados foram 5 6,46 e 5,81 g planta⁻¹. Os teores de clorofila a e b são indicadores da ativação do maquinário fotossintético das plantas (RAMÍREZ-OLVERA et al., 2019).

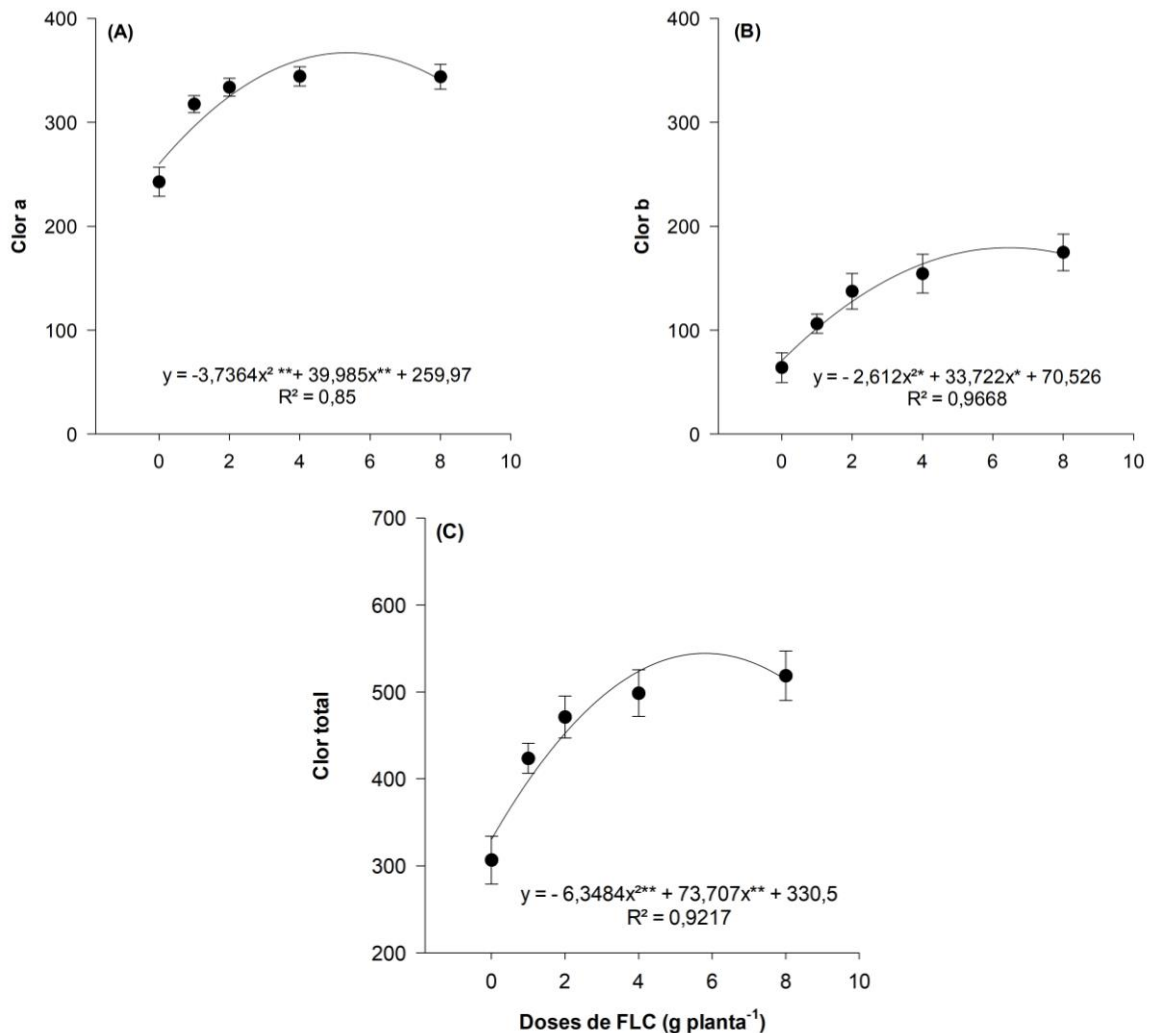


Figura 4. Teor relativo de clorofila a (A), clorofila b (B) e clorofila total (C) em folhas de cafeeiro genótipo A1.

Partelli et al. (2014) verificaram aumentos de clorofila b e clorofila total no inverno para cafeeiros. Também descrito por Gonçalves et al. (2007) para clorofila b. Esses resultados podem explicar os altos teores encontrados neste estudo, no qual as mudas foram cultivadas durante o inverno e chuvas frequentes. Além disso, o aumento na quantidade de clorofila e redução da Rubisco em ambientes com baixa

quantidade de radiação disponível é característica de plantas com plasticidade fenotípica, como parece ser o caso do cafeeiro (MORAIS et al., 2004).

A relação altura de planta e diâmetro do caule (AP/DC) possuem ponto de máxima eficiência física em $4,9 \text{ g planta}^{-1}$ (Figura 5A). Essa relação indica o equilíbrio de desenvolvimento da planta, no qual o aumento possui efeito semelhante ao estiolamento, crescendo mais em altura do que em diâmetro (MARANA et al., 2008). Os resultados encontrados indicam crescimento excessivo nas mudas, com valor de RAD de 11,0, fora do intervalo proposto por Marana et al. (2008) 3,5 a 4,0 e Dardengo et al. (2013) 3,86. Entretanto, é importante considerar o genótipo utilizado, quanto à exigência nutricional. Observa-se que nas doses de 1 e 2 g planta^{-1} , a relação (AP/DC) já se encontra acima do encontrado nos trabalhos citados, mas não houve detrimento do sistema radicular. Podendo está relacionado, a diferença entre espécies, genótipos, épocas de cultivo, recipientes e ambientes.

Em relação a área foliar, o incremento das doses promoveu uma maior área foliar, com máxima eficiência física de $5,7 \text{ g planta}^{-1}$ (Figura 5B). A mensuração da área foliar auxilia na avaliação do estado fisiológico da planta, pois quanto maior sua área, maior a superfície de interceptação de luz, podendo resultar em taxas fotossintéticas elevadas e maior crescimento vegetal (PARTELLI et al., 2006).

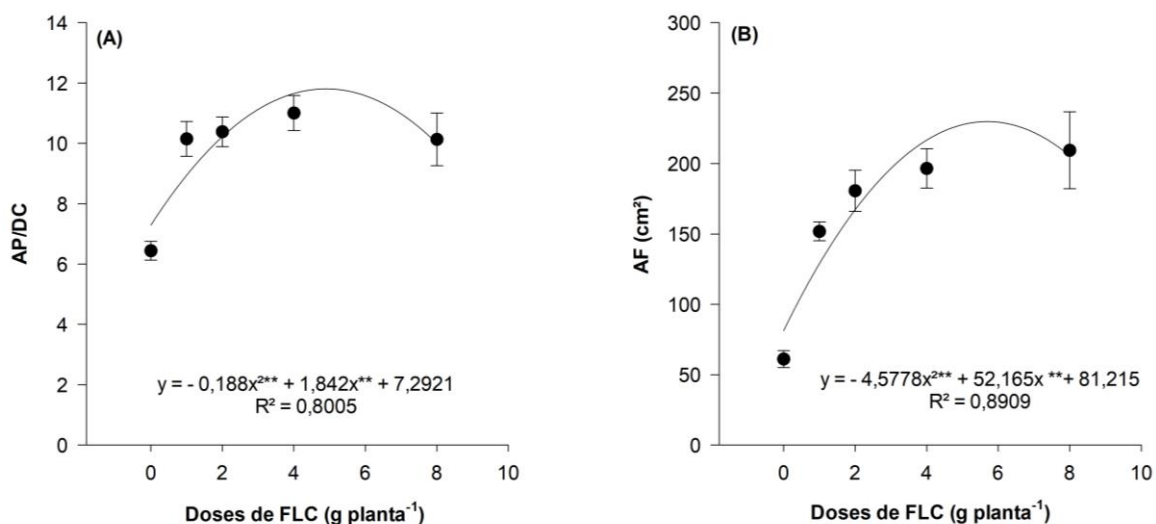


Figura 5. Relação altura de planta/diâmetro do caule (A), área foliar (B).

3.2 Teste de Dunnett

Ao comparar as doses de fertilizante de liberação controlada ao tratamento convencional do viveiro (Tabela 3), altura de planta (AP), número de folhas (N°F), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), e clorofila b (clor b) se diferiram da testemunha nas doses 4 e 8 g planta⁻¹, enquanto massa seca da raiz (MSR) apenas na dose máxima de 8 g planta⁻¹. A relação altura de planta e diâmetro de caule (AP/DC) nas doses 2 e 4 g planta⁻¹ com redução na dose máxima, a clorofila a (Clor a) difere-se do tratamento adicional em todas as doses, enquanto que a clorofila total (Clor total) nas doses de 2, 4 e 8 g planta⁻¹.

A clorofila é o pigmento de maior relevância para a fotossíntese, correlacionando-se ao estado nutricional e ao teor de nitrogênio das folhas, possibilitando assim estimar o crescimento vegetal (MAO et al.,2018; SILVEIRA et al.,2003). Neste estudo, o incremento das doses de fertilizante proporcionou maiores índices dos pigmentos fotossintetizantes e morfológicos, quando comparados ao tratamento adicional, estando diretamente relacionado a maior disponibilidade dos nutrientes às plantas.

A dose zero apresentou os menores valores as características morfofisiológicas. Portanto, para produção de mudas em tubetes com substrato comercial, recomenda-se a adição de fertilizantes de liberação controlada na adubação.

Tabela 3. Dados de *Coffea canephora*, genótipo 'A1' em diferentes doses de fertilizante de liberação controlada (FLC) comparados com um tratamento adicional (calcário + Endurene[®] + fertilizante fosfatado). AP = altura da planta; MFPA = massa fresca da parte aérea; MFR = massa fresca de raiz; MSPA = massa seca da parte aérea; MSR = massa seca de raiz; AF = área foliar; Clor a = Clorofila a; Clor b = Clorofila b; Clor total = clorofila total; AP/DC = razão altura da planta/diâmetro de caule.

Doses FLC (g)	AP cm	AF cm ²	N° F planta	MFPA ----- g -----	MFR	MSPA	MSR	Clor a	Clor b	Clor total	AP/DC
0	4,62	61,09*	5,41	3,74	1,75	0,89	0,30	242,72	63,91	306,63	6,44
1	7,04	151,82	7,46	6,32	2,77	1,48	0,44	317,50*	106,09	423,59	10,15
2	7,71	180,63	8,51	7,51	3,55	1,84	0,55	333,75*	137,38	471,13*	10,39*
4	8,01*	196,52*	10,28*	8,16*	4,17*	1,93*	0,63	344,25*	154,28*	498,53*	11,01*
8	7,81*	209,38*	10,51*	9,04*	4,62*	2,19*	0,68*	343,81*	174,78*	518,59*	10,14
Trat. Adicional	5,65	124,96	6,93	5,62	2,45	1,36	0,42	250,88	70,875	321,75	7,74

*Médias seguidas por asterisco diferem estatisticamente do tratamento adicional, ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), pelo teste de Dunnett.

3.3 Dados qualitativos

Quanto ao uso do inoculante, observou-se diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$) apenas para número de folhas (N°F), em que as plantas inoculadas apresentaram um maior número de folhas (14,22%) quando comparadas às não inoculadas (Figura 6). Portanto, o número de folhas é um fator importante, pois aumenta a eficiência no uso da radiação solar, promovendo maior taxa fotossintética e crescimento (OLIVEIRA et al., 2006). Além disso, relaciona-se a uma melhor estruturação da copa das plantas, quando levadas a campo, podendo contribuir para seu desenvolvimento.

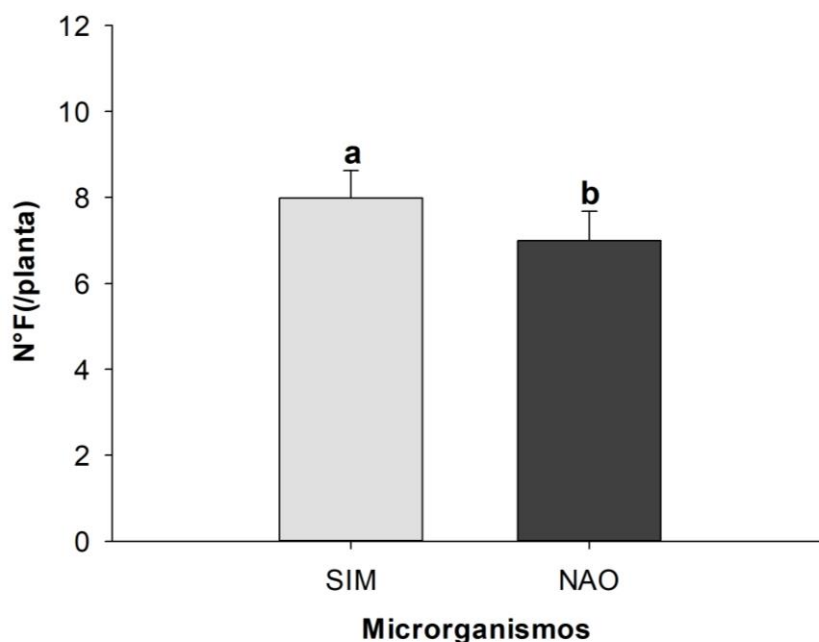


Figura 6. Número de folhas em plantas inoculadas e não inoculadas com *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03) em plantas de *Coffea canephora* genótipo A1.

Assim, os gêneros *Azospirillum* e *Pseudomonas* tem demonstrado recorrente capacidade de colonizar a rizosfera vegetal e melhorar o desenvolvimento das plantas (SAHARAN e NEHRA 2011). Essas bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) tem importante função bioestimuladora, através da produção de fitohormônios como, giberelinas, ácido indol acético – IAA, citocininas e etileno (URGILES-GÓMEZ et al., 2021).

A inoculação com *Azospirillum* nas plantas, estimula o crescimento, resultando em aumento da biomassa da parte aérea, ramificações, melhor aproveitamento da fotossíntese e maior absorção de água e nutrientes, levando a rendimentos mais altos nas culturas (STRZELCZYK et al. 1994; BASHAN et al. 2004).

3.4 Análise temporal (quantitativo x qualitativo)

A variável altura de planta (AP) apresentou comportamento quadrático, enquanto número de folhas (N°F), com presença ou ausência do inoculante, expressou um comportamento linear. Nos primeiros 80 dias após transplântio (DAT), não houve variação no crescimento das mudas. Aos 89 dias, observou-se crescimento acentuado, e ao término do experimento, sem grandes variações. As menores alturas de planta foram observadas na dose zero, enquanto as doses 4 e 8 g planta⁻¹ resultaram em alturas superiores. Já para variável número de folhas, o tratamento com inoculante se destacou (Figura 7).

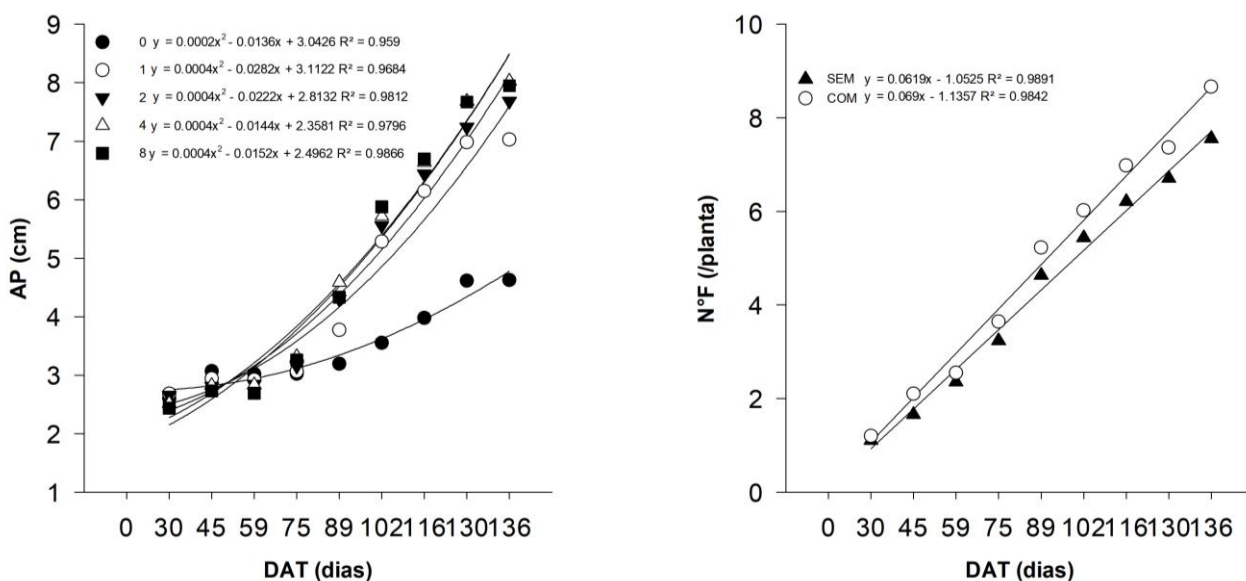


Figura 7. Análise temporal em plantas de *Coffea canephora* genótipo A1. Altura de planta (AP) e número de folhas (N°F).

Corroborando com os resultados encontrado por Giuriatto Júnior et al. (2020) ao estudar estacas retiradas de diferentes posições de haste ortotrópica secundária para obtenção de mudas de *Coffea canephora*, verificaram-se 3

fases em seu desenvolvimento. Inicialmente, ocorreu um crescimento lento (83 dias), intermediário (83 a 125 DAT) com rápido crescimento e final com crescimento estável (após 125 DAT).

Até aproximadamente os 80 dias, as mudas priorizam o crescimento radicular, sem precocidade na emissão de brotos, que pode funcionar como dreno consumindo as reservas de carboidratos, priorizando a disponibilidade dos metabolitos para formação de raízes (LIMA et al., 2006). Com a formação das raízes (crescimento intermediário), as plantas absorvem os nutrientes. No entanto, apesar do fornecimento dos nutrientes, a limitação física do tubete por determinado tempo restringe o desenvolvimento (crescimento estável)

3.5 Tecnologias de adubações X inoculante

No segundo experimento, os resultados da análise de variância pelo teste de F a 5%, não apresentaram interação significativa entre os fatores, sendo, portanto, avaliados separadamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 4). Nos diferentes tratamentos de adubação, apenas a variável diâmetro do coleto (DC) não apresentou diferença significativa. O uso de fertilizante de liberação controlada (FLC) apresentou melhor desenvolvimento nas mudas em todos parâmetros morfofisiológicos analisadas, assim, como no experimento anterior.

Tabela 4. Variáveis morfofisiológicas em diferentes tecnologias de adubação.

Tratamentos	AP	AP/DC	MSPA/MSR	Clor a	Clor b	Clor total
	----- cm -----		g			
FLC	8,01 a	11,00 a	3,08 a	344,25 a	154,28 a	498,53 a
Ad. tradicional	5,37 b	7,61 b	2,96 ab	306,34 a	97,0 b	403,34 b
Controle	4,62 b	6,44 b	2,53 b	242,72 b	63,90 b	306,62 c
CV (%)	12,35	14,44	13,16	10,33	40,8	17,66

*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p > 0,05$). FLC = fertilizante de liberação controlada; Ad. Tradicional = adubação tradicional; AP = altura da planta; AP/DC = altura da parte aérea com diâmetro do coleto; MSPA/MSR = massa seca da parte aérea e massa seca da raiz; Clor a = clorofila a; Clor b = clorofila b; Clor total = clorofila total.

As variáveis altura de planta (AP), relação altura da parte aérea com diâmetro do coleto (AP/DC), relação massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (MSPA/MSR) e clorofila b (Clor b) não apresentaram diferença significativa entre a adubação tradicional e o tratamento controle (sem uso de fertilizante) (Tabela 4). Comprovando que a adubação tradicional não fornece nutrientes necessários a ser disponibilizado aos 120 dias de desenvolvimento das mudas, necessitando de complementações via foliar ou fertirrigação.

Tabela 5. Variáveis morfológicas em diferentes tecnologias de adubação.

Tratamentos	N°F	AF cm ²	MFPA	MFR	MSPA	MSR
----- g -----						
FLC	10,28 a	196,52 a	8,16 a	4,16 a	1,93 a	0,62 a
Ad. tradicional	6,79 b	100,08 b	4,99 b	2,76 b	1,29 b	0,51 b
Controle	5,40 c	61,08 c	3,73 c	1,75 c	0,89 c	0,30 c
CV (%)	10,62	22,59	15,09	16,37	15,07	15,19

*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p > 0,05$). N°F= número de folhas por planta; AF = área foliar; MFPA = massa fresca da parte aérea; MFR = massa fresca de raiz; MSPA = massa seca da parte aérea; MSR = massa seca de raiz.

Já as variáveis número de folhas (N°F), área foliar (AF), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e clorofila total (Clor total), o tratamento controle apresentou os piores resultados de desenvolvimento (Tabela 5).

Para o uso de inoculante, foi observado o mesmo comportamento do experimento 1, em que apenas a variável número de folhas apresentou significância. As mudas inoculadas, apresentaram um aumento de 14,16% no número de folhas, quando comparadas a não inoculadas (Figura 8). Aumentos significativos na parte aérea também foram observados quando houve inoculação em plantas herbáceas e arbóreas (PURI et al., 2020).

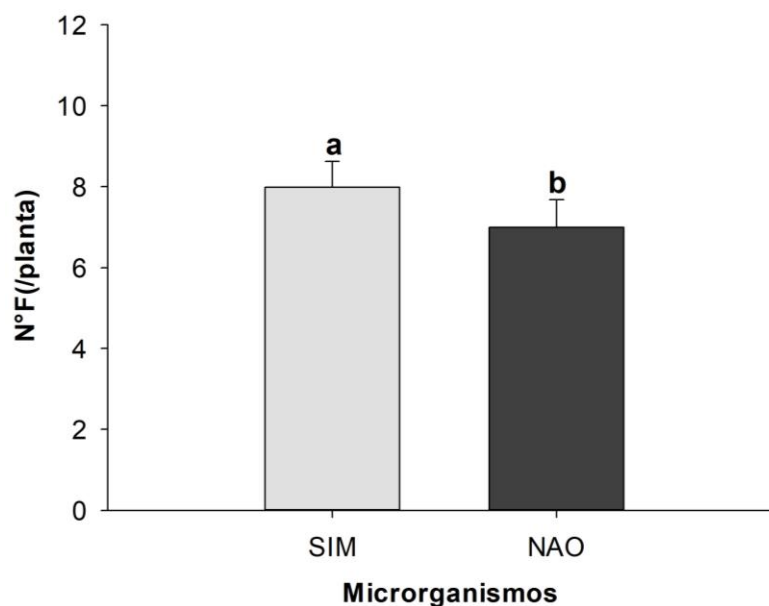


Figura 8. Número de folhas em plantas inoculadas e não inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03).

A resposta a inoculação depende da quantidade e qualidade das células das bactérias promotoras de crescimento utilizadas, podendo variar de com o genótipo da planta, estípe bacteriana, condições ambientais e manejos agrícolas (MATSUMURA et al., 2015). Assim, visando obter resultados mais eficazes na inoculação de plantas de café conilon, recomenda-se a realização de estudos adicionais em distintas épocas do ano e utilizando diferentes métodos de aplicação, levando em consideração a diversidade de genótipos presentes na cultura.

De forma geral, observa-se melhores índices relacionados à qualidade das mudas de *Coffea canephora* quando conduzidas com FLC na dose de 6 g planta⁻¹, sendo o ponto de máxima eficiência física para quase todas as variáveis analisadas, e bons resultados para número de folhas com uso de inoculante.

4. CONCLUSÕES

Para o melhor desempenho das características morfofisiológicas de mudas de *Coffea canephora*, genótipo A1 produzidas em tubetes de 160 cm³, recomenda-se o uso de fertilizante de liberação controlada na dose de 6 g planta⁻¹, com a formulação 16-08-12 (2+).

Não é indicado apenas o uso de substrato comercial sem a adição de fertilizantes de liberação controlada ou adubos tradicionais para produção das mudas de *C. canephora*.

O uso de inoculante proporcionou aumento de 14,22 % no número de folhas.

A diferenciação biométrica das mudas, tanto para os fatores quantitativos (doses) e qualitativos (inoculante) foi aos 89 dias após o transplante das mudas.

5. REFERÊNCIAS

- ARIF, I.; BATOOL, M.; SCHENK, P. M. Plant microbiome engineering: expected benefits for improved crop growth and resilience. **Trends in Biotechnology**, v. 38, n. 12, p. 1385-1396, 2020.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GOLÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brasil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2014.
- AZEVEDO, A. M. **Package 'Tratamentos.ad'**.2022
- BACHIÃO, P. O. B; MACIEL, A. L. R.; AVILA, R. G.; CAMPOS, C. Crescimento de mudas de cafeeiro em tubes com fertilizante de liberação lenta. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 10, n. 1, p. 105-116, 2018.
- BERILLI, S. S.; QUIUQUI, J. P. C.; REMBINSKI, J.; SALLA, P. H. H.; BERILLI, A. P. C. G.; LOUZADA, J. M. Utilização de lodo de curtume como substrato alternativo para produção de mudas de café Conilon. **Coffee Science**, Lavras, v. 9, n. 4, p. 472- 479, 2014.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN35de29denovembrede2012.pdf>. > Acesso em: 26 nov. 2023.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Café**. V. 11, N. 1. Primeiro Levantamento, janeiro. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe>. Acesso em: 22 jan. 2023.
- DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. F. Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 167, n. 4, p. 357-377, 2011.
- DARDENGO, M.C.J.D.; SOUSA, E.F.; REIS, E.F.; GRAVINA, G.A. Crescimento e qualidade de mudas de café conilon produzidas em diferentes recipientes e níveis de sombreamento. **Coffee Science**, Lavras - MG, v. 8, n. 4, p. 500-509,2013.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A.; FERREIRA, M. E. B. **Package 'ExpDes. pt'**. 2018.
- GONÇALVES, G. C.; GALLO, L. A.; FAVARIM, J. L. Assimilação do carbono por plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L var. obata) crescendo a pleno sol e com sombreamento parcial. **Revista de Agricultura**, v. 82, n. 1, p. 35-46, 2007.

GIURIATTO JÚNIOR, J.J.T.; ESPINDULA, M.C.; ARAÚJO, L.F.B. de; VASCONCELOS, J.M.; CAMPANHARO, M. Growth and physiological quality in clonal seedlings of Robusta coffee. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 4, 2020.

ICO. International Coffee Organization. Global Coffee Trade. Available online: <https://www.icocoffee.org/documents/cy2022-23/cmr-0923-e.pdf> (accessed on 9 November 2023).

JIMENEZ, T.; FUENTES, L. E.; TAPIA, A.; MASCARUA, M. A., MARTINEZ, E.; CABALLERO, J. *Coffea arabica* L., a new host plant for *Acetobacter diazotrophicus*, and isolation of other nitrogen-fixing acetobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3676-3683, 1997.

KEJELA, T.; THAKKAR, V. R.; THAKOR, P. *Bacillus* species (BT42) isolated from *Coffea arabica* L. rhizosphere antagonizes *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* and also exhibits multiple plant growth promoting activity. **BMC microbiology**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2016.

LIMA, R. D. L. S. D.; SIQUEIRA, D. L. D.; WEBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 83-86, 2006.

MATSUMURA, E. E.; SECCO, V. A.; MOREIRA, R. S.; SANTOS, O. J. P.; HUNGRIA, M.; OLIVEIRA, A. L. M. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 2187-2200, 2015.

MORAIS, H.; MEDRI, M. E.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P. H.; RIBEIRO, A. M. D. A.; GOMES, J. C. Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brazilian archives of biology and technology**, v. 47, p. 863-871, 2004.

MARANA, J.P.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, E.P.; KAINUMA, R.H. Índices de qualidade e crescimento de mudas de café produzidas em tubetes. **Ciência Rural**, v. 38, p. 39-45, 2008.

MAO, Z. H.; WANG, Y. F.; WU, C. X.; YIN, S.; LI, W. C. et al. Pesquisa sobre a Aplicação do Sensoriamento Remoto Multiespectral UAV na Predição da Clorofila do Milho. **Espectroscopia e Análise Espectral**, v. 38, n. 9, p. 2923-2931, 2018.

OLIVEIRA, A.L.M; CANUTO, E.L; URQUIAGA, S.; REIS, S.V.M; BALDANI, J.I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, v. 284, p. 23-32, 2006.

OLIVEIRA, P. C.; JUNIOR, K. S. F.; BRIGANTE, G. P.; DA SILVA, T. M. Efeito do adubo de liberação lenta no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular de mudas de café arábica. **Cerrado Agrociências**, v. 9, p. 105-110, 2018.

- PURI, A.; PADDA, K. P.; CHANWAY, C. P. In vitro and in vivo analyses of plant-growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103538, 2020.
- PARTELLI, F. L.; ARAÚJO, A. V.; VIEIRA, H. D.; DIAS, J. R. M.; MENEZES, L. F. T. D.; RAMALHO, J. C. Microclimate and development of 'Conilon' coffee intercropped with rubber trees. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 872-881, 2014.
- RAMÍREZ, R.F.; CASTAÑEDA, E.; ROBLES, C.; SANTIAGO, G.M.; PÉREZ, M.I.; LOZANO, S. Efectividad de biofungicidas para el control de la roya en plántulas de café. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 11, n. 6, p. 1403-1412, 2020.
- RAMÍREZ, S. M.; TREJO, L.L.; PEREZ-SATO, J.A.; GÓMEZ-MERINO, F.C. Silicon stimulates initial growth and chlorophyll a/b ratio in rice seedlings, and alters the concentrations of Ca, B, and Zn in plant tissues. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 16, p. 1928-1940, 2019.
- Rosa, K. M.; Paiva, P. E. B.; Coelho, V. P. D. M.; Carvalho, M.; Assis, H. L. B. D. Low concentration fertigation solution allows greater macronutrient use efficiency in coffee seedlings. **Coffee Science**, Lavras, v. 16, n. 2, p. 157-164, 2021.
- SILVEIRA, A. P. D.; TRISTÃO, F. S. M.; FERNANDES, A. O.; ANDRADE, S. A. L.; CIPRIANO, M. A. P. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation for coffee seedling production with commercial and conventional substrates. **Bragantia**, v. 82, p. e20220161, 2023.
- SILVA, J. I.; VIEIRA, H. D.; VIANA, A. P.; BARROSO, D. G. Desenvolvimento de mudas de *Coffea canephora* Piere ex A. Froehner em diferentes combinações de substrato e recipiente. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 1, p. 38-48, 2010.
- STRZELCZYK, E.; KAMPERT, M.; LI, C. Y. Cytokinin-like substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, v. 149, n. 1, p. 55-60, 1994.
- SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sci Med Res**, v. 21, n. 1, p. 30, 2011.
- SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P. D.; OLIVEIRA, A. L. M. D.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca. **Bragantia**, v. 75, p. 33-40, 2016.
- SHEN, M.; LI, J.; DONG, Y.; LIU, H.; PENG, J.; HU, Y.; SUN, Y. Profiling of plant growth-promoting metabolites by phosphate-solubilizing bacteria in maize rhizosphere. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1071, 2021.
- SHAO, J.; XU, Z.; ZHANG, N.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Contribuição do ácido indol-3-acético na promoção do crescimento vegetal pela cepa rizosférica *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Biologia e Fertilidade dos Solos**, vol. 51, páginas 321-330, 2015.

SILVEIRA, P. M. D.; BRAZ, A. J. B. P.; DIDONET, A. D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1083-1087, 2003.

SANTOS, A.R.; GONÇALVES, E.O.; GIBSON, E.L.; ARAÚJO, E.F.; CALDEIRA, M.V.W. Controlled-release fertilizer in the growth of *Dalbergia nigra* seedlings. **Floresta**, v. 50, n. 2, p. 1203-1212, 2020.

TEAM, R. Core. R: A language and environment for statistical computing (Version 4.1.0). R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2021.

URGILES, N.; AVILA, M.E.; LOJÁN, P.; ENCALADA, M.; HURTADO, L.; ARAUJO, S.; COLLAHUAZO, Y.; GUACHANAMÁ, J.; POMA, N.; GRANDA, K.; ROBLES, A.; SENÉS, C.; CORNEJO, P. Plant growth-promoting microorganisms in coffee production: from Isolation to field application. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1531, 2021.

WANG, X.; YANG, Y.; ZHONG, S.; MENG, Q.; LI, Y.; WANG, J.; GAO, Y.; CUI, X. Advances in controlled-release fertilizer encapsulated by organic-inorganic composite membranes. **Particuology**, 2023.

CAPÍTULO 3

RESUMO

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; março de 2024; **Respostas fisiológicas em mudas de *Coffea canephora* associadas a fertilizante de liberação controlada e inoculante**; Orientador: Ivoney Gontijo, Co-orientador: Edilson Romais Schmildt.

O manejo nutricional nas mudas do cafeeiro influencia os parâmetros fisiológicos e produtivo da cultura. Objetivou-se no presente estudo compreender as interações entre as doses de fertilizante de liberação controlada (FLC) com a presença ou ausência de inoculante e a variação da fluorescência da clorofila *a* e conteúdo mineral das plantas, em mudas de café conilon. O experimento foi realizado em viveiro comercial, localizado no município de Jaguaré, na região Norte do Espírito Santo, nos meses de março a julho de 2023. O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial com tratamento adicional [(5 x 2) + 1] com 4 repetições, totalizando 44 unidades experimentais e 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são cinco doses de fertilizante de liberação controlada Basacote® Mini 3M (0;1;2; 4 e 8 g planta⁻¹) e o segundo fator é a presença ou ausência de inoculante comercial (Biofree®) com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03), com garantia de 1x10¹¹UFC L⁻¹. Além do tratamento adicional que é a adubação realizada pelo viveiro comercial para tubetes (calagem + Endurene® + fertilizante fosfatado). Os parâmetros avaliados foram: fluorescência da clorofila *a*, e teor mineral das mudas. Foram observadas bandas L e K negativas indicando que o uso de FLC e inoculante proporcionaram melhor uso da energia de excitação com maior estabilidade ao sistema fotoquímico. Assim, maiores doses de FLC com inoculante promoveram aumentos nos valores ϕP_0 , FV/F₀ e ϕE_0 , em contrapartida em mudas sem inoculante, observou-se redução em ϕE_0 evidenciando uma menor eficiência fotossintética. A interação significativa entre doses x inoculante para os teores nutricionais de Mn encontra-se acima das faixas recomendada para cultura. As variáveis que contribuíram positivamente para o grupo fotoquímico foram RC/CS_M, ϕP_0 , Area, FV/F₀ e PI_{TOTAL}.

Palavra-chave: nutrição mineral; fluorescência da clorofila *a*; robusta.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Thais Santana do; M.Sc.; Federal University of Espírito Santo; March 2024; **Respostas fisiológicas em mudas de *Coffea canephora* associadas a fertilizante de liberação controlada e inoculante**; Advisor: Ivoney Gontijo, Co-advisor: Edilson Romais Schmildt.

Nutritional management in coffee seedlings influences the physiological and productive parameters of the crop. The objective was to understand the interactions between doses of controlled-release fertilizer (CRF) with the presence or absence of inoculant and the variation in chlorophyll a fluorescence and mineral content of plants in conilon coffee seedlings. The experiment was conducted in a commercial nursery located in the municipality of Jaguaré, in the Northern region of Espírito Santo, from March to July 2023. The experimental design employed was a randomized block design (RBD), in a factorial scheme with an additional treatment [(5 x 2) + 1] with 4 replications, totaling 44 experimental units and 14 plants per plot. The levels of the first factor are five doses of Basacote® Mini 3M controlled-release fertilizer (0; 1; 2; 4; and 8 g plant⁻¹), and the second factor is the presence or absence of commercial inoculant (Biofree®) with strains of *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) and *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03), with a guarantee of 1x10¹¹ CFU L⁻¹. In addition to the additional treatment, which is the fertilization carried out by the commercial nursery for tubes (liming + Endurene® + phosphate fertilizer). The evaluated parameters were: chlorophyll a fluorescence and mineral content of the seedlings. Negative L and K bands were observed, indicating that the use of CRF and inoculant provided better use of excitation energy with greater stability to the photochemical system. Thus, higher doses of CRF with inoculant promoted increases in the values of ϕP_0 , FV/F0, and ϕE_0 ; on the other hand, in seedlings without inoculant, a reduction in ϕE_0 was observed, indicating lower photosynthetic efficiency. The significant interaction between doses x inoculant for Mn nutritional levels is above the recommended ranges for the crop. The variables that positively contributed to the photochemical group were RC/CSM, ϕP_0 , Area, FV/FO, and PITOTAL.

Keyword: mineral nutrition; chlorophyll a fluorescence; robusta.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil mantém sua liderança na produção global de café. A previsão para produção mundial é de 171,4 milhões de sacas para a safra 2023/2024, com uma contribuição de cerca de 38,66%, dividida entre *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (USDA, 2023). Os estados de Minas Gerais (café arábica) e Espírito Santo (café robusta) são os maiores produtores (CONAB, 2024).

Para o estabelecimento de uma lavoura, a utilização de mudas com qualidade influenciará todo seu desenvolvimento, incluindo aspectos como sanidade, nutrição, qualidade de grãos e produtividade. Devido ao alto potencial produtivo da cultura, acumulando elevadas quantidades de nutrientes nos tecidos vegetativos e reprodutivos, o café demanda altos níveis de nutrientes (SCHMIDT et.al., 2022).

Os fertilizantes formulados NPK (Nitrogênio, fósforo e potássio) são os mais utilizados pela agricultura para manter e aprimorar a fertilidade dos solos, favorecendo a produtividade (CHANNAB et al., 2023). Entretanto, a eficiência desses nutrientes é reduzida (WANG et al., 2024). Aproximadamente 70% dos fertilizantes convencionais, após serem aplicados, podem ser perdidos por lixiviação, decomposição e volatilização nos três principais compartimentos da biosfera ar (atmosfera), água (litosfera) e solo (hidrosfera) (DUAN et al., 2023).

Assim, uma das alternativas para reduzir as perdas dos fertilizantes convencionais são os fertilizantes de liberação controlada (FLC). De acordo com VEJAN et al. (2021) os FLC disponibilizam os nutrientes de forma gradual de acordo com a demanda da planta durante seu crescimento. Além disso, o uso de microrganismos conhecidos como bactérias promotoras de crescimento de plantas BPCP, estabelece interações benéficas entre solo e plantas, aumentando a produtividade das culturas, redução da quantidade de fertilizantes aplicados e melhor conservação dos recursos ambientais (FERRARO et al., 2023). Entretanto, para se obter o máximo de benefícios, é necessário utilizar a inoculação com (BPCP) em conjunto com os níveis adequados de fertilizantes (SOUZA et al., 2015).

Neste sentido, objetivou-se no presente estudo compreender as interações entre as doses dos fertilizantes de liberação controlada com a

presença ou ausência de inoculante e a variação da fluorescência da clorofila *a* e conteúdo mineral das plantas, em mudas de café conilon.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e material vegetal

O experimento foi realizado em viveiro comercial, localizado no município de Jaguaré, na região Norte do Espírito Santo, nos meses de março a julho de 2023. Os dados do viveiro são: latitude 18° 54'23" S, longitude 40° 04'31" W, altitude de 70 metros com temperatura média anual de 24,2 °C. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, clima tropical úmido, com estações bem definidas, inverno seco e chuvas máximas no verão (ALVARES et al., 2014). A espécie vegetal selecionada para estudo foi *Coffea canephora*, genótipo 'A1' que é produzida e comercializada pelo viveiro na região, seguindo os padrões de qualidade de acordo com o Registro Nacional de Sementes e Mudanças (RENASSEM).

2.2 Desenho experimental e tratamentos

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizado (DBC), em esquema fatorial com tratamento adicional [(5 x 2) + 1] com 4 repetições, totalizando 44 unidades experimentais e 14 plantas por parcela. Os níveis do primeiro fator são cinco doses de fertilizante de liberação controlada Basacote® Mini 3M (0;1;2; 4 e 8 g planta⁻¹) e o segundo fator é a presença ou ausência de inoculante comercial (Biofree®) com as cepas de *Azospirillum brasiliense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (CCTB03), com garantia de 1x10¹¹UFC L⁻¹. Além do tratamento adicional que é a adubação realizada pelo viveiro comercial (calagem + Endurene® + fertilizante fosfatado).

Vinte quatro bandejas tipo caixa, com capacidade para 54 tubetes cônicos de polipropileno de 160 cm³, passaram por limpeza em água corrente e expostos ao sol para desinfecção. O substrato comercial utilizado foi o Biomix®, composto por pó ou fibra de coco, casca de pinus moída e compostada, Biokashi (aditivo orgânico com nutrientes) e composto orgânico formulado pela empresa, todo material é isento de pragas e doenças. Para 100 litros do substrato, com caracterização físico-química na Tabela 1, adicionou-se 100 g de calcário (30% de CaO e 20 % de MgO). Dezesesseis litros foram separados para o tratamento

adicional, com adição de 103 g de fertilizante fosfatado (14 % de P_2O_5 10% Ca) e 16 g de Endurene® (30% de N, 11% P_2O_5 , 1,3% Mg, 0,1% B, 1% Zn).

Todas as doses do fertilizante Basacote® Mini 3M, com formulação 16-08-12 (2+) e tempo de liberação de 3 meses (Tabela 1), foram aferidas em balança analítica com precisão de 0,0001 g e separadas em recipientes plásticos identificados, adicionando-se ao substrato de forma individualizada. Após, os tubetes receberam etiquetas de acordo com cada tratamento e repetição, sendo dispostos aleatoriamente em cada bloco.

Tabela 1. Composição físico-química do substrato e composição química do fertilizante de liberação controlada.

Biomix®	pH	C/N	UR	Mo	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	B
	----- dag kg ⁻¹ -----											----- mg kg ⁻¹ -----			
	5,50	35/1	37,65	71,75	1,08	1,64	2,17	2,83	0,59	0,90	0,96	310,0	27,5	575,9	24,5
Basacote® Mini 3M	N	NO ³	NH ⁴	P ₂ O ₅	K ₂ O	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn		
	----- dag kg ⁻¹ -----														
	16	7,4	8,6	8	12	1,2	5	0,02	0,05	0,4	0,06	0,015	0,02		

2.3 Propagação vegetativa, inoculação e manejo

Hastes ortotrópicas jovens, foram previamente selecionadas em jardim clonal com a finalidade de produção de estacas para repasse ao viveiro. As estacas contiam um par de folhas do tecido adulto, cada uma cortada pela metade da sua área para diminuir a transpiração e evitar o efeito guarda-chuva que prejudica a eficiência da irrigação. O tratamento fitossanitário foi realizado com imersão por cinco minutos no fungicida Brisa® WG indicado para controle de doenças na cultura, com posterior transplante nos tubetes.

A primeira inoculação ocorreu antes do transplante das estacas seguindo orientações do fabricante, aplicando-se 14,5 mL via irrigação utilizando um regador. A cada 30 dias, foi realizada uma nova aplicação, totalizando 4 aplicações no ciclo das mudas, conforme padrão adotado pelo viveiro. Todos os tratamentos culturais foram realizados pelo viveiro de acordo com a prática de produção de mudas de forma padrão em todos os tratamentos.

2.4 Fluorescência da clorofila *a*: Curvas OJIP, normalizações e teste JIP

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida com um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hansatech, King's Lynn, Norfolk, Reino Unido). Para as medições, foram selecionadas aleatoriamente treze plantas de cada tratamento ($n=13$) aos 120 dias de experimento. As folhas jovens completamente expandidas) foram previamente adaptadas ao escuro usando cliques foliares (Hansatech®) por 30 minutos. Foi aplicado um flash saturante de luz com intensidade $3000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, suficiente para gerar a fluorescência máxima em todos os tratamentos. Os sinais de fluorescência foram registrados de $10\mu\text{s}$ até 1s. As intensidades de fluorescência registrada aos $20\mu\text{s}$ (considerada como F_0), $100\mu\text{s}$, $300\mu\text{s}$, 2ms (FJ), 30ms (FI) e fluorescência máxima ou F_m ($\approx 300\text{ms}$) foram coletadas e utilizadas para obter os parâmetros do teste JIP (STRASSER et al., 2004).

Para a construção das curvas OJIP, os sinais de fluorescência foram obtidos pelo software Biolyser (Biolyser c R. M. Rodriguez, The Bionenergetics Laboratory, University of Geneva, Geneva, Switzerland) e plotados em escala logarítmica de tempo desde $0,02 \mu\text{s}$ até 1s. A curva OJIP e normalizações foram construídos utilizando o SigmaPlot versão 12.0. Para comparar os efeitos dos tratamentos para os eventos refletidos nas fases O-J, J-I e I-P, os sinais de fluorescência foram duplamente normalizados entre F_0 a F_m e apresentados como a cinética da fluorescência relativa variável no tempo (t), $V_{OP} = (F_t - F_0)/(F_m - F_0)$ e como a diferença cinética $\Delta V_{OP} = (V_{OP\text{tratamento}} - V_{OP\text{controle}})$ (STRASSER et al. 2007).

A fluorescência relativa entre os pontos O e K [20 and $300\mu\text{s}$, respectivamente = $V_{OK} = (F_t - F_0)/(F_K - F_0)$] e entre O e J [$20\mu\text{s}$ e 2ms, respectivamente = $V_{OJ} = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$] foram normalizados e apresentados como a diferença cinética $V_{OK} = V_{OK(\text{tratamento})} - V_{OK(\text{controle})}$ e $V_{OJ} = V_{OJ(\text{tratamento})} - V_{OJ(\text{controle})}$, respectivamente. A diferença cinética V_{OK} e V_{OJ} refletem o aparecimento das bandas-L e K, respectivamente. Plantas que não receberam o FLC e o inoculante foram consideradas como controle

2.5 Macro e micronutrientes das plantas

Folhas das 14 plantas por parcela, foram colocadas em sacos de papel identificados e levado em estufa de circulação forçada por 72 horas, até massa constante. Após secagem, amostras compostas de todos os tratamentos por blocos foram separadas para envio a laboratório de análises agronômicas, para determinação dos teores de nutrientes nas mudas. A determinação de P, K Ca, Mg, S, Zn, Mn, Fe, Cu e Na, foram realizadas por digestão em ácido nítrico-perclórico. A quantificação do nitrogênio (N) pelo método micro Kjeldahl (ou seja, digestão com ácido sulfúrico seguida por destilação e titulação) e Boro (B) por incineração. Os resultados foram expressos em gramas e miligramas de cada elemento por quilo de matéria seca.

2.6 Análise estatística

Os dados foram analisados no software R (TEAM, 2021), sendo submetidos à análise de variância, quando significativo o fator qualitativo (inoculação) foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Já o fator quantitativo (doses), foi submetido à análise de regressão com base na significância dos coeficientes, utilizando-se o pacote 'Tratamentos.ad' (AZEVEDO, 2022). Os pontos de máxima eficiência física, foram determinados por meio da derivada primeira das equações de regressão quadrática.

Além disso, realizou-se a análise multivariada dos dados através da análise dos componentes principais (ACP), cada uma das doses de FLC, foram analisadas graficamente com e sem presença de inoculante contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com os parâmetros fisiológicos e nutricionais.

3. RESULTADOS

3.1 Florescência da clorofila *a*

A análise das curvas da fluorescência transiente da clorofila *a* mostraram diferenças fisiológicas nas mudas de café conilon submetidas a doses de fertilizante de liberação controlada (FLC), com e sem inoculante. As curvas mostraram um comportamento polifásico típico OJIP aumentando desde o nível de fluorescência inicial (F_0) até o nível máximo (F_m) com pontos intermediários J e I bem definidos (Figura 1A-B). Maior heterogeneidade das amostras foi observada para as plantas que não receberam inoculação.

Para avaliar com maior nível de detalhes o comportamento polifásico das curvas OJIP, os dados de fluorescência foram duplamente normalizados entre F_0 e F_m , o que permitiu a visualização das fases O-J, J-I e I-P, foram realizadas normalizações entre os pontos (F_0 e F_m), apresentadas como fluorescência variável relativa (V_{OP}) e como a diferença cinética (ΔV_{OP}) (STRASSER et al., 2007). A análise de V_{OP} , permitiu visualizar aumento do ponto J, obtido aos 2 ms, no tratamento sem inoculante para a dose 0 g de FLC. Nenhuma variação foi observada no ponto I para todos os tratamentos.

Na ausência de inoculante, a análise de ΔV_{OP} revelou fases O-J e J-I com amplitudes negativas para as doses 2, 4 e 8 g FLC. Por outro lado, quando 0 e 1 g de FLC foram aplicadas, fase I-P positiva foi observada (Figura E-F). Quando o inoculante foi aplicado, fases O-J e J-I positivas também foram observadas, mas com menor amplitude.

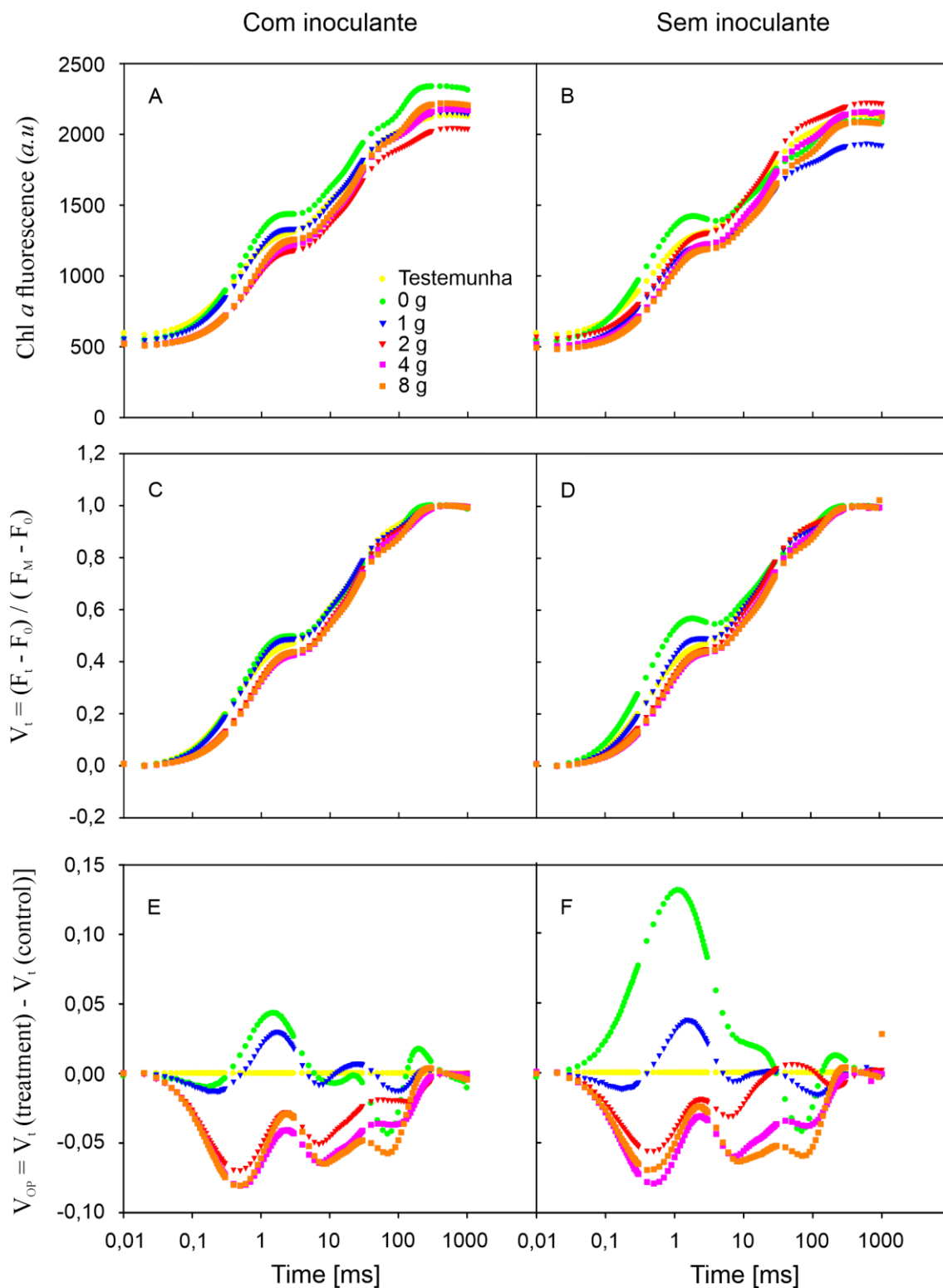


Figura 1. Efeito das doses de fertilizante de liberação controla com inoculante (A, C e E) e sem inoculante (B, D e F) na curva polifásica (O-J-I-P) (A-B), fluorescência variável relativa V_{OP} (C-D) e diferenças cinéticas da fluorescência variável relativa ΔV_{OP} (E-F) em mudas de *Coffea canephora*.

Para avaliar a conectividade energética entre as subunidades associadas ao FSII e a estabilidade do complexo de evolução do oxigênio (CEO), os dados de fluorescência normalizados entre os pontos O-K e O-J revelaram bandas L e K distinguindo os tratamentos entre si (Figura 2).

No presente estudo, na ausência do inoculante, banda-K positiva foi obtida na dose de 0 g de FLC. Para as doses 1, 2, 4 e 8 g de FLC, bandas-K negativas foram observadas e foram proporcionais à dose de FLC aplicada, com maiores amplitudes negativas registradas para as doses 4 e 8 seguidas pela dose 2 g de FLC.

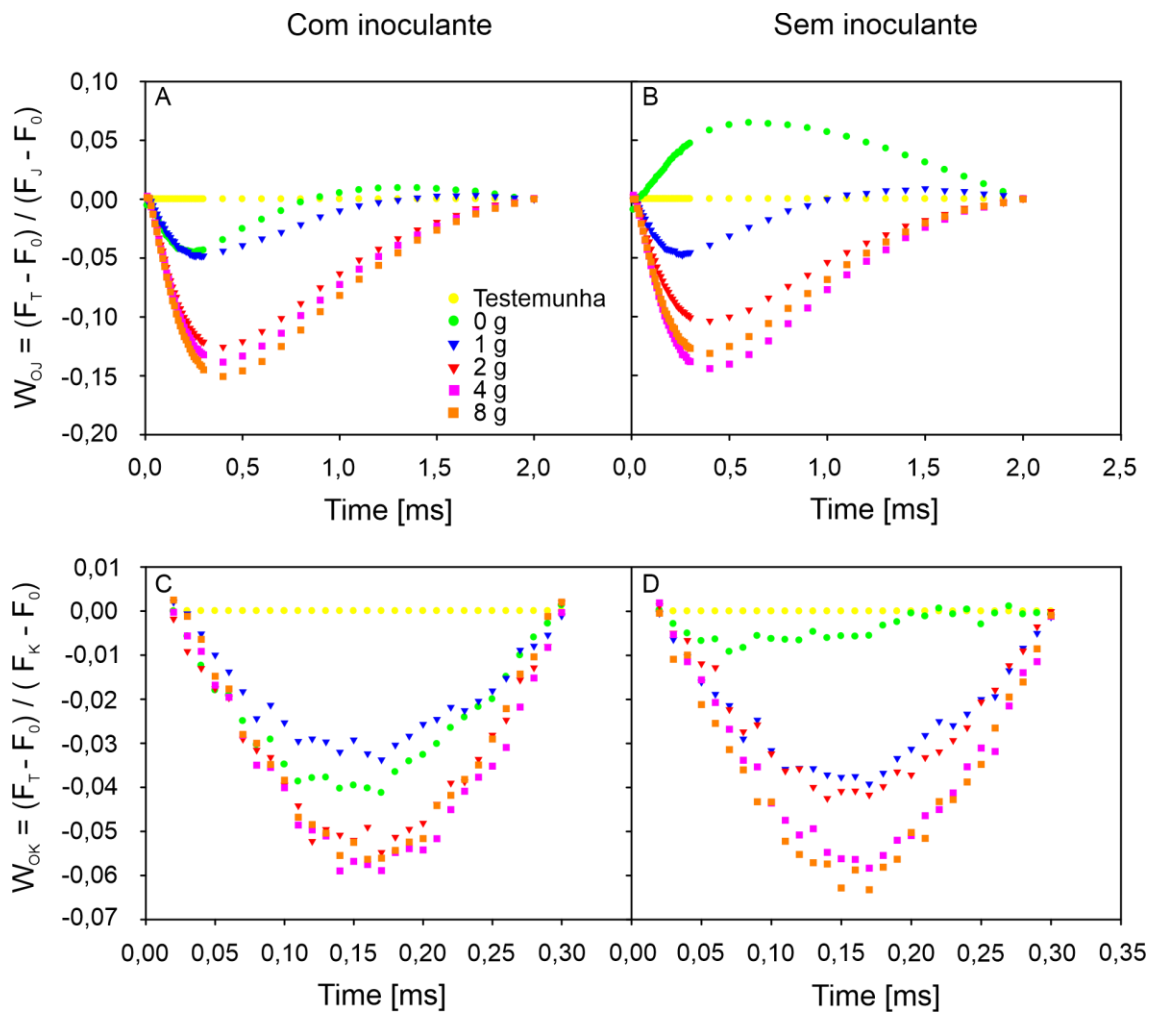


Figura 2. Mudanças de café conilon em diferentes doses de fertilizante de liberação controlada com (A-C) e sem (B-D) inoculante, entre os passos O- K Banda – L (C-D) e O- J banda- K (A-B).

O uso do inoculante resultou em bandas-K negativas para todas as doses de FLC aplicadas, com menor amplitude para as doses 0 e 1 g de FLC e maior

amplitude para as doses 2 a 8 g de FLC. A banda-L formada para todos os tratamentos (com/sem inoculante), apresentou valores negativos com maior amplitude para as doses 4 e 8 g de FLC. O uso do inoculante aumentou a amplitude negativa da banda-L para a dose 0 g FLC.

3.2 Parâmetros do teste JIP

A Figura 3 apresenta 21 parâmetros da fluorescência da clorofila *a* (teste JIP) em plantas de café conilon genótipo A1. Ambos os tratamentos (com e sem inoculante) e doses de FLC influenciaram os parâmetros do teste JIP. Mudas cultivadas com inoculante mostraram reduções nos valores de F_0 , N e aumento para V_j para as menores doses de FLC. Por outro lado, mudas sem inoculante também apresentaram reduções em F_0 , mas aumento dos valores de N e V_j . A fluorescência máxima (F_m) aumentou nas doses 0, 8 e 4 g de FLC para mudas inoculadas com redução para dose de 2 g de FLC, enquanto para não inoculadas, o aumento foi observado nas doses 2 e 4 g de FLC, com reduções em 1 e 8 g de FLC. Além disso, houve aumento em F_v/F_0 e redução em F_0/F_m em todas as doses, independente do inoculante. Destaca-se que a fluorescência variável (V_i) não apresentou aumento em ambos tratamentos. Em $Tf_{(max)}$, houve aumento nas doses 2 e 4 g FLC e redução em 0, 1 e 8 g de FLC para ambos tratamentos. $SFI_{(abs)}$ das mudas inoculadas aumentou em todas as doses de FLC, enquanto sem inoculante, apenas nas doses 8 e 2 g de FLC, com redução para dose de 0 g e 1 g não diferindo-se do controle. Para Area, observou-se aumento em 4, 8, 2 e 0 g FLC em ambos tratamentos, com a dose de 1 g não se diferenciando do controle com a presença do inoculante, com redução na dose 1 g de FLC para não inoculadas. S_m em mudas com inoculante as doses 4,8 e 2 g de FLC apresentaram aumento, com as doses 0 e 1 g de FLC não apresentando diferença em relação ao controle, para mudas sem inoculante, observou-se aumento para todas as doses. $S_m/T_{(fmax)}$ aumento nas doses de 0,8,4 e 1 g de FLC em ambos tratamentos. No entanto, a dose de 2 g não apresentou diferenças ao controle em mudas com inoculante, entretanto houve redução em mudas sem inoculante. Os valores dos fluxos fenomenológicos de energia relacionados à absorção, captura e transporte de elétrons por seção transversal (ABS/CS_M , TR_0/CS_M e ET_0/CS_M , respectivamente) aumentaram quando as plantas foram cultivadas com inoculante. Observou-se reduções dos valores do fluxo de energia de dissipação (DI_0/CS_M) nos tratamentos com e sem inoculante independente da dose de FLC aplicada. A densidade de centros de reação ativos (RC/CS_M) aumentou para todas as doses de FLC na presença do inoculante. Na ausência do inoculante, maior RC/CS_M ocorreu apenas para as doses 4, 8 e 2 g de FLC, com as doses 0 e 1 g de FLC sem diferenças em relação à testemunha.

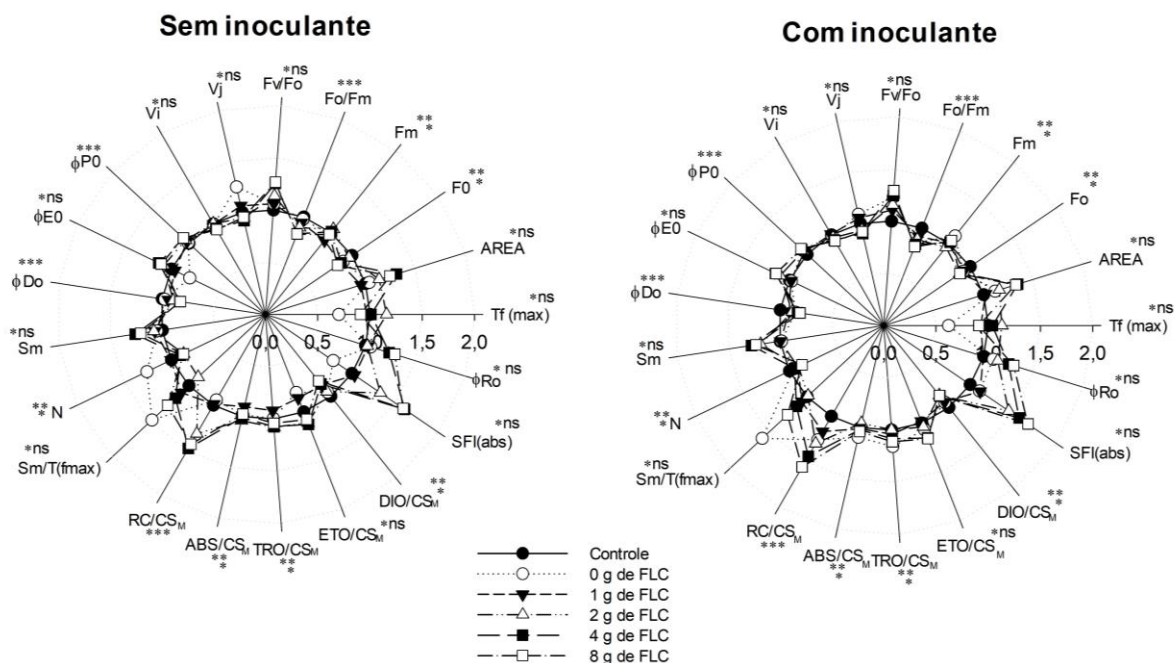


Figura 3. Parâmetros do teste JIP em plantas de café conilon genótipo A1 com e sem inoculante. Médias seguidas por um (*) para doses de FLC em cada tratamento com ou sem inoculante; e/ou dois asteriscos (**), para com ou sem inoculante em cada dose de FLC; e/ou três asteriscos (***), para os fatores doses e inoculante sem interação, são significativamente diferentes de acordo com o teste de F ($p < 0,05$). ns (não significativo)

A análise dos parâmetros de rendimento quântico para mudas cultivadas sem inoculante revelaram um aumento em ϕP_0 nas doses 8,4 e 2 g de FLC aplicadas, assim como em ϕE_0 apenas para as doses 4, 8 e 2 g de FLC, com redução para as doses 0 e 1 g de FLC. Entretanto, o uso do inoculante aumentou ϕP_0 em todas as doses de FLC, enquanto ϕE_0 aumentou apenas para as doses 4, 8 e 2 g de FLC, sem diferença em relação à testemunha para as doses 0 e 1 g de FLC. Os valores de ϕD_0 reduziram em todas as doses de FLC, independente do uso de inoculante. Quanto a ϕR_0 , em mudas inoculadas, observou-se aumentou nas doses 8,4,2 e 0 g FLC, com 1 g não se diferenciando do controle. Os mesmos resultados foram encontrados sem inoculação, porém com aumento em todas as doses.

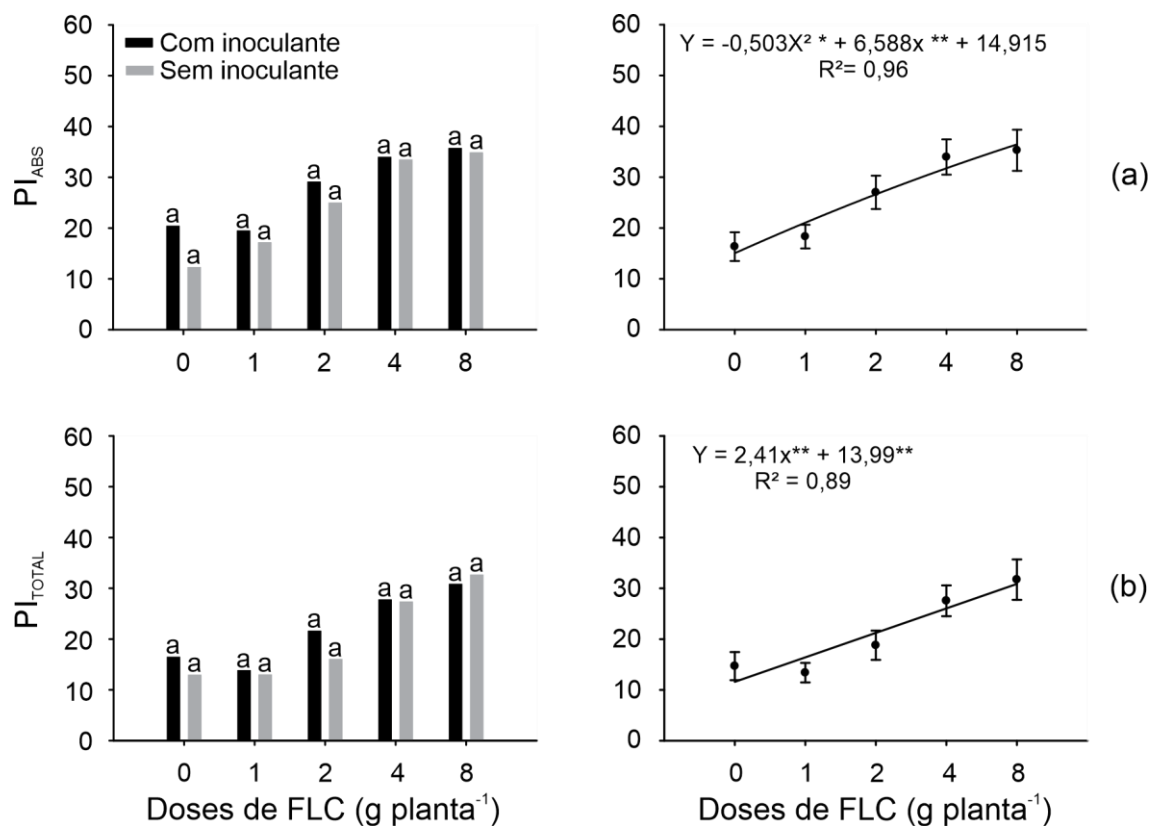


Figura 4. Índice de desempenho em base de absorção (PI_{ABS}) e para conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos aceptores finais do FSI (PI_{TOTAL}), em plantas de café conilon genótipo A1 em diferentes doses de FLC com presença ou ausência de inoculante. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O aumento nas doses de FLC resultou em uma elevação nos valores do índice de desempenho (PI_{ABS}) e PI_{TOTAL} independentemente da presença do inoculante (Figura 4 a-b).

3.3 Conteúdo mineral das mudas

Os teores minerais das mudas foram significativos para o fator dose (Tabela 2). Os nutrientes Fósforo (P) e Enxofre (S) apresentaram comportamento linear crescente em resposta ao incremento das doses de fertilizante de liberação controlada (FLC) (Tabela 2). No entanto, para Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Cobre (Cu), observou-se um comportamento quadrático. O ponto de máxima eficiência física para o Ca foi atingido em 5 g planta⁻¹ de FLC. Houve redução nos nutrientes Mg e Cu com ponto de mínimo de 6,59 e 5 g planta⁻¹ de FLC, respectivamente, com aumento das doses. A interação significativa entre doses de FLC e inoculante foi observada para os micronutrientes manganês (Mn) e boro (B). A inoculação promoveu maior teor de Manganês na dose máxima. Maior teor de B ocorreu na dose 0 g FLC na ausência de inoculante (apenas substrato).

Tabela 2. Análise foliar de mudas de *Coffea canephora* em função das diferentes doses de fertilizante de liberação controlada.

Nutrientes	Doses FLC (g)					Trat. Ad	Equação	R ²
	0	1	2	4	8			
P (g kg ⁻¹)	1,66*	1,71*	1,96*	2,10*	2,36*	1,42	y= 0,088 x ^{**} + 1,69 ^{**}	0,94
S (g kg ⁻¹)	1,46	1,51	1,64*	1,63	1,80*	1,47	y= 0,039 x ^{**} + 1,49 ^{**}	0,91
Ca (g kg ⁻¹)	8,04	8,87	9,31	9,30	9,12	8,37	y= - 0,055 x ^{2**} + 0,55 x ^{**} + 8,22	0,85
Mg (g kg ⁻¹)	3,70	3,31	3,16	2,88	2,75	3,37	y= 0,022 x ^{2**} - 0,29 x ^{**} + 3,65	0,98
Cu (mg kg ⁻¹)	7,96*	6,10	5,82	5,54	5,95	5,25	y= 0,099 x ^{2**} - 0,99 x ^{**} + 7,54	0,83
Mn (mg kg ⁻¹)								
Com inoculante	44,20 ^a	53,92 ^a	64,55 ^a	101,20 ^a	278,65 ^a	41,22	y= 3,62 x ^{2**} - 0,11 x + 47,33	0,99
Sem inoculante	44,42 ^a	49,67 ^a	66,47 ^a	115,15 ^a	224,10 ^b		y= 23,41 x ^{**} + 29,72 ^{**}	0,98
B (mg kg ⁻¹)								
Com inoculante	112,57 ^b	90,05 ^a	90,22 ^a	87,32 ^a	79,25 ^a	97,92	y= 0,68 x ^{2**} - 8,71 x ^{**} + 106,48	0,78
Sem inoculante	137,47 ^a	96,52 ^a	95,47 ^a	81,52 ^a	91,77 ^a		y= 2,15 x ^{2**} - 21,77 x ^{**} + 129,28	0,85

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste **Tukey a 5% de probabilidade de erro (p>0,05)** para os fatores com interação (Inoculante X doses). Médias seguidas por asterisco (*) diferem-se do tratamento adicional, ao nível de 5% de probabilidade (p≤0,05), pelo teste de **Dunnnett**.

3.4 Análise dos componentes principais (ACP)

Como mostra a Figura 5, os biplots derivados da ACP resumiram as correlações entre os tratamentos e características fisiológicas (teste JIP e conteúdo mineral). Os dois primeiros componentes principais explicaram 72,81% da variância total das características nos dez tratamentos. A CP1 explicou 47,97% da variação total e foi positivamente associada com características fotoquímicas PI_{ABS} , $RC.CS_M$, $Area$, PI_{TOTAL} , $SFi_{.abs}$, ϕE_0 , ϕP_0 , $F_v.F_0$, $ET_0.CS_M$, ϕR_0 , S_m e associação negativa com características não-fotoquímicas como D_{I0}/CS_M , V_i , F_0 , V_j , N , K , $F_0.F_m$ e ϕD_0 . Assim, PC1 tendeu a representar as características fotoquímicas.

O PC2 explicou 24,84% da variação total dos dados e foi positivamente associado ao conteúdo de Mg, B, Cu, Zn, $ABS.CS_M$, F_m e $TR_0.CS_M$ e negativamente correlacionado com o conteúdo de nitrogênio (Ni), Ca, Mn, P, S e Fe.

Os tratamentos que receberam 4 e 8 g de FLC com e sem inoculante (T7 a T10) foram separados dos demais com pontuação alta no PC1 e foram relacionados com os parâmetros fotoquímicos da fluorescência da clorofila *a*, como PI_{ABS} , PI_{TOTAL} , ϕP_0 e ϕE_0 . Por outro lado, os tratamentos com 0 g de FLC e a testemunha (T2 e TEST, respectivamente) foram relacionados com as características não-fotoquímicas da fluorescência da clorofila *a*, como V_j , ϕD_0 e F_0/F_m .

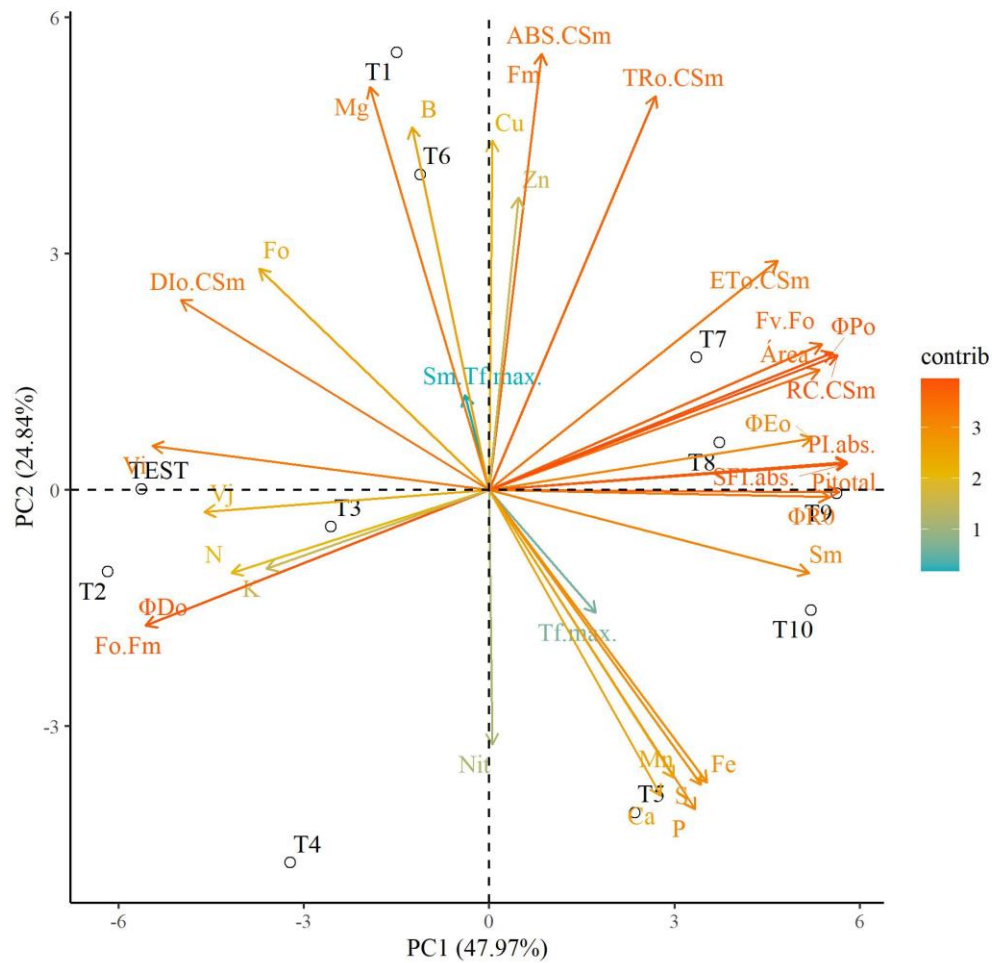


Figura 5. Gráfico da Análise de componentes Principais (PCA) considerando 21 fatores analisados com e sem inoculante em cinco doses de fertilizante de liberação controlada (FLC) e tratamento adicional (TEST). Fluorescência inicial (F0), fluorescência máxima (Fm), à eficiência quântica da dissipação de energia ($\phi D0$), à eficiência quântica máxima da fotoquímica primária ($\phi P0$), fluxo específico de absorção por centro de reação ativo (ABS/RC), ao fluxo específico de dissipação por centro de reação ativo (DIO/RC), ao fluxo específico de transporte de elétrons por centro de reação ativo (ET0/RC), Índice de desempenho em base de absorção (PI_{ABS}) e para conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos aceptores finais do FSI (PI_{TOTAL}),

4. DISCUSSÃO

4.1 Florescência da clorofila a

Neste estudo, investigou-se a interação de doses de fertilizante de liberação controlada (FLC) e uso de inoculante contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) no desenvolvimento inicial de mudas de café conilon. O comportamento polifásico típico OJIP observado, indica que todas as mudas estavam fotossinteticamente ativas em todos os tratamentos. Entretanto, a presença de FLC nas doses estudadas (2, 4 e 8 g planta⁻¹) e inoculante apresentaram melhores índices fisiológicos comparadas as não inoculadas. A normalização ΔV_{OP} permite visualizar, a fase O-J que se relaciona a redução de QA nos centros de reação do FSII, J-I redução do pool de plastoquinonas e I-P a última etapa da cadeia transportadora de elétrons, com redução da velocidade dos aceitadores finais no FSI (TÓTH et al., 2007; MARTINS et al., 2021). Neste contexto, mudas cultivadas nas doses 0 e 1 g de FLC apresentaram fase I-P positivas (Figura 1E-F), ocorrendo redução dos aceptores e aumento do fluxo de elétrons, a presença do inoculante foi eficiente para reorganizar o fluxo e reduzir a amplitude das curvas. Por outro lado, bandas L e K positivas podem ser indicativos para identificar perturbações fisiológicas antes de danos visuais nas plantas (OUKARROUM et al., 2009). Entre os tratamentos, apenas plantas (Figura 2-B) sem inoculante para dose zero, apresentaram banda K positiva, indicando distúrbios nas membranas dos tilacoides, reduzindo a ligação entres os RCs do fotossistema II (ROSA et al.,2018), e perda de integridade do complexo de evolução de oxigênio (CEO) (KALAJI et al., 2016). No entanto, para as doses 1, 2,4 e 8 g de FLC, foram observadas bandas negativas. Logo, banda K negativa, tem-se um maior fluxo de elétrons liberados pelo complexo de evolução de oxigênio (CEO) e a proteínas D1 dos centros de reação do FSII (ROSA et al.,2018). Já para banda L, todos os tratamentos apresentaram valores negativos independente das doses, entretanto, valores mais negativos foram observados nas doses 8 e 4 g de FLC (sem e com inoculante). Portanto, bandas L e K negativas indicam que o uso de FLC e inoculante proporcionaram melhor uso da energia de excitação com maior estabilidade ao sistema fotoquímico. O uso do inoculante, contribuiu principalmente nas menores doses, fazendo com que se aproximasse ou até mesmo se iguala-se as maiores doses aplicadas.

4.2 Teste JIP

O presente estudo representa o primeiro relato, até onde tem-se conhecimento, sobre o efeito do uso de inoculante com as cepas de *Azospirillum* brasiliense e *Pseudomonas fluorescens*, associadas a doses de fertilizante de liberação controlada (FLC), nos parâmetros fotoquímicos, apresentando diferenças ao teste JIP. Ambos os tratamentos apresentaram reduções na fluorescência inicial (F_0), quando os centros de reação estão abertos e QA é oxidado ao máximo (BAKER E ROSENQVIST 2004). As reduções de F_0 , demonstram uma melhoria no fluxo de elétrons no FSII (QA) para o acceptor secundário de elétrons (QB) (MARTINS et al., 2018), indicando que as mudas não estavam sob estresse biótico e abiótico.

A intensidade de fluorescência máxima (F_m) analisa a eficiência fotossintética das plantas, em que todos os centros de reação estão fechados (KALAJI et al., 2016). Para mudas com e sem inoculante ocorreram reduções nas doses 2 g de FLC (com inoculante), 1 e 8 g de FLC (sem inoculante), sugerindo um impacto negativo na eficiência fotossintética para estes tratamentos. Os valores de V_j e V_i indicam o funcionamento dos fluxos de elétrons entre as quinonas (QA e QB) no lado receptor do FSII (SANTOS et al. 2020; MARTINS et al. 2021). Aumentos em V_j indicam a redução da capacidade de reoxidar a plastoquinona (SHAMSHIRI & FATTAHI 2016), e neste estudo, pode-se observar uma reoxidação lenta de QA e QB para as mudas submetidas as menores doses (0 e 1 g de FLC). O parâmetro Area tem seu tamanho proporcional ao pool dos aceptores de elétrons no lado redutor do FSII, se o fluxo de elétrons do centro de reação para o pool de plastoquinona for interrompido, a Area é reduzida (MEHTA et al. 2010). Neste estudo, a Area aumentou para as maiores doses de FLC. Quando associamos os índices F_v/F_0 , ϕP_0 e ϕE_0 é possível analisar as condições do sistema de transporte de elétrons, eficiência, conversão e transporte de energia entre os fotossistemas (STRASSER et al. 2004; GUO et al. 2020). Assim, maiores doses de FLC com inoculante promoveram aumentos nos valores ϕP_0 , F_v/F_0 e ϕE_0 , em contrapartida em mudas sem inoculante, observou-se redução em ϕE_0 evidenciando uma menor eficiência fotossintética. Pois, seus valores representam o rendimento quântico do transporte de elétrons (MATHUR et al. 2016). Aumentos também foram encontrados para ABS/CS_M , TR_0/CS_M e ET_0/CS_M sem incremento para DIO/CS_M

e ϕD_0 indicando aparato fotossintético ativo e eficiente para mudas inoculadas, observando valores mais baixos sem inoculante. Além disso, apresentaram valores mais alto para índices de desempenho PI_{TOTAL} e PI_{ABS} confirmando o desempenho do aparato fotossintético das plantas (KALAJI et al., 2016), sendo parâmetros sensíveis ao teste JIP.

4.3 Conteúdo mineral foliar

Para os nutrientes nitrogênio (N), potássio (K), zinco (Zn) e ferro (Fe), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. No entanto, os teores médios dos macronutrientes encontrados foram 27,79 e 25,44 g kg⁻¹, e dos micronutrientes 26,57 e 114,87 mg kg⁻¹, respectivamente. Os resultados observados por Gonçalves et al. (2009) em estudo com mudas de *Coffea arabica* L. produzidas em tubetes indicam teores adequados de nitrogênio e potássio dentro da faixa de 22,6 a 26,2 g kg⁻¹ para N e 25,9 a 29,2 g kg⁻¹ em K.

No presente estudo, os teores de nitrogênio encontram-se acima da faixa proposta, enquanto os valores para potássio se aproximam dessa faixa. Entretanto, em lavouras de *Coffea canephora* de alta produtividade sob cultivo convencional, foram determinados valores adequados para N de 26,4 e 18,5 g kg⁻¹ para K e micronutrientes Zn 10,9 e 106 mg kg⁻¹ para Fe (PARTELLI et al., 2006), estando todos os valores neste estudo superiores.

Os nutrientes que apresentaram diferenças significativas (Tabela 2) foram comparados aos valores encontrados por Prezotti et al. (2007) e Partelli et al. (2006) (Tabela 3). O teor médio de fósforo (P) encontra-se acima em todas as doses em ambos os autores. Para magnésio (Mg), foram observados valores acima do proposto por Partelli et al. (2006) na dose zero, entretanto, nas doses 1 e 2 g de FLC e no tratamento adicional, estão dentro da faixa proposta por Prezotti et al. (2007). O teor médio de enxofre (S) encontra-se dentro do proposto por Partelli et al. (2006) apenas na dose máxima, enquanto nas doses 0, 1 e 2 g de FLC dentro do proposto por Prezotti et al. (2007). Para cálcio (Ca) e cobre (Cu), os valores estão abaixo do recomendado em ambos os trabalhos.

O teor de manganês (Mn) encontra-se dentro da faixa proposta por Prezotti et al. (2007) nas doses 1, 2 e 4 g de FLC com inoculante e sem apenas 2 e 4 g de FLC e nenhum teor dentro do proposto por Partelli et al. (2006). A interação significativa observada para a dose máxima e o uso de inoculante não está dentro das faixas recomendadas para a cultura.

Para boro (B), todas as doses e o tratamento adicional encontram-se dentro da faixa proposta por Prezotti et al. (2007) com e sem inoculante, no entanto, acima do encontrado por Partelli et al. (2006).

Tabela 3. Diagnóstico nutricional para *Coffea canephora* em **lavoura de alta produtividade proposto por Partelli et al. (2006)** e recomendação do manual de calagem e adubação para o estado do Espírito Santo, segundo Prezotti et al. (2007).

Nutrientes	PARTELLI et al.,2006	PREZOTTI et al., 2007
P (g kg ⁻¹)	1,4	1,2 - 1,6
S (g kg ⁻¹)	1,8	1,5 - 2,0
Ca (g kg ⁻¹)	11,6	10 – 13
Mg (g kg ⁻¹)	3,6	3,1 - 4,5
Cu (mg kg ⁻¹)	12,0	8,0 – 16
Mn (mg kg ⁻¹)	85,0	50 – 200
B (mg kg ⁻¹)	62,4	70 – 180

Cada um dos nutrientes contribui para as reações bioquímicas, separadas em três categorias: aos que fazem parte de compostos de carbono (N e S), os importantes para o armazenamento de energia ou na integridade estrutural (P, B e Si), os que permanecem na forma iônica (Ca, K, Mg, Cl, Zn e Na) e envolvidos em reações redox (Fe, Mn, Cu, Ni e Mo) (TAIZ & ZEIGER, 2017).

Considerando-se a carência de informações referentes à nutrição mineral em mudas de *Coffea canephora*, é importante ressaltar a influência das diferentes espécies, genótipos, época de coleta, idade, órgãos e tecidos da planta (PREZOTTI & BRAGANÇA 2013). Além disso, a concentração de um nutriente no tecido vegetal depende do balanço entre a absorção e diluição ao longo do seu crescimento, podendo está em níveis de deficiência, adequado e tóxico (TAIZ & ZEIGER, 2017).

Assim, a sequência de acumulação dos macronutrientes encontrados neste estudo para o genótipo A1, seguiu a seguinte ordem N > K > Ca > Mg > P > S e para os micronutrientes Fe > Mn > B > Zn > Cu.

4.4 Análise dos componentes principais (ACP)

A análise permitiu a visualização da formação de três grupos (fotoquímicas, não-fotoquímicas e nutricionais), influenciados pelas doses e inoculante, em um mesmo genótipo, mas sob diferentes condições de nutrição (Figura 5). As variáveis que mais influenciaram o grupo fotoquímico foram RC/CS_M , ϕP_0 , Area, F_V/F_0 e PI_{TOTAL} . Conforme mostrado anteriormente, essas variáveis indicam o comportamento normal de plantas não submetidas a estresse e com eficiência fotossintética. A formação do grupo não-fotoquímico foi mais influenciada por ϕD_0 e F_0/F_m , sugerindo danos ou condições que afetaram negativamente o aparato fotossintético.

O grupo nutricional foi influenciado pelo nutriente magnésio (Mg), envolvido em inúmeros processos fisiológicos e bioquímicos, incluindo a fotossíntese, sendo o segundo nutriente mais abundantes nas plantas (CHEN et al., 2018).

A análise confirmou que os parâmetros fotossintéticos estão significativamente correlacionados com as maiores doses de FLC.

5. CONCLUSÕES

De modo geral, os parâmetros OJIP e JIP foram positivamente influenciados pelo uso de inoculante e maiores doses de Fertilizante de Liberação Controlada melhorando o desempenho fotoquímico e os índices de desempenho das mudas em comparação as não inoculadas.

A sequência de acumulação encontrados neste estudo para o genótipo A1, seguiu a seguinte ordem $N > K > Ca > Mg > P > S > Fe > Mn > B > Zn > Cu$.

As variáveis que contribuíram positivamente para o grupo fotoquímico foram RC/CS_M , ϕP_0 , Area, F_v/F_o e PI_{TOTAL} .

6. REFERÊNCIAS

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GOLÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brasil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2014.

AZEVEDO, A. M. **Package 'Tratamentos.ad'**.2022

CHANNAB, B. E.; EL IDRISSE, A.; ZAHOUILY, M.; ESSAMLALI, Y.; WHITE, J. C. Starch-based controlled release fertilizers: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 124075, 2023.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Café**. V. 11, N. 1. Primeiro Levantamento, janeiro. 2024. Disponível em:<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe>. Acesso em: 12 fev. 2024.

CHEN, Z. C.; PENG, W. T.; LI, J.; LIAO, H. Functional dissection and transport mechanism of magnesium in plants. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, 2018. p. 142-152,2018.

DUAN, Q.; JIANG, S.; CHEN, F.; LI, Z.; MA, L.; SONG, Y.; YU, X.; CHEN, Y.; LI, H.; YU, L. Fabrication, evaluation methodologies and models of slow-release fertilizers: a review. **Industrial Crops and Products**, v. 192, p. 116075, 2023.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. **USDA. gov - United States Department of Agriculture**. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/coffee.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2024.

FERRARO, A. C.; FRANÇA, A. C.; MACHADO, C. M. M.; AGUIAR, F. R.; OLIVEIRA, L. L.; BRAGA, N. A. M.; OLIVEIRA, R. G. Commercial characteristics of coffee seedlings produced with different sources of phosphorus and plant growth-promoting bacteria. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e270262, 2023.

GUO, Y.; ZHANG, Y.; LU, Y.; SHI, J.; CHEN, S.; STRASSER, R.J.; QIANG, S.; HU, Z. Effect of AtLFNR1 deficiency on chlorophyll a fluorescence rise kinetics OJIP of Arabidopsis. **Photosynthetica**, v. 58, 2020.

KALAJI, H. M.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M.D.; ŁUKASIK, I.; GOLTSEV, V.; LADLE, R. J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, p. 1-11, 2016.

MARTINS, J. P. R.; CONDE, L. T.; FALQUETO, A. R.; GONTIJO, A. B. P. L. Selenium biofortified *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) can resist lead-

induced toxicity during in vitro culture. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, n. 11, p. 149, 2021.

MARTINS, J. P. R.; RODRIGUES, L. C. A.; SANTOS, E. R.; BATISTA, B. G.; GONTIJO, A. B. P. L.; FALQUETO, A. R. Anatomy and photosystem II activity of in vitro grown *Aechmea blanchetiana* as affected by 1-naphthaleneacetic acid. **Biologia plantarum**, v. 62, p. 211-221, 2018.

MATHUR, S.; KALAJI, H. M.; JAJOO, A. Investigation of deleterious effects of chromium phytotoxicity and photosynthesis in wheat plant. **Photosynthetica**, v. 54, n. 2, p. 185-192, 2016.

MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 16-20, 2010.

OUKARROUM, A.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n. 2, p. 188-199, 2009.

PREZOTTI, L.C.; GOMES, J.A.; DADALTO, G.G.; OLIVEIRA, J.A. de. Manual de Recomendação de Calagem e Adubação para o Estado do Espírito Santo. 5ª aproximação. Vitória, ES, SEEA/INCAPER/CEDAGRO, 2007. 305p.

PREZOTTI, L. C.; BRAGANÇA, S.M. Acúmulo de massa seca, N, P e K em diferentes materiais genéticos de café Conilon. **Coffee Science**, v. 8, n. 3, p. 284-294, 2013.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; MONNERAT, P. H.; VIANA, A. P. Estabelecimento de normas DRIS em cafeeiro conilon orgânico ou convencional no Estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 443-451, 2006.

ROSA, W. S.; MARTINS, J. P. R.; RODRIGUES, E. S.; ALMEIDA, R. L. C.; GONTIJO, A. B. P. L.; FALQUETO, A. R. Photosynthetic apparatus performance in function of the cytokinins used during the in vitro multiplication of *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 133, p. 339-350, 2018.

SHAMSHIRI, M. H.; FATTAHI, M. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosystem II activity of three pistachio rootstocks under salt stress as probed by the OJIP-test. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 63, p. 101-110, 2016.

SOUZA, R. D.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and molecular biology**, v. 38, p. 401-419, 2015.

SANTOS, E. R.; MARTINS, J. P. R.; RODRIGUES, L. C. D. A.; GONTIJO, A. B. P. L.; FALQUETO, A. R. Morphophysiological responses of *Billbergia zebrina* Lindl.(Bromeliaceae) in function of types and concentrations of carbohydrates

during conventional in vitro culture. **Ornamental Horticulture**, v. 26, p. 18-34, 2020.

SCHMIDT, R.; SILVA, C.A.D.; DUBBERSTEIN, D.; DIAS, J.R.M.; VIEIRA, H.D.; PARTELLI, F.L. Genetic Diversity Based on Nutrient Concentrations in Different Organs of Robusta Coffee. **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 640, 2022.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Dordrecht: **Springer Netherlands**, p. 321-362, 2004.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; DANGRE, D.; RAI, M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with Piriformospora indica, In: VARMA A.; OELMÜLER, R. (Eds.), **Advanced Techniques in Soil Microbiology, Soil Biology**. Berlin Heidelberg, p. 319-341, 2007.

TÓTH, S. Z.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. A non-invasive assay of the plastoquinone pool redox state based on the OJIP-transient. **Photosynthesis research**, v. 93, p. 193-203, 2007.

TEAM, R. Core. R: A language and environment for statistical computing (Version 4.1. 0). R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 6ª edição. São Paulo, 2017.

VEJAN, P.; KHADIRAN, T.; ABDULLAH, R.; AHMAD, N. Controlled release fertilizer. A review on developments, applications and potential in agriculture. **Journal of Controlled Release**, v. 339, p. 321-334, 2021.

WANG, X.; YANG, Y.; ZHONG, S.; MENG, Q.; LI, Y.; WANG, J.; GAO, Y.; CUI, X. Advances in controlled-release fertilizer encapsulated by organic-inorganic composite membranes. **Particuology**, v. 84, p. 236-248, 2024.

ANEXO 1



Figura 1. Seleção e desinfecção dos tubetes (A-B); adubações dos tratamentos (C-D) (Fotos: Thais Santana do Nascimento).

ANEXO 2



Figura 2. Tratamento fitossanitário (Figura A); plantio das estacas (Figura B-D); aplicação de inoculante com bactérias promotoras de crescimento (Figura D).

ANEXO 3

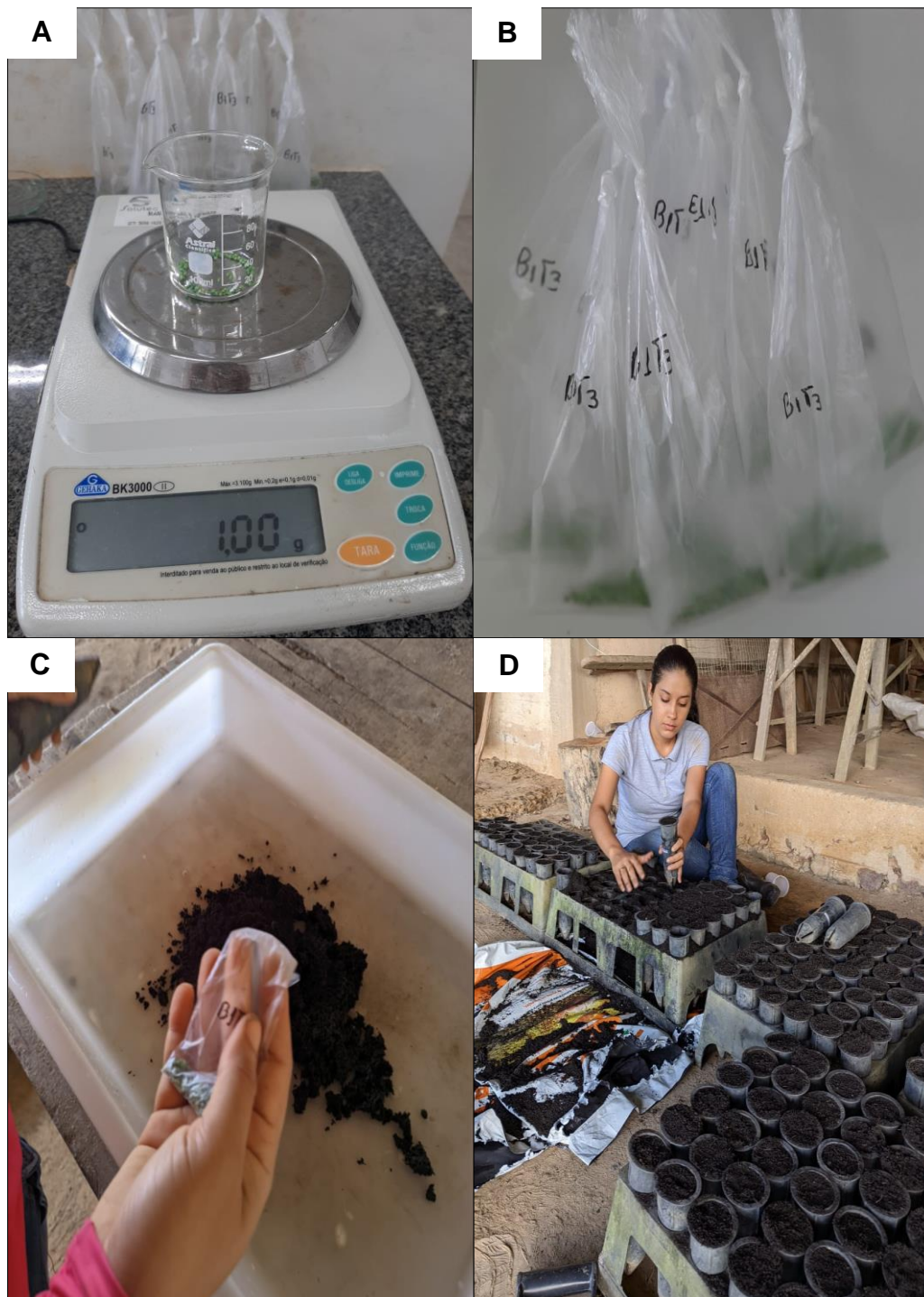


Figura 3. Aferição das doses de FLC (A-B); aplicação nos tratamentos (C-D) (Fotos: Thais Santana do Nascimento).

ANEXO 4



Figura 4. Avaliações biométricas e fisiológicas – diâmetro (A); altura de planta (B); Fluorescência da clorofila a (C-D).

ANEXO 5



Figura 5. Transporte das mudas para a fazenda experimental da UFES; teor de clorofila

ANEXO 6



Figura 6. Limpeza e retirada das mudas dos tubetes (A-B); separação dos ramos ortotrópicos, as raízes e folhas (C-D)

ANEXO 7

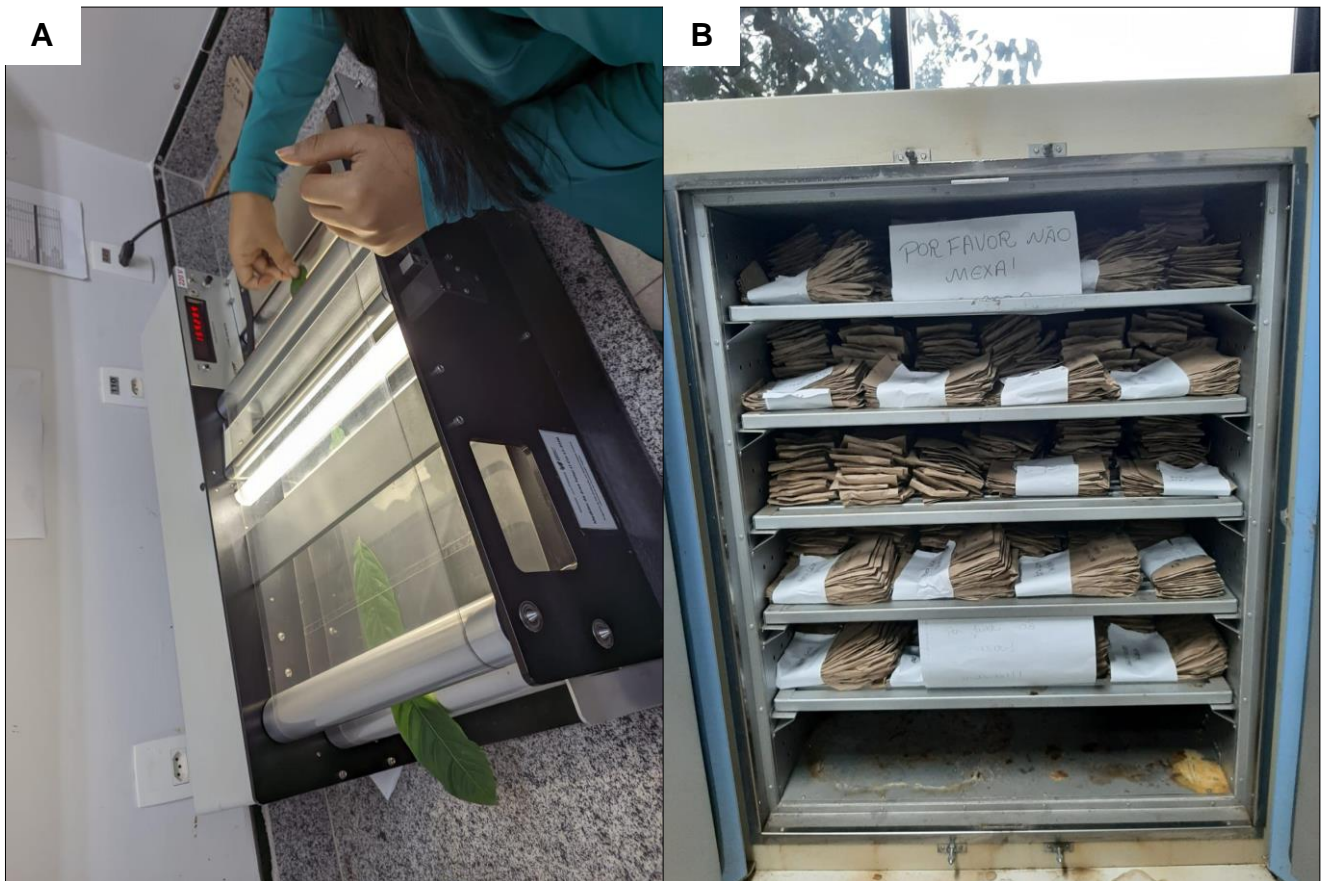


Figura 7. Área foliar (A); secagem em estufa de circulação forçada a 62°C com folhas, ramos e raízes para obtenção de massa seca (B).