

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Potencial micotrófico de variedades de oliveira (*Olea europaea* L.) no Brasil

Fabício Rezende Salomão

Itajubá (MG)
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Fabício Rezende Salomão

Potencial micotrófico de variedades de oliveira (*Olea europaea* L.) no Brasil

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de Concentração: Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Orientador: Prof. Dr. Rogério Melloni

Itajubá (MG)

2019



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
Criada pela Lei nº 10.435, de 24 de abril de 2002

ANEXO I
FOLHA DE JULGAMENTO DA COMISSÃO EXAMINADORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Título da Dissertação: "Potencial Micotrófico de Variedades de Oliveira no Brasil"

Autor: Fabrício Rezende Salomão

JULGAMENTO

Examinadores(as)	Conceito		Rubrica
	A = Aprovado	R = Reprovado	
1º	A		
2º	A		
3º	A		

Observações:

- (1) O trabalho será considerado Aprovado se todos os Examinadores atribuírem conceito A.
- (2) O trabalho será considerado Reprovado se for atribuído pelos menos 1 conceito R.
- (3) O trabalho será considerado Insuficiente (I) se for atribuído pelo menos um conceito R. Neste caso o candidato deverá apresentar novo trabalho. A banca deve definir como avaliar a nova versão da dissertação.

Resultado Final: A. Conceito: A, ou seja, Aprovado.

Observações: _____

Este documento terá a validade de 30 (trinta) dias a contar da data da defesa da dissertação.

Itajubá, 15 de março de 2019.

Prof. Dr. Gustavo Magno dos Reis Ferreira
1º Examinador – UFLA

Prof. Dr. Hisaias de Souza Almeida
2º Examinador – UNIFEI

Prof. Dr. Rogério Melloni
3º Examinador (Orientador) – UNIFEI

“O murmúrio de um bosque de oliveiras tem algo íntimo, intensamente velho e belo demais para que possa conceber e ousar pintar.”

Van Gogh

“As folhas mais verdes serão dadas ao homem que vencer suas dificuldades, e que este homem seja do bem e que sua saúde seja tão longa quanto à própria árvore da vida, a oliveira...”

Ditado iídiche

*“Há pessoas que nos falam e nem as escutamos;
Há pessoas que ferem e nem cicatrizes deixam.
Mas há pessoas que, simplesmente, aparecem em nossa vida
E que marcam para sempre....”*

Cecília Meireles

*Ao meu pai Dirley Salomão (in memoriam) por me proporcionar
uma rica e doce infância.*

*Ao funcionário da Unifei/Cequam Willians (in memoriam) pelo
apoio e incentivo ao longo do mestrado.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela dádiva da vida, autor do meu destino e meu guia.

À minha amada esposa, Andreia Arantes Borges, por estar comigo desde o início dos meus estudos no curso superior em Minas Gerais. Foram bons os momentos em que passamos enquanto discentes da Universidade Federal de Viçosa, desde a oportunidade de carregar a sua bandeja no restaurante universitário, tomar um sorvete na praça da igreja e esconder o refrigerante de 2 litros embaixo da mesa no restaurante Chicken.in para que ninguém visse a pindaíba que passávamos, porém o frango a passarinho valia a pena. Por me ajudar nos estudos durante a época da Universidade Federal de Lavras, fase difícil por ficarmos separados fisicamente, porém juntos em pensamento. Foi nesta cidade em que lhe pedi em casamento.... e você aceitou! Por todo apoio e incentivo que me deu ao longo destes últimos dois anos na Universidade Federal de Itajubá e, como algo especial para celebrar mais esta etapa, veio o nosso filho.

Ao meu filho amado, Oliver Arantes Salomão, que me desperta a cada instante que o amor não tem limites e é incondicional. A família está crescendo e o sentimento de união é cada vez mais forte. Agradeço a Deus mais uma vez por essa incrível oportunidade. Que o amor que eu sinto pelo meu pai seja tão grande o quanto ao que você sente por mim.

Ao meus pais, Dirley Salomão e Maria de Lourdes Rezende, por todo carinho e amor que me deram ao longo da vida. Mãe querida, jamais vou esquecer o esforço que você fez ao longo dos anos para que eu recebesse as melhores oportunidades, do carinho e amor que sempre me deu. Cruzamos o país juntos, indo de Brasília a Pernambuco, Amazonas e Minas Gerais. Agradeço ao melhor pai do mundo pela rica infância que tive, a mais bela que uma criança poderia ter. Pelo amor ao Flamengo que me você me transmitiu e por me ensinar que as pessoas gostam de ser ouvidas.

As minhas irmãs, Cristiane e Tatiane Rezende Salomão, por sempre me tratarem bem durante a infância... não... algumas vezes exageravam nas brincadeiras, principalmente quando brincavam de cortar o meu cabelo e apanhavam quando o nosso pai chegava do serviço. Irmãs diferentes e únicas. Amo vocês!

Ao meu padrasto, Jair Gonçalves, por me apoiar, ouvir e incentivar ao longo destes 18 anos. Me despertou para as causas sociais, principalmente para a desigualdade que assola o nosso país.

Ao meu orientador e amigo, prof. Dr. Rogério Melloni, que, em uma conversa de bastidores, me incentivou a entrar para o programa de pós-graduação da Unifei. Hoje sou muito feliz pela escolha que fiz e por você ter me proporcionado esta oportunidade. Didática impecável durante as disciplinas. Obrigado por me ensinar mais sobre os direitos dos animais e as questões sociais. Juntos somos mais fortes!

A todos os professores do Programa de Pós-graduação que participaram da minha formação ao longo destes dois anos.

Aos professores Dr. Gustavo Magno dos Reis Ferreira e Dr. Hisaias de Souza Almeida, por aceitarem o convite em participar da banca de avaliação.

Aos técnicos, Haroldo Felipe da Costa, Paulo Sérgio Marques e Willians César da Silva, por todo auxílio e disposição com que tiveram para o desenvolvimento do projeto de pesquisa e as conversas jogadas fora nos intervalos.

Aos estudantes de mestrado, Luiz Gustavo, Mariana, Polianna, Samara, Takeo e Thais Gabriela. Aos funcionários do Cequam, pelo enorme carinho com que sempre me receberam e apoiaram, em especial à funcionária Adriana.

À Epamig, por ceder a área experimental em sua fazenda localizada no município de Maria da Fé e ao Dr. Luiz Fernando de Oliveira da Silva pela cooperação técnica e disposição durante o desenvolvimento da pesquisa.

À Esalq, por meio da Dr^a. Elke Jurandy Bran Cardoso, e à técnica Denise de Lourdes Colombo Mescolotti, por possibilitarem a realização de parte deste trabalho no Laboratório de Microbiologia de Solo.

À Unifei e ao Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos (MEMARH), pela infraestrutura e oportunidade de aprendizado, desenvolvimento pessoal e profissional.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa de estudo, possibilitando a execução deste trabalho.

De forma geral, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

A olivicultura tem apresentado posição de destaque no cenário econômico mundial, devido ao fato da azeitona e azeite de oliva fazerem parte da dieta alimentar de muitos países, inclusive o Brasil. A obtenção de um olival que apresente uma produtividade rentável está diretamente relacionada à sua formação, sendo importante que as práticas agrícolas sejam realizadas corretamente, atentando-se para o uso racional de corretivos e fertilizantes, bem como a utilização de outras técnicas de manejo que possibilitem o máximo desenvolvimento da planta. Estudos relacionados à ordem biológica na relação solo-planta vêm ganhando destaque na produção agrícola, principalmente quanto ao uso de microrganismos, como fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os efeitos benéficos dos FMAs têm sido demonstrados tanto na formação de mudas como no estabelecimento em campo de vários cultivos. Apesar das pesquisas internacionais explorarem o potencial positivo dos FMAs na olivicultura, verifica-se uma grande escassez de trabalhos realizados no Brasil. De forma a ampliar os estudos realizados com as oliveiras brasileiras, o presente trabalho visou avaliar a formação micorrízica de diferentes variedades de oliveira (*Olea europaea* L.) presentes no banco de germoplasma da Fazenda Experimental de Maria da Fé – EPAMIG, bem como a sua capacidade de produção de propágulos. Para isso 17 variedades de oliveira foram selecionadas para avaliação do potencial micotrófico, onde foram também quantificados os propágulos de FMAs presentes na rizosfera, como micélio extrarradicular e esporos, em condições de campo. Houve resposta diferenciada das variedades de oliveira para a formação de micorriza e propágulos, com correlação significativa e positiva entre ambas. A intensidade de colonização radicular variou de 0,43% a 3,63%, sendo a variedade Ascolano USA aquela que apresentou maior intensidade de colonização por FMAs, em contraposição à variedade Tafahi, que apresentou o menor valor. A densidade de esporos variou de 13,6 a 80,3 esporos/50 g da amostra de solo, pertencendo aos gêneros *Glomus*, *Acaulospora* e *Gigaspora*. As espécies *Glomus ambisporum* e *Acaulospora scrobiculata* foram encontradas nos solos rizosféricos de todas as variedades analisadas. A variedade Ascolano 315 apresentou o maior potencial micotrófico, em virtude da maior intensidade de colonização radicular (3,63%) e comprimento do micélio extrarradicular total (5,51 mg⁻¹ de solo seco).

Palavras-chave: Biotecnologia. Micorriza. Inoculantes. Micélio. Olivicultura.

ABSTRACT

Olive crop have been prominent in the world economic scenario, due to the fact that olive and olive oil are part of the diet of many countries, including Brazil. Obtaining an olive grove that presents a profitable productivity is directly related to its formation, being important that the agricultural practices are carried out correctly, paying attention to the rational use of correctives and fertilizers, as well as the use of other management techniques that allow the maximum development of the plant. Studies related to the biological order in the soil-plant relationship have been gaining prominence in agricultural production, mainly regarding the use of microorganisms, such as arbuscular mycorrhizal fungi (FMAs). The beneficial effects of AMFs have been demonstrated both in seedling formation and in field establishment of various crops. Although the international researches explore the positive potential of the FMAs in olive cultivation, there is a great shortage of work done in Brazil. In order to expand the studies carried out with Brazilian olive trees, the present work aimed to evaluate the mycorrhizal formation of different olive varieties (*Olea europaea* L.) present in the germplasm bank of the Experimental Farm of Maria da Fé - Epamig, as well as their production capacity of propagules. In order to do this, 17 olive varieties were selected for evaluation of the myotrophic potential, in which the propagules of FMAs present in the rhizosphere, such as extraradicular mycelium and spores, were also quantified under field conditions. There was a differentiated response of the olive varieties for the formation of mycorrhiza and propagules, with a significant and positive correlation between both. The intensity of root colonization ranged from 0.43% to 3.63%, and the Ascolano USA variety showed the highest intensity of colonization by FMAs, as opposed to the Tafahi variety, which presented the lowest value. The spore density varied from 13.6 to 80.3 spores/50 g of the soil sample, belonging to the genera *Glomus*, *Acaulospora* and *Gigaspora*. The species *Glomus ambisporum* and *Acaulospora scrobiculata* were found in the rhizosphere soils of all varieties analyzed. Ascolano 315 showed the highest myotrophic potential, with the highest intensity of root colonization (3.63%) and length of the total extraradicular mycelium (5.51 m g⁻¹ dry soil).

Keywords: Biotechnology. Mycorrhiza. Inoculants. Mycelium. Olive crop.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Banco de germoplasma de oliveiras - Epamig Maria da Fé	13
Figura 2-	Mapa georreferenciado do banco de germoplasma da Fazenda Experimental de Maria da Fé - FEMF	13
Figura 3-	Distribuição espacial das variedades de oliveira selecionadas no banco de germoplasma da FEMF	14
Figura 4-	Seleção e demarcação das oliveiras	14
Figura 5-	Coleta de solo rizosférico das variedades selecionadas	15
Figura 6-	Coleta e armazenamento de raízes das oliveiras selecionadas no banco de germoplasma da FEMF	15
Figura 7-	Preparo das amostras de solo rizosférico	16
Figura 8-	Preparo das amostras de raízes	16
Figura 9-	Procedimentos empregados para análise da umidade das amostras de solo rizosférico	17
Figura 10-	Climograma do município Maria da Fé – MG.....	18
Figura 11-	Procedimentos iniciais para análise da intensidade de colonização radicular	19
Figura 12-	Etapas de clareamento das raízes para análise da intensidade de colonização radicular	20
Figura 13-	Etapas de coloração das raízes para análise da intensidade de colonização radicular	21
Figura 14-	Procedimentos finais para análise da intensidade de colonização radicular	22
Figura 15-	Padrão de atribuição das notas referentes a intensidade de colonização radicular por FMAs	22
Figura 16-	Procedimentos iniciais para a extração do micélio extrarradicular total dos FMAs	23
Figura 17-	Etapas de filtração da membrana de triacetado de celulose para extração do micélio extrarradicular total dos FMAs	24
Figura 18-	Procedimentos finais para extração do micélio extrarradicular total dos FMAs	25
Figura 19-	Coleta e armazenamento das amostras de solo rizosférico	26
Figura 20-	Umidade presente nas amostras das variedades de oliveira	28
Figura 21-	Intensidade de colonização radicular por FMAs (%) em amostras de raízes de diferentes variedades de oliveira na FEMF-Epamig	32
Figura 22-	Densidade de esporos (número por 50g de solo) obtidos na rizosfera das diferentes variedades de oliveira	34

Figura 23-	Esporos de fungos micorrízicos arbusculares isolados da rizosfera das variedades de oliveira analisadas	37
Figura 24-	Densidade de esporos por espécies de FMAs obtidos da rizosfera das diferentes variedades de oliveira	39
Figura 25-	Índice de diversidade de Shannon-Weaver (H'), calculado em função das espécies de FMAs obtidas da rizosfera das diferentes variedades de oliveira	42
Figura 26-	Valores médios do comprimento do micélio extrarradicular total em amostras de solo rizosférico de diferentes variedades de oliveira do banco de germoplasma da FEMF - Epamig	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultados e interpretação dos atributos químicos e físicos do solo.....30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Características morfológicas dos esporos identificados35

Quadro 2- Matriz de correlação de Pearson para as variedades de oliveiras.....46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Epamig - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

Esalq - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

FEMF - Fazenda Experimental de Maria da Fé

FMA_s - Fungos Micorrízicos Arbusculares

MET - Micélio Extrarradicular Total

Unifei - Universidade Federal de Itajubá

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.2 A olivicultura no Brasil e no mundo.....	4
3.2 Associação micorrízica arbuscular.....	6
3.3 Os fungos micorrízicos arbusculares e a cultura da oliveira.....	8
3.4 Fatores interferentes na formação de micorriza.....	10
4 MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1 Caracterização da área de estudo.....	12
4.2 Seleção das variedades e coleta das amostras de solo rizosférico.....	14
4.3 Preparo das amostras de solo rizosférico e raízes.....	16
4.4 Análise da umidade das amostras de solo rizosférico.....	16
4.5 Intensidade de colonização radicular por FMAs.....	18
4.6 Extração do micélio extrarradicular total.....	23
4.7 Densidade e diversidade de morfotipos de FMAs.....	25
4.8 Coleta e análises química e física do solo rizosférico.....	25
4.9 Análises estatísticas.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Umidade das amostras.....	28
5.2 Análise química e física do solo rizosférico.....	29
5.3 Intensidade de colonização radicular.....	32
5.4 Densidade e diversidade de esporos.....	34
5.5 Micélio extrarradicular total.....	42
5.6 Análise de correlação entre as variáveis.....	44
6. CONCLUSÕES	47
7. REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

A olivicultura vem ganhando cada vez mais espaço nos campos agrícolas do Brasil, principalmente em regiões que abrangem as condições climáticas necessárias ao seu desenvolvimento. A formação comercial dos olivais teve início na década passada, sendo a primeira extração de azeite de oliva realizada no ano de 2008, na Fazenda Experimental de Maria da Fé - FEMF, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Epamig. Os primeiros 40 litros de azeite extraídos naquele ano agora ultrapassam a estimativa de 80 mil litros produzidos em todo o território nacional (EPAMIG, 2018).

Contudo, a produção de azeite no Brasil representa apenas 0,13% do total de importações estimadas para o período de 2017 e 2018 (IOC, 2019) e a destinação de azeitonas para conserva é considerada artesanal e incipiente, não havendo dados sobre a sua comercialização. A maior parte dos azeites importados é proveniente da Europa e países sul-americanos como Argentina e Chile, que complementam o mercado nacional.

É notório afirmar que a produção brasileira está longe de alcançar a autossuficiência e ainda esbarra em fatores limitantes devido a sua recente introdução no país. As principais dificuldades encontradas pelos produtores têm sido alcançar valores comerciais de produção de azeitonas, diminuição da sazonalidade entre safras, limitação do zoneamento climático e a busca por variedades mais adaptadas ao clima brasileiro.

As pesquisas brasileiras têm desempenhado papel importante para a mitigação destes fatores negativos, principalmente quanto à adaptação de variedades mais produtivas. Por ser uma planta proveniente do Mediterrâneo, esta espécie encontra-se em processo ativo de adaptação, onde técnicas de manejo têm sido aplicadas para acelerar este processo. Pesquisas específicas têm sido direcionadas à avaliação de fatores de ordem biológica e podem reduzir os efeitos negativos provocados pelo processo adaptativo. Uma das linhas de pesquisa que pode contribuir para o melhor desenvolvimento da oliveira no Brasil são os estudos relacionados aos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

Os FMAs possuem reconhecida habilidade em estimular o crescimento das plantas. A sua ação favorece melhorias na absorção de nutrientes no solo, maior estabilização dos agregados na rizosfera e mitigação dos efeitos provocados por

estresses bióticos e abióticos, como por exemplo a redução do estresse hídrico e ataque de patógenos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A utilização de FMAs propicia melhor resposta em espécies vegetais mais micotróficas e esta condição pode variar em função de variedades da mesma espécie. Logo, são de extrema importância estudos que relacionem as comunidades de FMAs, naturalmente presentes em solos de cultivo, às variedades de oliveiras atualmente com potencial de utilização no Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a formação micorrízica de variedades de oliveira (*Olea europaea* L.) presentes no banco de germoplasma da Fazenda Experimental de Maria da Fé - Epamig, bem como a sua capacidade na produção de propágulos.

2.2 Objetivos específicos

Quantificar os propágulos de FMAs na rizosfera de variedades de oliveira como esporos e micélio extrarradicular, em condições naturais de campo;

- Relacionar a formação de micorriza com a produção de propágulos de FMAs;
- Relacionar os atributos químicos e físicos do solo com a colonização das variedades pelos FMAs;
- Indicar as variedades com maior potencial de utilização em estudos posteriores relacionados à inoculação de oliveira com FMAs no Brasil.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A olivicultura no Brasil e no mundo

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore dicotiledônea que faz parte da família *Oleaceae*, que compreende cerca de 35 espécies, sendo a única espécie desta família a produzir frutos comerciais (EMBRAPA, 2009). Trata-se de uma frutífera de clima temperado cujas plantas são perenes e lenhosas. Apresenta porte médio, de 4 a 8 metros de altura, com tronco contorcido, casca grossa e ramos relativamente delgados. É um dos casos muito raros de plantas que podem passar mais de mil anos e ainda serem produtivas (RODRIGUES; CORREIA, 2009).

A oliveira é oriunda da parte oriental do Mediterrâneo que compreende a região que vai do Cáusaco até as planícies do Irã, Palestina e a zona costeira da Síria (SANTOS et al., 2015). Com a expansão das civilizações do Mediterrâneo, o cultivo de oliveiras difundiu-se nos países hoje tradicionalmente reconhecidos como produtores, como a Espanha, Grécia, Itália e outros (COUTINHO et al., 2009). Com o descobrimento da América, a olivicultura estendeu-se para países que vão desde a Argentina e Chile, na América do Sul, até os Estados Unidos, na América do Norte. Olivais podem ser encontrados também no sul da África, Ásia, Japão e Austrália (CIVANTOS, 2008). Atualmente, as oliveiras estão presentes em 56 países dos cinco continentes (EXTENDA, 2017).

Diante da sua extensa área territorial, a agricultura brasileira tem apresentado aumentos significativos na produtividade de muitas culturas agrícolas e a introdução de novas espécies economicamente produtivas de outros países vem ganhando cada vez mais espaço no mercado agrícola nacional (FREITAS; MENDONÇA, 2016). A oliveira é um exemplo destas espécies cultivadas que o país tem explorado com fins comerciais. Esta cultura possui características únicas, principalmente por ser produtora de azeitonas das quais se extrai o azeite de oliva, um dos mais nobres produtos agrícolas conhecidos pela humanidade (OLIVEIRA, 2012).

O Brasil ocupa posição de grande destaque no mercado mundial de azeites, sendo o terceiro país que mais importa este produto no mundo, com previsão de 60 mil toneladas para o período de 2017/2018, representando 7% do mercado internacional, ultrapassado apenas pela Itália (9,82%) e Estados Unidos (35,5%). Contudo, o Brasil ocupa a décima segunda posição no consumo mundial de azeite, representando 2,03% do mercado internacional, sendo superado por países como a

Síria (3,38%), Marrocos (4,06%), Espanha (15,91%) e pela maior consumidora mundial de azeite, a Itália (18,85%) (IOC, 2019).

Considerando o mercado de azeitonas em conserva, o Brasil ocupa a segunda posição, com previsão de importação de 115 mil toneladas (18,56%), perdendo apenas para os Estados Unidos (23,56%). No consumo de azeitona em conserva, o país ocupa a sétima posição (4,20%), superado por países como a Argélia (10,55%), Turquia (12,96%) e o maior consumidor, o Egito (16,43%) (IOC, 2019).

Os dados apresentados pelo Conselho Mundial da Olivicultura (2017) revelam que a produção de azeite e azeitona em conserva vem aumentando a cada ano. Os maiores produtores de azeite no mundo são a Grécia (10,36%), Itália (11,05%) e Espanha (37,68%). Já a produção de azeitona em conserva destaca a Espanha (17,66%), Egito (22,01%) e Turquia (27,98%) como principais produtores no mundo.

Por ser baixa, a produção do Brasil não tem sido inserida nos relatórios do Conselho Mundial da Olivicultura, obtendo destaque na América do Sul apenas países como a Argentina (3,55% azeitona em conserva e 1,29% azeite) e Chile (0,44% azeitona em conserva e 0,57% azeite) (IOC, 2019).

Estima-se que no Brasil existem 400 olivais, distribuídos em 70 municípios, em uma área plantada de aproximadamente 2.500 hectares, com produção estimada de 80 mil litros na última safra do presente ano (EPAMIG, 2018). Grande parte dos olivais ainda não iniciou a produção por serem jovens e a tendência é de que a área e, conseqüentemente, a produção, dobrem nos próximos anos.

Contudo, a olivicultura brasileira vem encontrando dificuldades em adaptar-se. Dentre as dificuldades encontradas destacam-se a limitação das oliveiras a regiões mais frias, fenômeno este que vem concentrando os olivais em regiões de clima mais ameno, como nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e regiões serranas do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Para mitigar este efeito, instituições de pesquisa estão elaborando mapas de zoneamento climático para o plantio de oliveiras, a exemplo do Rio Grande do Sul (WREGGE et al., 2009; FILLIPINI ALBA et al., 2014). Estudos realizados para o zoneamento da cultura em São Paulo indicam que, para a produção de oliveiras, são necessários 500 a 1.000 horas de frio abaixo de 13°C, existindo alterações para cada microclima predominante na região (PANTANO; BEERTONCINI; WREGGE, 2014). Baixas temperaturas são necessárias para diminuir o crescimento da planta e, com isso, estimular a produção de compostos bioquímicos que favorecem a produção de

hormônios específicos e produção de gemas vegetativas e floríferas de modo mais uniforme (ALMEIDA; ANTUNES, 2012), contribuindo, assim, para o florescimento e produção de frutos. Ademais, Wrege et al. (2015) reforçaram que outros fatores como baixa precipitação e baixa umidade relativa são importantes para a produção das oliveiras.

A busca por variedades mais adaptadas às condições climáticas brasileiras vem sendo objeto de estudo de instituições de pesquisa. Variedades provenientes de países como a Espanha (Arbequina), Grécia (Koroneiki) e Itália (Grappolo) já são uma realidade comercial no Brasil, porém enfrentam instabilidade na produção comercial, em grande parte devido a fatores climáticos.

A utilização de microrganismos neste processo de adaptação da oliveira no Brasil pode mitigar os efeitos negativos da cadeia produtiva, contribuindo, assim, para uma maior produção, tanto de mudas quanto da formação do olival e, conseqüentemente, maior rendimento da cultura. No entanto, são raros os estudos brasileiros relacionando o crescimento ou produção vegetal à interação entre planta e grupo de microrganismos específicos, como os fungos micorrízicos arbusculares.

3.2 Associação micorrízica arbuscular

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) correspondem à associação micorrízica mais abundante na natureza, formada com a maioria das raízes de plantas terrestres. Trata-se de uma associação altamente compatível em virtude da ocorrência de uma forte integração morfológica e fisiológica, denominada micorriza, representando um mutualismo de longa duração, na qual observam-se benefícios para os parceiros. Segundo Smith e Read (2008), a presença de estruturas denominadas hifas nos FMAs, que funcionam como uma extensão do sistema radicular, proporcionam às plantas um aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo (P). Em contrapartida, o ciclo de vida dos FMAs é garantido a partir da utilização dos fotoassimilados produzidos pelas plantas. Por esta razão, os FMAs têm um papel de grande importância na microbiota de solos naturais e agrícolas (HARRISON, 1998; CRUZ et al., 2009).

A capacidade de formar este tipo de associação é restrita a fungos pertencentes a cinco famílias (Gigasporaceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Paraglomeraceae e Archaeosporaceae) da ordem Glomerales, do filo Glomeromycota, das quais são conhecidas cerca de 140 espécies, distribuídas em apenas sete

gêneros: *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Paraglomus* e *Scutellospora* (INVAM, 2018).

O reconhecimento entre plantas hospedeiras e FMA inicia-se antes do estabelecimento de um contato físico. As potenciais plantas hospedeiras exsudam metabólitos pelas raízes que propiciam a germinação dos esporos e o crescimento fúngico (GIANINAZZI-PEARSON, 1996). O fungo produz, inicialmente, uma hifa simples não ramificada sustentada pelas reservas de triglicéridos e glicogênio presentes no esporo. Sawers et al. (2008), destacaram que o contato entre a hifa e o hospedeiro forma o apressório e o processo de penetração na raiz do hospedeiro é então coordenado pelo fungo e planta. As células radiculares, em contato com as estruturas de colonização, não apresentam alteração citológica ou respostas típicas de defesa, permitindo a invasão fúngica inter e intracelularmente da planta, embora não se atravesse a membrana citoplasmática vegetal (GIANINAZZI-PEARSON, 1996; SAWERS et al., 2008).

Os FMAs possuem hifas que, ao penetrarem nas células da raiz, formam estruturas ramificadas conhecidas como arbúsculos, pelos quais se processam as trocas de elementos e compostos entre o fungo e o hospedeiro. Segundo Corradi e Bonfante (2012), os FMAs produzem no subsolo redes de hifas e esporos muito extensas, que podem interconectar um grande número de espécies de plantas não relacionadas entre si, provocando impacto na biodiversidade do ecossistema.

Estudos demonstram que a persistência dos FMAs no solo é determinada pela abundância e viabilidade de seus propágulos: esporos, micélio extrarradicular e porções colonizadas de raiz (BRUNDRETT; ASHWATH; JASPER, 1996; PICONE, 2000). Hart e Reader (2004) consideram que a vulnerabilidade e fragilidade de um ecossistema à degradação pode estar, inclusive, relacionada à carência de propágulos de FMAs hábeis, destacando assim a sua importância para o ambiente.

Os FMAs são capazes de melhorar a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos. Li et al. (2014) verificaram que plantas submetidas a estresse hídrico inoculadas com FMA aumentaram a sua taxa de crescimento, além de apresentarem um maior rendimento e melhor absorção dos nutrientes, principalmente P, resultando em uma melhor absorção de água, permitindo, assim, uma manutenção adequada dos níveis de água nas suas folhas.

Chandrasekaran et al. (2014) verificaram que a ação das micorrizas arbusculares minimizam os efeitos do estresse salino melhorando a nutrição vegetal,

umentando a atividade de enzimas antioxidantes e a absorção de K^+ em detrimento de Na^+ , resultando no aumento da biomassa vegetal.

Estudos revelam um grande potencial dos FMAs no biocontrole de pragas e agentes patogênicos (IDOIA; NIEVES; JONE, 2004; GARMENDIA; GOICOECHEA; AGUIRREOLEA, 2005; LIOUSSANNE; JOLICOEUR; ST-ARNAUD, 2009). Babikova et al. (2013) evidenciaram que os micélios extrarradiculares dos FMAs atuam na comunicação entre plantas ao observar que a rede de hifas transportava sinais moleculares de plantas infestadas por afídeos para plantas não infestadas. As plantas não infestadas que receberam os sinais moleculares foram induzidas a emitir compostos orgânicos voláteis repelentes dos afídeos e um atrativo para os seus inimigos naturais.

3.3 Os fungos micorrízicos arbusculares e a cultura da oliveira

A obtenção de um olival que apresente uma produtividade rentável está diretamente relacionada à sua formação, sendo importante que as práticas agrícolas sejam realizadas corretamente, atentando-se para o uso racional de corretivos e fertilizantes, bem como a utilização de outras técnicas de manejo que possibilitem o melhor desenvolvimento da planta. Estudos relacionados à ordem biológica na relação solo-planta vêm ganhando destaque na produção agrícola, principalmente quanto ao uso de microrganismos, como fungos micorrízicos arbusculares.

Os efeitos benéficos dos FMAs têm sido demonstrados para as oliveiras cultivadas em diferentes países. A colonização radicular por FMAs foi avaliada por Mekahlia, Beddiar e Chenchouni (2013) em oliveiras cultivadas ao longo de um gradiente climático (subúmido, semiárido e árido) no norte da Argélia, verificando-se a ocorrência de colonização micorrízica nestes climas, independentemente da estação ou dos anos de estudo (2010-2012). Nessas condições, foram obtidos resultados expressivos, com frequência de colonização de 83% e intensidade de colonização radicular de 42%.

Plantas oriundas de estacas herbáceas da variedade “Sigoise” desenvolvidas sob condições controladas na Argélia apresentaram melhorias significativas nas suas taxas de crescimento, após inoculação com FMAs de duas espécies pertencentes ao gênero *Glomus*, (SIDHOUM; FORTAS, 2013).

A estrutura e diversidade de FMAs na rizosfera de oliveiras cultivadas na Espanha foram analisadas por Montes-Borrego, Metsis e Landa (2014) em 96

olivais, empregando técnicas moleculares. Observou-se uma forte interação micorrízica com as oliveiras de diferentes variedades como Arbequina, Picual e Manzanilla, principalmente do gênero *Glomus* e concluíram que a inoculação de mudas de oliveira com FMAs em viveiro deve-se tornar uma prática comum, principalmente por favorecer o estabelecimento da planta em campo.

Mechri et al. (2014) verificaram que o micélio do FMA *Glomus intraradices* inoculado em oliveiras cultivadas na Tunísia apresentava estruturas que absorviam os açúcares da rizosfera, translocando-os para a oliveira, induzindo mudanças significativas na comunidade microbiana. Mediante a inoculação do FMA *Rhizophagus irregulares*, Mechri et al. (2015) detectaram que a micorrização de oliveiras cultivadas neste mesmo país apresentou efeito significativo sobre o conteúdo de fenóis e flavonóides nas raízes, proporcionando importante efeito antioxidante.

A inoculação do FMA *Rhizophagus irregulares* em mudas de oliveiras cultivadas na Argentina promoveu o seu desenvolvimento na fase de viveiro, facilitando o transplântio para o campo (BOMPADRE et al., 2014). Tekaya et al. (2017) verificaram que a inoculação com esse FMA contribuiu para a ampliação do potencial radicular de oliveiras cultivadas na Tunísia, melhorando o seu estado nutricional.

Meddad-Hamza et al. (2017) observaram que os aspectos climáticos também afetam o desenvolvimento de determinados FMAs na rizosfera de oliveiras, onde os climas úmidos e subúmidos favorecem a micorrização de mudas, o que possibilita a expansão dessa cultura para países que apresentam clima semelhante, como o Brasil.

Diante do exposto, os estudos realizados em países europeus e do Mediterrâneo demonstram os benefícios dos FMAs para o crescimento e desenvolvimento destas plantas. No entanto, estudos para avaliar os seus efeitos em oliveiras cultivadas no Brasil são escassos.

Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) registraram o micotrofismo de diferentes variedades de oliveira, no sul de Minas Gerais. Adicionalmente, a confirmação do efeito de FMAs no crescimento de oliveiras foi realizada por Ferreira et al. (2015), que observaram um aumento da produção de matéria seca da parte aérea e raízes das mudas quando inoculadas, o que possibilitaria a antecipação na sua comercialização, plantas com maior resistência ao plantio e produção de plantas mais vigorosas. O estudo também evidenciou melhor capacidade de formação

micorrízica entre as variedades avaliadas em casa de vegetação, quando comparado a resultados anteriormente obtidos em campo (VIEIRA; MELLONI; VIEIRA NETO, 2011).

A carência de trabalhos envolvendo FMA e variedades de oliveira no Brasil limita o desenvolvimento de planos de manejo biológico que proporcionem maior produtividade e rentabilidade na produção. Desta forma, o presente trabalho visa contribuir para a ampliação do conhecimento nesta área de estudo.

3.4 Fatores interferentes na formação de micorriza

Moreira e Siqueira (2006) destacam que as micorrizas são sistemas biológicos compartimentalizados que sofrem grande influência do ambiente e de inúmeros fatores edáficos que afetam direta ou indiretamente a formação, o funcionamento e a ocorrência das micorrizas arbusculares. Os componentes e os fatores controladores apresentam interação constante e intensa, assim, a alteração em quaisquer deles exercerá influência sobre as micorrizas e os propágulos dos FMAs.

A colonização e esporulação geralmente são máximas em condições de baixa fertilidade, enquanto que uma inibição é observada quando os FMAs se encontram em condições de elevada fertilidade (CARDOSO et al., 2010). Lambais e Medhy (1993) verificaram que a atividade de enzimas de defesa com efeitos antifúngicos em plantas diminui as taxas de colonização e o teor de P disponível que é responsável pela modulação desse efeito. Assim, apesar da adição de P ser suficiente para otimizar o crescimento da planta, geralmente reduz a colonização (MIRANDA; SOUSA; MIRANDA, 1984). Cardoso e Andreote (2016) sugeriram que em ambientes com alta disponibilidade de P não existe a necessidade da planta direcionar recursos energéticos (fotoassimilados) para o fungo micorrízico, uma vez que possui nutrientes suficientes para o seu desenvolvimento, tornando desnecessária a ocorrência da associação micorrízica. Nesse caso, a presença de FMAs pode levar a processos de parasitismo com redução do crescimento vegetal.

As espécies de planta hospedeira também podem exibir diferentes suscetibilidades à colonização, onde alguns fatores, tais como, variedades, cobertura vegetal, idade, ciclo e taxa de crescimento, além de exsudação e senescência podem influenciar a formação e ocorrência das micorrizas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Características físicas do solo como textura, umidade, aeração, inundação e compactação afetam a micorrização. Borowicz (2010) verificou que as micorrizas arbusculares podem afetar o crescimento e produtividade da planta hospedeira sob condições de alta e baixa umidade. A resposta das plantas à colonização por FMAs pode ser relacionada à gravidade e periodicidade de secas. Assim, conforme discutido por Folli-Pereira et al. (2012), a simbiose com FMAs pode aumentar as respostas da planta ao déficit hídrico moderado devido ao aumento da absorção de água a partir do solo pelas hifas, aumento da turgescência foliar, redução do potencial osmótico e alteração na condutância estomática gerada por mudanças dos níveis hormonais. O pH do solo também influencia as taxas de micorrização, onde, comumente, as micorrizas ocorrem em solos com pH variando de 3 a 10. Tal plasticidade é explicada pela tolerância diferenciada aos metais em concentrações tóxicas, geralmente presentes em solos ácidos, onde a calagem reverte a ação fungistática desses metais sobre os fungos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A baixa colonização micorrízica das culturas pode afetar a sua produção e sustentabilidade. Assim, para compensar esses efeitos negativos recomenda-se o uso de maiores quantidades de fertilizantes e até mesmo de agrotóxicos. Os pesticidas apresentam forte influência sobre a micorrização e seus efeitos dependem do tipo de molécula, do modo de ação, da taxa e da frequência de aplicação (CUENCA; HERRERA; MENESES, 1990; PAULA Jr.; ZAMBOLIM, 1994). Os produtos com ação fumigante eliminam os propágulos e evitam a colonização, enquanto que os nematicidas e inseticidas geralmente não exercem nenhum efeito negativo quando aplicados corretamente (BAGYARAJ, 1991; BENDAVID-VAL et al., 1997). Os fungicidas têm efeito variado, destacando os benzimidazóis como os mais prejudiciais aos FMAs, enquanto fosetil-Al e metalaxyl têm efeito estimulante ou neutro na colonização micorrízica (JOHNSON; PFLEGER, 1992). Assim, quando tais produtos são aplicados na olivicultura podem ser esperados esses efeitos na formação de micorriza e, conseqüentemente, no crescimento e produção vegetais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte do projeto “Potencial Biotecnológico de Microrganismos do Solo na Olivicultura”, registrado na Universidade Federal de Itajubá - Unifei sob o número DPI 566.

O Laboratório de Microbiologia do Solo da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Esalq/USP, juntamente com a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - Epamig, através do Núcleo Tecnológico Azeitona e Azeite localizado no município de Maria da Fé - MG, são instituições de apoio para o desenvolvimento deste projeto.

4.1 Caracterização da área de estudo

O banco de germoplasma do Núcleo Tecnológico Epamig Azeitona e Azeite, localizado na Fazenda Experimental da Epamig em Maria da Fé (MG), foi selecionado para a avaliação da formação de micorriza e produção de propágulos de FMAs das variedades de oliveira no Brasil.

Este banco de germoplasma de oliveira (Figura 1) foi criado em 2005 onde foram plantadas 70 variedades provenientes dos principais países produtores de azeite e azeitona, em uma área de 15 mil m², localizada nas coordenadas 22°18'57.97''S e 45°22'28.82''O a 1.311 metros de altitude. A área é considerada como uma importante fonte genética e agrônômica do país (CABALLERO, 2012).



Figura 1 - Banco de germoplasma de oliveira - Epamig Maria da Fé. A) Visão geral da área experimental; B) Destaque para a placa que apresenta informações gerais sobre o Banco de Germoplasma de oliveiras; C) Imagem aérea delimitando a área de estudo.

Fonte: Figuras A e B - o autor; C - Imagem de satélite extraída do banco de dados Bing Maps no ano de 2016.

Para a delimitação do perímetro e marcação das plantas foi utilizado GPS geodésico fornecido pelo Laboratório de Geoprocessamento da Unifei. O mapa gerado pelos *softwares* DataGeosis e AutoCad pode ser visto na figura 2.

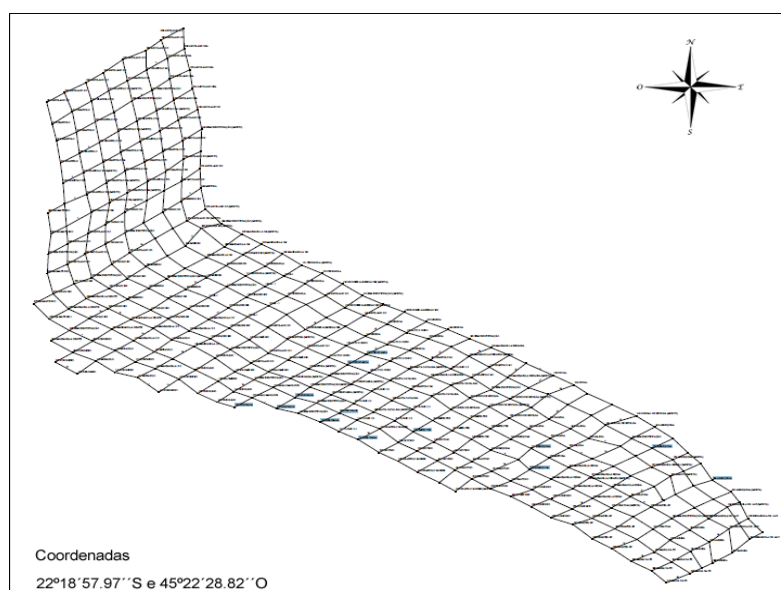


Figura 2 - Mapa georreferenciado do banco de germoplasma da Fazenda Experimental de Maria da Fé - FEMF.

Fonte: o autor.

4.2 Seleção das variedades e coleta das amostras de solo rizosférico

Foram selecionadas 17 variedades para o presente estudo, conforme apresentado na figura 3. Critérios como país de origem, número de plantas (3 por variedade) e vigor foram utilizados na escolha. Variedades comerciais como a Coratina e Manzanilla foram excluídas das análises do presente trabalho devido à morte das plantas durante a formação do olival.



Alto do D'Ouro	○ *	Frantoio	○	Leccinio	○
Arbequina	○	Galega	○	Maria da Fé	○
Arbosana	○	Grappolo	○	Mission	○
Ascolana USA	○	Grappolo 541	○	Negrao	○
Ascolana 315	○	Grappolo 575	○	Tafahi	○
Barnea	○	Koroneiki	○		

Figura 3 - Distribuição espacial das variedades de oliveira selecionadas no banco de germoplasma da FEMF. * A coloração dos círculos representa as variedades indicadas na imagem. Fonte: Imagem de satélite extraída do banco de dados Bing Maps no ano de 2016.

A figura 4 apresenta a forma de sinalização empregando fitas coloridas para determinar as oliveiras selecionadas no campo da FEMF.



Figura 4 - Seleção e demarcação das oliveiras. A) Visão geral de uma oliveira selecionada; B) Destaque para a demarcação com fita sinalizadora. Fonte: o autor.

Após a etapa de seleção das variedades, procedeu-se à coleta de amostras de solo rizosférico e raiz. As amostras de solo rizosférico, definido como a porção de solo sob influência da raiz, foram retiradas em três marcações ao redor de cada planta, por meio de enxada manual desinfestada com álcool etílico 70%, em profundidade de 0 a 10 centímetros, à distância de 20 cm do caule da oliveira (Figura 5), como descrito no Manual de Descrição e Coleta de Solo no Campo (SANTOS et al., 2005). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, com a identificação das plantas.



Figura 5 – Coleta de solo rizosférico das variedades selecionadas. A e B) Pesquisadores coletando as amostras conforme procedimentos do Manual de Descrição e Coleta de Solo no Campo. Fonte: o autor.

As raízes foram coletadas de forma padronizada em três pontos ao redor das 51 plantas selecionadas e, posteriormente, armazenadas em recipientes com tampa, imersas em álcool 70% e identificadas conforme apresentado na figura 6.



Figura 6 – Coleta e armazenamento das raízes das oliveiras selecionadas no banco de germoplasma da FEMF. A) Coleta das raízes de uma variedade; B) Armazenamento das raízes para posterior análises laboratoriais. Fonte: o autor.

Todo o material foi encaminhado ao Laboratório de Microbiologia do Centro de Estudos em Qualidade Ambiental (Cequam) da Unifei, para posterior análise.

4.3 Preparo das amostras de solo rizosférico e raízes

As amostras de solo rizosférico foram peneiradas em malha de 2 mm e, posteriormente, armazenadas em refrigerador, com temperatura média de 4°C, como mostrado na Figura 7. O material foi utilizado no processamento das análises dos propágulos, micélio extrarradicular total (MET) e densidade de esporos de FMAs, seguindo a sua identificação.



Figura 7 - Preparo das amostras de solo rizosférico. A) Peneiramento das amostras em laboratório; B) Armazenamento das amostras em refrigerador. Fonte: o autor.

As amostras das raízes permaneceram agrupadas por variedade em recipientes contendo álcool 70% para a análise do potencial micotrófico, dado pela intensidade de colonização radicular (Figura 8).

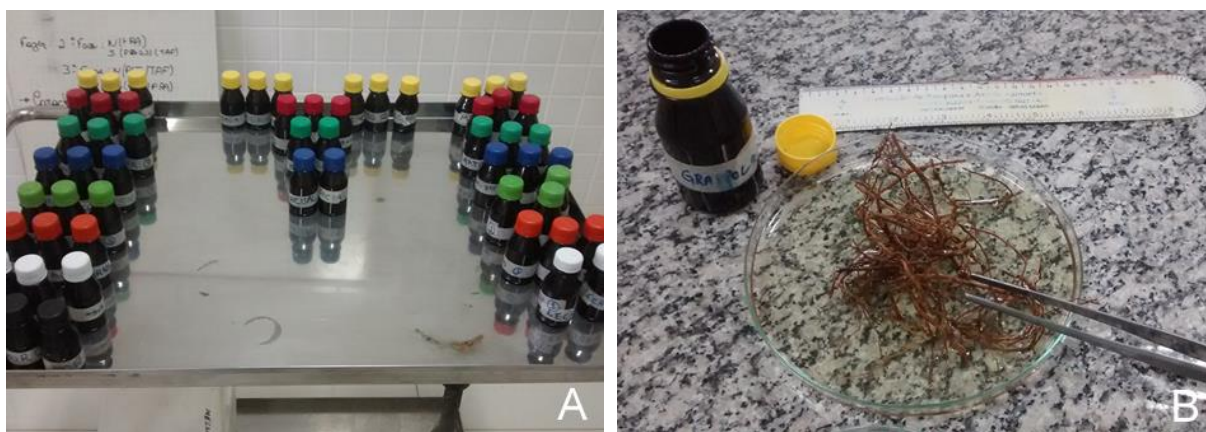


Figura 8 - Preparo das amostras de raízes. A) Amostras armazenadas em recipientes com álcool 70% distribuídas por variedades. B) Visualização das raízes em placa de Petri. Fonte: o autor.

4.4 Análise da umidade das amostras de solo rizosférico

Foram encaminhadas ao Laboratório de Solos da UNIFEI pequenas frações das amostras do solo rizosférico coletadas em campo para a determinação da

umidade, as quais foram pesadas em recipientes metálicos antes e após secagem em estufa (Tecnal – TE 397/4) a 105°C por 24 horas (EMBRAPA, 2017), como visto na Figura 9. Os resultados da umidade são necessários para estabelecer a unidade do propágulo, micélio extrarradicular total (MET).

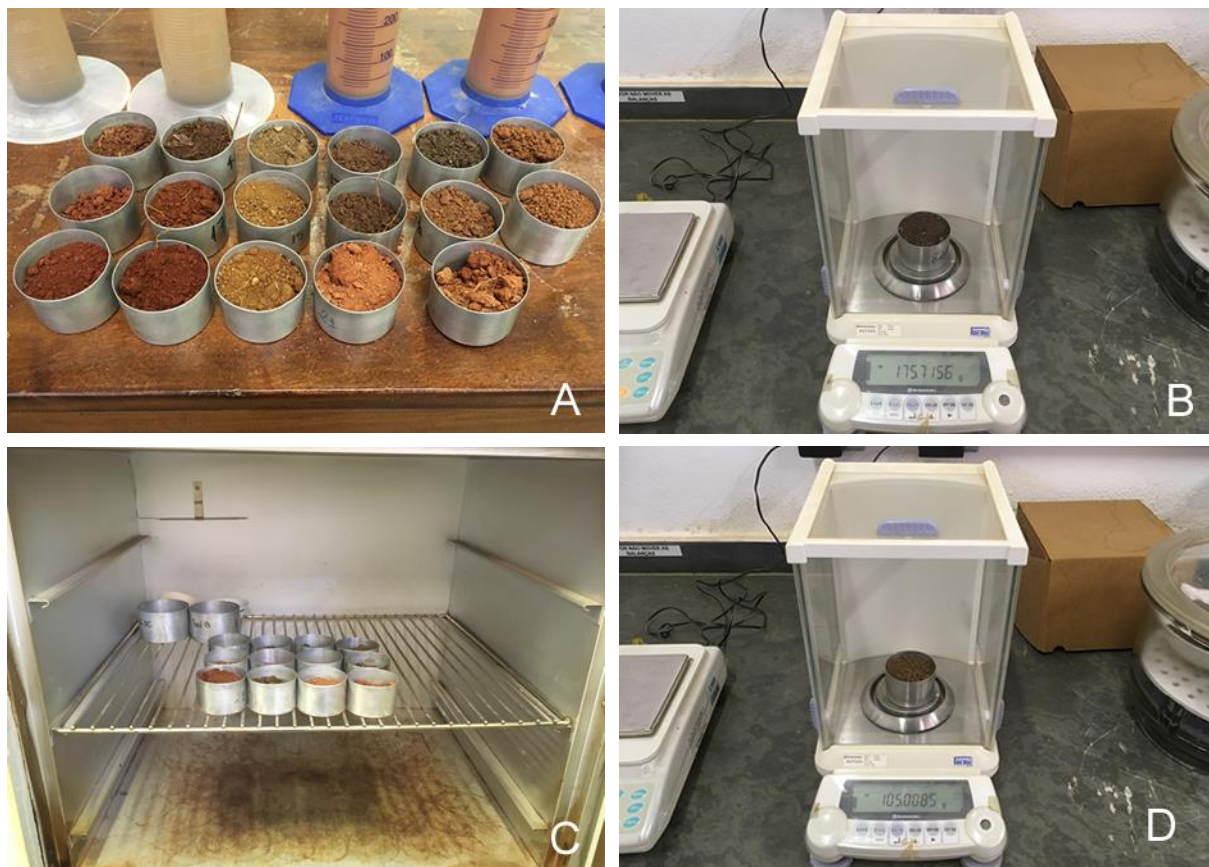


Figura 9 - Procedimentos empregados para análise da umidade das amostras de solo rizosférico. A) Amostras de solo úmido dispostos em cadinhos metálicos; B) Pesagem da amostra de solo em balança analítica antes da secagem em estufa; C) Cadinhos com as amostras em estufa de secagem; D) Pesagem da amostra de solo em balança analítica após secagem em estufa. Fonte: o autor.

A coleta das amostras foi realizada no mês de maio de 2018 e os dados climáticos, distribuídos ao longo do ano, são observados no climograma do município de Maria da Fé – MG (Figura 10)

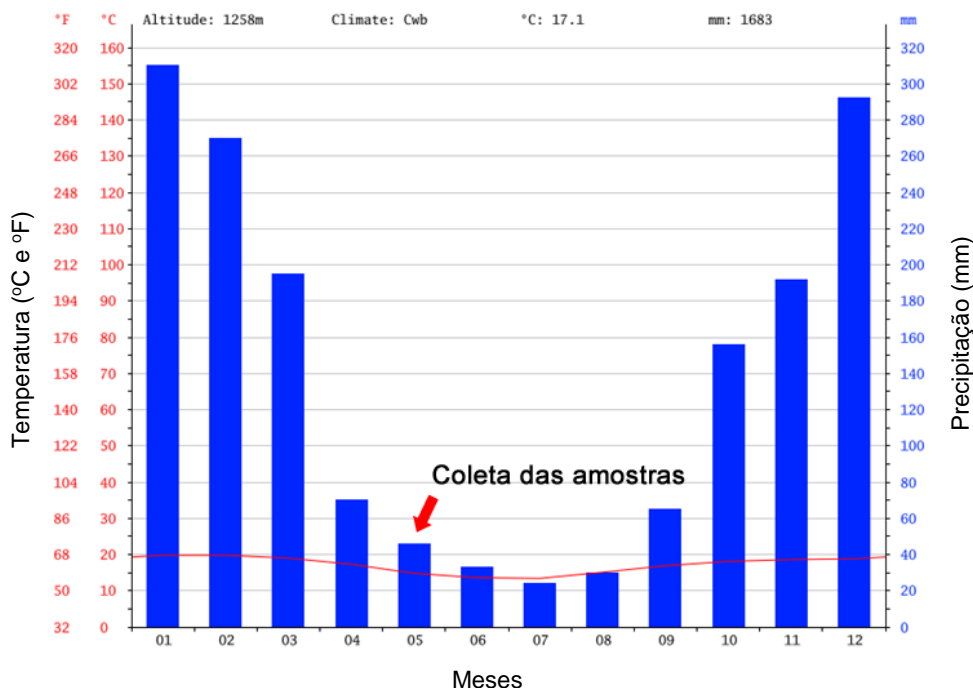


Figura 10 – Climograma do município de Maria da Fé – MG.
 Fonte: Climate-data.org – Acesso no dia 12/06/2018.

4.5 Intensidade de colonização radicular por FMAs

O preparo das amostras de raízes para o cálculo da intensidade de colonização radicular foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Solo, da Esalq. Inicialmente foi utilizada a metodologia descrita por Phillips e Haymann (1970). Porém, devido a dificuldades no processo de cozimento e coloração das raízes, adaptou-se um novo procedimento baseado na metodologia de Vierheilig et al. (1998).

As raízes armazenadas em recipientes com álcool 70% foram lavadas em água de torneira corrente, transferidas para tubos Falcon, identificadas e cobertas com KOH 10% (Figura 11). As amostras permaneceram imersas no KOH *overnight* (das 17:00 h às 8:00 h do dia seguinte). Após este prazo, foi avaliada a necessidade de prolongar ou não a permanência das raízes em KOH para melhor clareamento das amostras, contudo, isso não foi necessário.

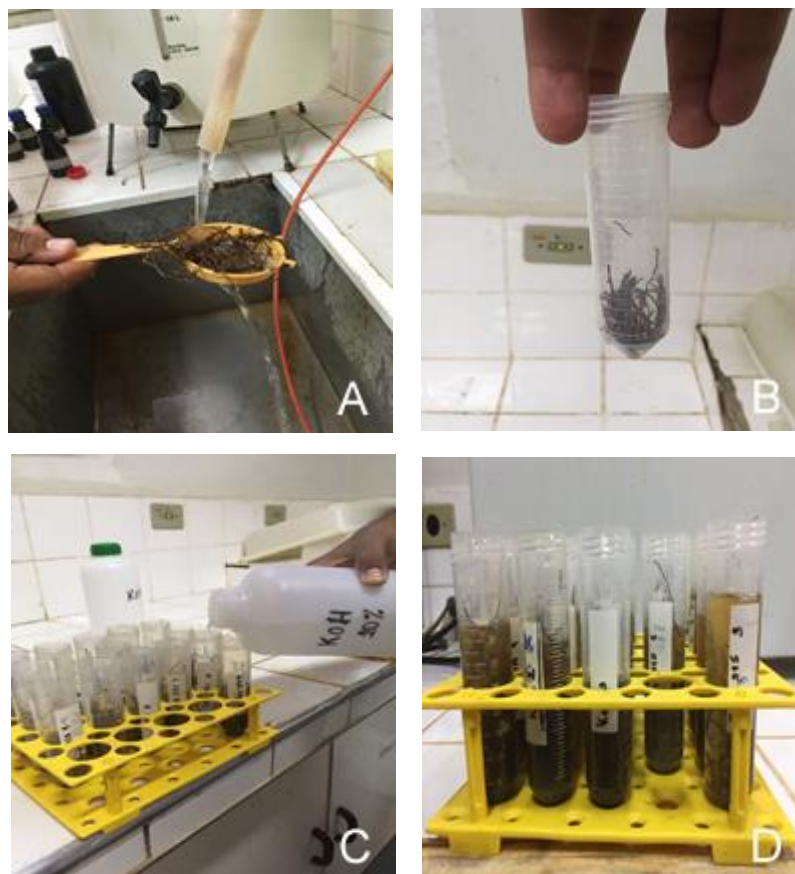


Figura 11 - Procedimentos iniciais para análise da intensidade de colonização radicular. A) Lavagem das raízes em água corrente; B) Transferência das raízes para tubo Falcon; C) Adição de KOH 10%; D) Raízes com KOH 10%.

Fonte: o autor.

Na etapa seguinte, as amostras que estavam imersas em KOH no tubo Falcon foram mantidas em banho-maria a 90°C por aproximadamente 1 hora (Figura 12A). Após este período, avaliou-se individualmente cada amostra a fim de avaliar a necessidade de sua permanência em banho-maria. Considerando-se que a textura das raízes não poderia ser muito rígida ou frágil, o tempo de cozimento foi variável para cada amostra. O tempo limite das amostras em aquecimento foi de 1 hora e 15 minutos. Optou-se por não ultrapassar este período devido à possibilidade de promover danos às raízes e perda de dados.

As amostras de raízes foram removidas do banho-maria e clarificadas com adição de 10 a 15 mL de água oxigenada 20 volumes (armazenada previamente em câmara fria) na amostra ainda quente, promovendo o seu clareamento (Figura 12B e 12C). O tempo das amostras em água oxigenada variou de 1 a 6 minutos, observando-se continuamente a reação e a cor das raízes. A remoção das raízes do tubo Falcon ocorreu quando as mesmas apresentavam coloração amarelo palha

(Figura 12D). Se imersas por muito tempo em água oxigenada, as raízes são degradadas, inviabilizando as análises posteriores.

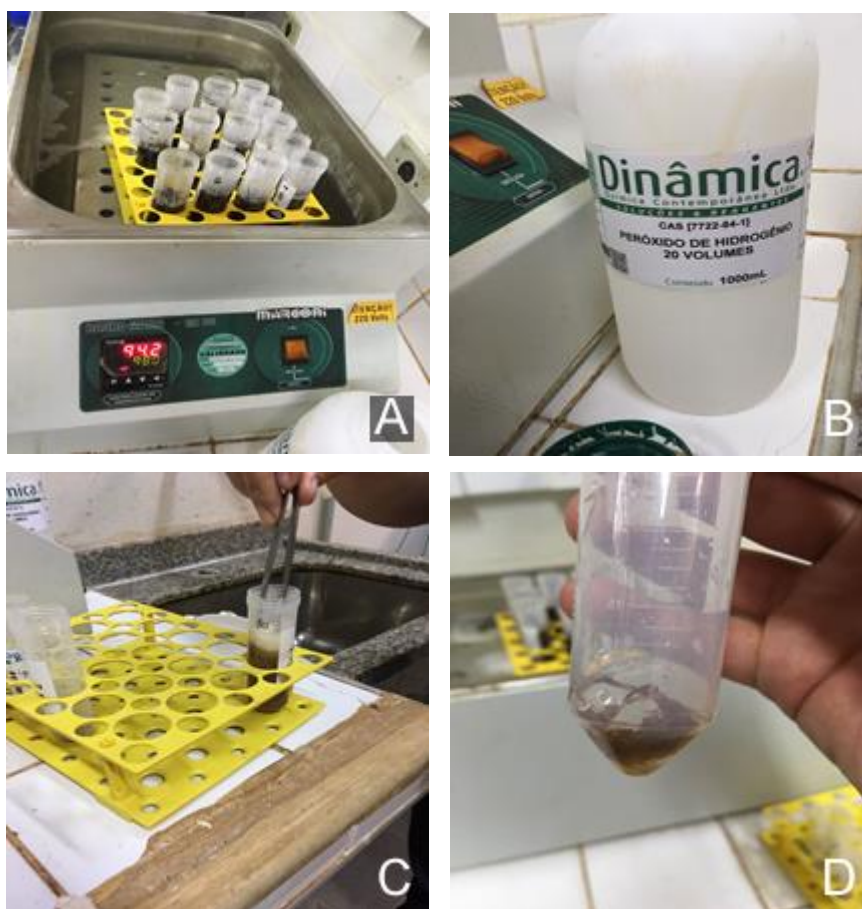


Figura 12 - Etapas de clareamento das raízes para análise da intensidade de colonização radicular. A) Amostras das raízes em banho-maria por 1 hora; B) Água oxigenada 20 volumes para clarificação das raízes; C) Adição da água oxigenada 20 volumes; D) Raízes clarificadas. Fonte: o autor.

Após o processo de clareamento, as raízes foram lavadas em água corrente em abundância, com o auxílio de uma peneira para a remoção de todos os reagentes (Figura 13A). Em seguida, foram acondicionadas novamente em tubos Falcon (Figura 13B). Nesta etapa foram removidas as raízes que estavam escuras e rígidas para não prejudicarem o processo de coloração. Raízes aglomeradas foram cortadas para favorecer a ação do corante.

Para a coloração da raiz utilizou-se uma solução composta por: 57 mL de Tinta Parker (tinta de caneta) (Figura 13C) e 1 L de ácido acético 5%, que também poderia ser substituído por vinagre branco de mesmo volume.

As raízes armazenadas nesta solução (Figura 13D) foram mantidas em banho-maria a 90 °C por 2 a 5 minutos, observando-se a intensidade da coloração das amostras.

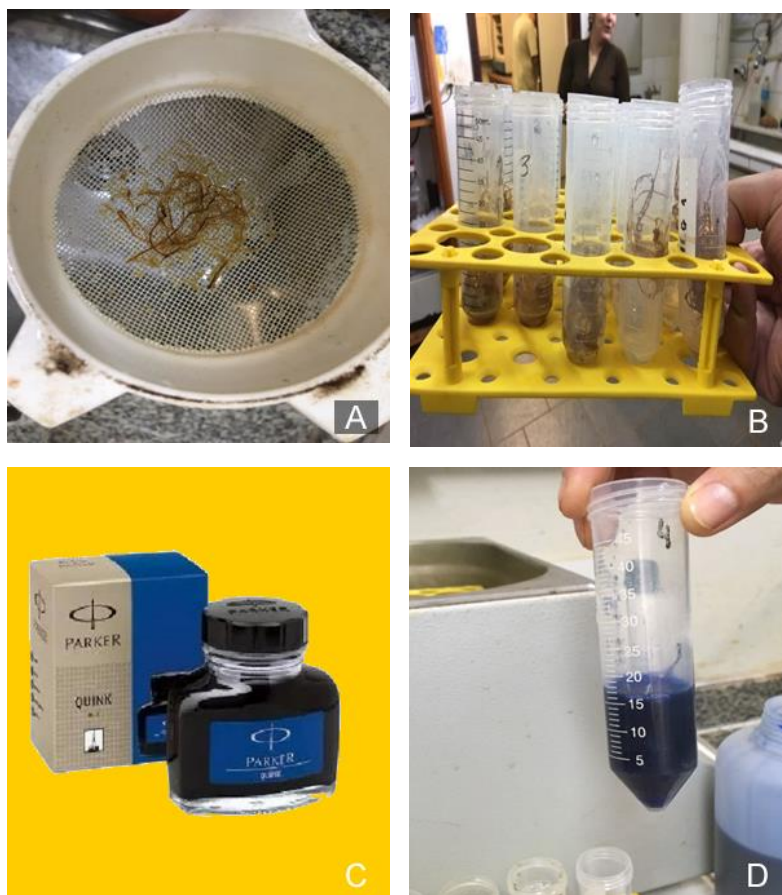


Figura 13 - Etapas de coloração das raízes para análise da intensidade de colonização radicular. A) Lavagem da raiz com peneira; B) Raízes clarificadas no tubo Falcon; C) Tinta de caneta PARKER empregada para corar as raízes; D) Imersão das raízes em solução com tinta de caneta.
Fonte: o autor.

Ao retirar as amostras do banho-maria, o excesso de corante foi descartado (Figura 14 A) e adicionados aproximadamente 15 mL de solução de Lacto-Glicerol na proporção (1:1:1): ácido láctico, água e glicerol.

Após a coloração, as raízes foram transferidas para placas de Petri contendo a solução de lacto-glicerol do próprio tubo Falcon (Figura 14 B), onde foram selecionados 10 segmentos de raízes finas, cortados do mesmo tamanho e dispostos em uma lâmina de vidro, coberta com o lacto-glicerol (Figura 14C e 14D). Posteriormente, o material foi coberto com uma nova lâmina de vidro e pressionado suavemente para que as raízes se abrissem, possibilitando uma melhor visualização do seu interior.

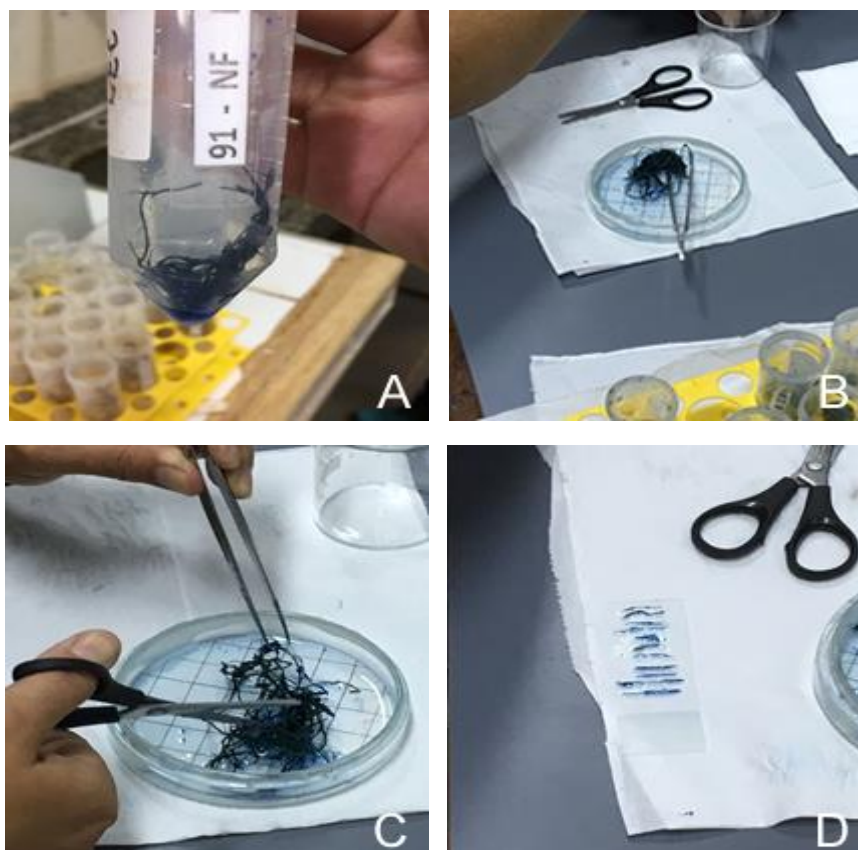


Figura 14 - Procedimentos finais para análise da intensidade de colonização radicular. A) Remoção do excesso de corante; B) Transferência das raízes para placa de Petri; C) Corte das raízes para confecção da lâmina; D) Lâmina com 10 segmentos de raízes de tamanhos semelhantes. Fonte: o autor.

As lâminas foram observadas ao microscópio óptico em aumento total de 100X, atribuindo-se notas de 0 a 100 a cada segmento de raiz, conforme a intensidade de colonização radicular pelos FMAs (BETHLENFALVAY; PACOVSKY; BROWN, 1981). Imagens da metodologia descrita por Vieira (2010) foram utilizadas como referência (Figura 15) para atribuição dos valores observados de colonização.

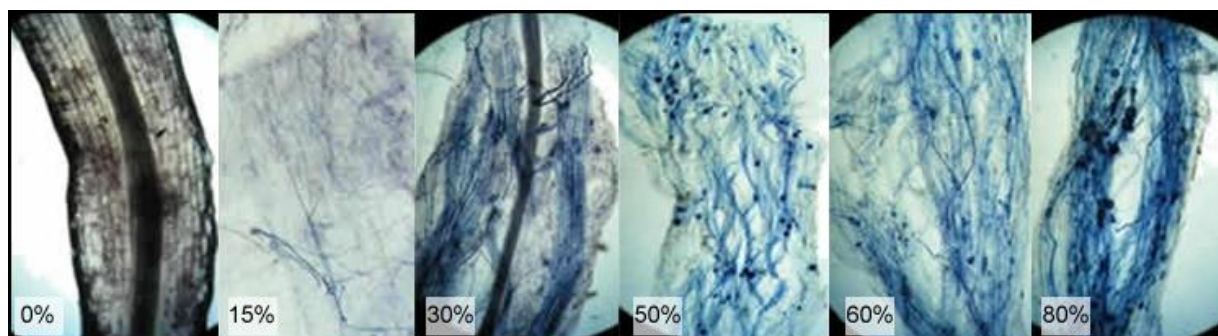


Figura 15 – Padrão de atribuição das notas referentes à intensidade de colonização radicular dos FMAs. Fonte: Vieira (2010).

4.6 Extração do micélio extrarradicular total

A extração do propágulo micélio extrarradicular total (MET) dos FMAs foi baseada na metodologia proposta por Melloni e Cardoso (1999), onde as amostras de solo rizosférico do banco de germoplasma foram processadas individualmente.

Em um béquer de 1 L foram adicionados 10 g da amostra que estava armazenada em câmara fria e, posteriormente, adicionaram-se 500 mL de água de torneira (Figura 16A). A suspensão foi agitada com bastão de vidro e, em seguida, peneirada em malhas 0,500 mm e 0,250 mm para a retirada de impurezas (Figura 16B). Adicionou-se mais 1 L de água de torneira à suspensão, agitando em liquidificador por 30 segundos em velocidade máxima de 2.000 rpm (Figura 16C).

Após agitação, a suspensão ficou em repouso por 2 minutos e, em seguida, foram retirados 500 mL da parte superior em proveta de 500 mL (Figura 16D). O conteúdo foi peneirado em malha 0,045 mm (Figura 16E), onde foram coletados 11 mL da parte retida com o uso de pipeta graduada de 20 mL, sobre lavagem da peneira com água de torneira com uma pisseta (Figura 16F).



Figura 16 - Procedimentos iniciais para extração do micélio extrarradicular total dos FMAs. A) Homogeneização do solo em água; B) Peneiramento em malha 0,500mm e 0,250mm; C) Agitação em liquidificador; D) Remoção de 500 mL em suspensão; E) Peneiramento em malha 0,045mm; F) Remoção de 11 mL retida em malha 0,045mm.

Fonte: o autor.

O material coletado foi armazenado em frasco de penicilina de 5 mL (Figura 17A). Em seguida, realizou-se filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose quadriculada 3 x 3 mm e 0,45 µm de porosidade (Figura 17B). A membrana foi seca ao ar e colocada sobre uma lâmina de vidro (Figura 17C), sendo posteriormente analisada em microscópio adaptado com lente ocular reticulada (*eye piece whipple disc*) com área de 100 mm² no aumento de 10 vezes.

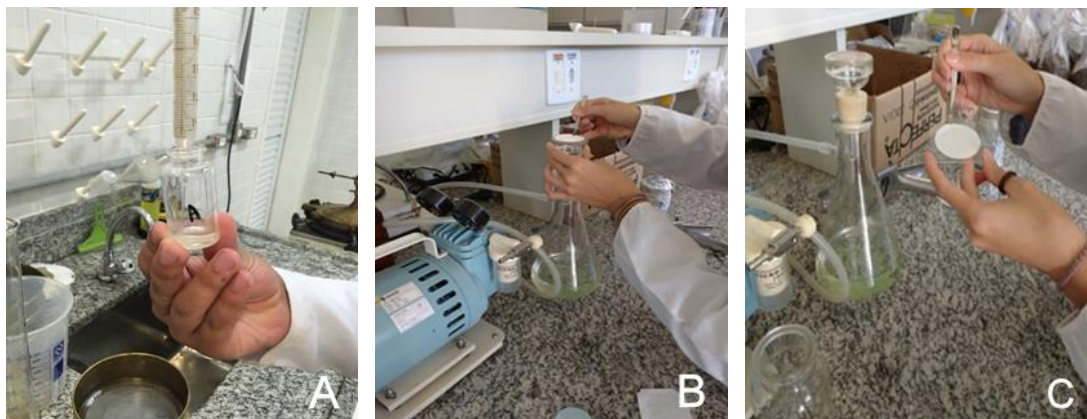


Figura 17 - Etapas de filtração da membrana de triacetato de celulose para extração do micélio extrarradicular dos FMAs. A) Armazenamento do material retido na peneira em frasco de penicilina; B) Filtração a vácuo em membrana; C) Disposição da membrana em lâmina de vidro.
Fonte: o autor.

O campo correspondente ao reticulado foi sobreposto a cada área da membrana, resultando em 64 campos (8 x 8) (Figura 18A), onde foram avaliados o número de interseções de hifas com as linhas horizontais do reticulado (Figura 18B e 18C). Para o cálculo do comprimento do MET foi utilizada a equação simplificada de Newman (1966) – Equação 1:

Equação 1:

$$C = 0,21387 \cdot n / 10 - U$$

Onde:

C = Comprimento do micélio extrarradicular (total e ativo), em m g⁻¹ de substrato seco.

n = Número de interseções de hifas com as linhas horizontais do reticulado.

U = Quantidade de água presente em 10 g de substrato úmido em gramas.

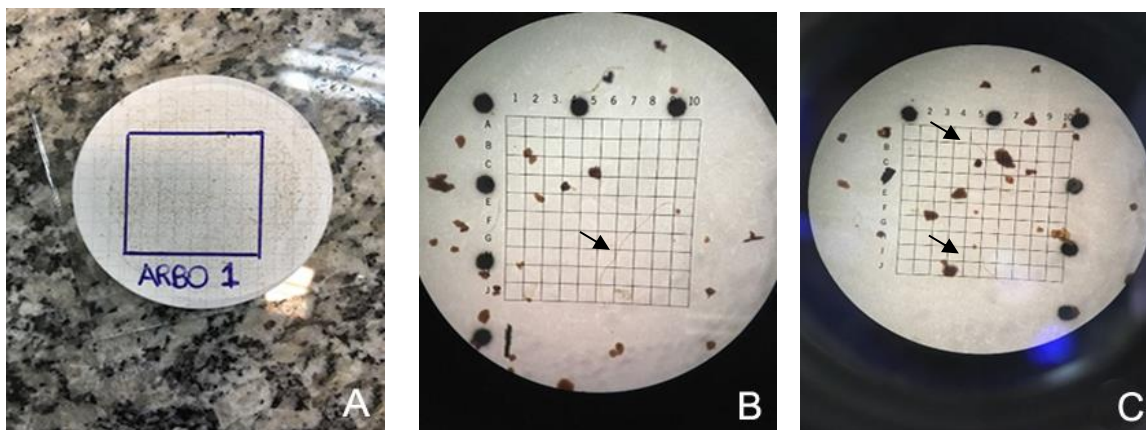


Figura 18 - Procedimento para extração do micélio extrarradicular dos FMAs. A) Demarcação dos campos 8 x 8 para análise ao microscópio; B e C). Visualização da membrana ao microscópio. As setas indicam a presença de micélios.

Fonte: o autor.

4.7 Densidade e diversidade de morfotipos de FMAs

A extração dos propágulos esporos de FMAs seguiu a metodologia descrita por Gerdemann e Nicolson (1963), onde porções de 50 mL de solo rizosférico foram lavadas e peneiradas e a densidade determinada pela contagem dos esporos em placa concêntrica, em microscópio estereoscópico.

A determinação subsequente da diversidade foi realizada a partir da identificação das espécies de fungos, onde os diferentes morfotipos dos esporos foram, inicialmente, separados quanto ao formato, cor e tamanho. Posteriormente, foram confeccionadas lâminas de microscopia em PVLG (polivinil álcool-lactoglicerol) e PVLG/reagente de Melzer (4:1, v:v) para serem visualizadas em microscópio óptico comum Nikon. A identificação das espécies foi realizada com o auxílio da equipe de pesquisadores da Esalq, além da consulta ao INVAM (International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi). O índice de diversidade, bem como a riqueza de espécies, foi calculado conforme proposto por Shannon e Weaver (1949).

4.8 Coleta e análises química e física do solo rizosférico

Amostras de solo rizosférico foram coletadas no Banco de germoplasma de oliveira da Fazenda Experimental de Maria de Maria da Fé – Epamig. Com a utilização do trado tipo Holandês (Figura 19A), foram coletadas 25 amostras simples para 1 amostra composta (Figura 19B), todas obtidas na área do coroamento das oliveiras, priorizando a porção do solo que sofre influência da rizosfera, na

profundidade de 0 a 20 cm. A amostra foi encaminhada ao Laboratório Agronômico da Unital, Campinas-SP, para a realização da análise de macro e micronutrientes, além de atributos físicos como a granulometria, densidade parente e densidade real.

As amostras foram analisadas conforme as seguintes metodologias: o material coletado foi seco ao ar, na sombra e peneirado com malha 2 mm (terra fina seca ao ar – TFSA); pH diluído em água com posterior leitura utilizando pHmetro; a quantificação do Carbono orgânico e Matéria Orgânica foi realizada pelo Método de Walkley e Black (WALKLEY; BLACK, 1934); Ca, Mg e Al titulados pelo Método KCL 1 mol/L (ABREU; MURAOKA; LAVORANTE, 2003); Cu, Fe, K, Mn, P e Zn titulados pelo Método Mehlich-1 (MEHLICH, 1953); S titulado pelo Método Hoeft (HOEFT; WALSH; KEENEY, 1973); B titulado pelo Método da água quente (RAIJ et al., 2001). A análise granulométrica foi processada conforme o Manual de Métodos de análise de Solo da Embrapa (2017), assim como a densidade aparente, obtida pelo método da proveta de 100 mL, e a densidade real, pelo método do balão volumétrico.

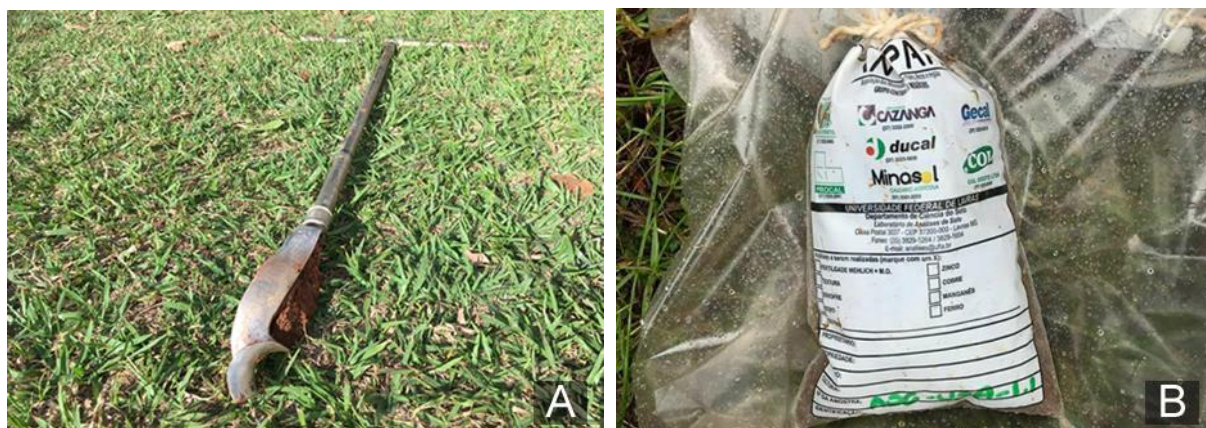


Figura 19 - Coleta e armazenamento das amostras de solo rizosférico. A) Trato tipo holandês empregado para coleta das amostras de solo/rizosfera; B) Armazenamento da amostra de solo composta.

Fonte: o autor.

4.9 Análises estatísticas

Para cada variável/atributo foi realizado o teste de Shapiro Wilk a 5% de probabilidade para verificar o pressuposto de normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto da normalidade, aplicou-se a transformação $\sqrt{x+1}$ (STORCK et al., 2016).

Posteriormente, realizou-se a análise de variância (ANOVA) para verificar diferenças entre as fontes de variação avaliadas (níveis dos fatores das variedades de oliveira). Foi utilizada a comparação entre médias pelo teste Skott e Knott a 5%

de probabilidade, para os atributos que apresentaram significância. Para estas análises utilizou-se o *software* Sisvar (FERREIRA, 2008).

Para avaliar a interação entre as variáveis, com as médias de todos os atributos obtidos entre todas as cultivares de oliveira, foi feita a análise de correlação de Pearson pelo *software* Excel®, sendo os valores considerados significativos de acordo com Triola (2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de facilitar a compreensão dos dados obtidos, os resultados serão subdivididos em tópicos e distribuídos nos seguintes temas: umidade das amostras, intensidade de colonização radicular, densidade e diversidade de esporos de FMAs, comprimento do micélio extrarradicular total e interpretação da análise química e física do solo que influencia os aspectos micorrízicos.

5.1 Umidade das amostras

As amostras do solo rizosférico, representando as 17 variedades do experimento, foram analisadas quanto à sua umidade no Laboratório de Solos da Unifei, conforme descrito no item 4.3. Os resultados desta análise estão apresentados na Figura 20.

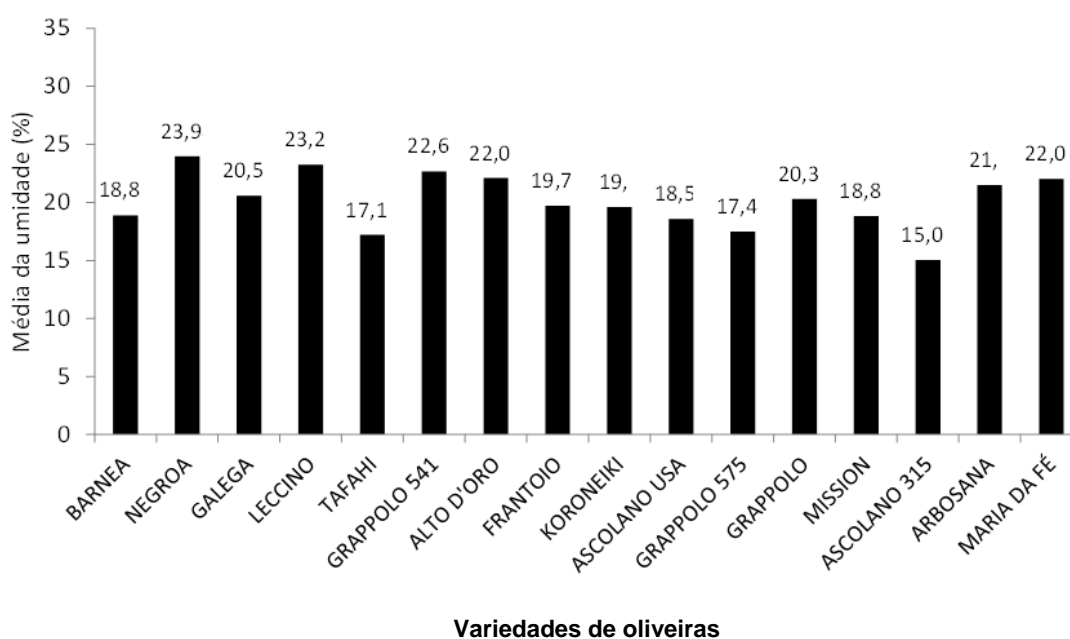


Figura 20 - Umidade presente nas amostras de solo rizosférico das variedades de oliveira. Fonte: o autor.

Os resultados da umidade das amostras evidenciam uma baixa disponibilidade de água no solo, provavelmente devido à queda na precipitação durante o período de coleta das amostras, realizado no mês de maio e confirmado pelos dados de temperatura e precipitação apresentados na Figura 10.

A variação da umidade do solo entre as amostras está ligada à prática agrícola adotada no banco de germoplasma, onde há diferenças da cobertura

vegetal na área do coroamento das oliveiras. Contudo, os dados evidenciam uma baixa taxa de variação (15,0 a 23,9%), conforme apresentado na Figura 20.

É correto afirmar que os FMAs sofrem influência na alternância da umidade do solo e que a sua taxa de colonização varia conforme os períodos do ano, tendo as comunidades de fungos maior preferência pelos períodos chuvosos em que se tem uma maior umidade no solo (PEREIRA, 2000; ASSIS Jr. et al., 2003; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MELZ; TIAGO, 2009).

Guadarrama e Alvarez-Sánchez (1999) sugeriram que a umidade favorece a germinação dos esporos, proporcionando alta colonização e reduzida produção de esporos. Ademais, tem-se que o crescimento das raízes das plantas ocorre continuamente ao longo do ano, porém, a disponibilidade de nutrientes e as condições de umidade do solo interferem na sua proliferação. Taiz e Zeiger (2009) verificaram que as condições de deficiência hídrica induziram a suberificação das paredes das células do parênquima cortical mais periférico, dificultando a entrada dos fungos, reduzindo, assim, as possibilidades de colonização micorrízica.

A melhor relação de simbiose entre microrganismos em raízes ocorre em umidade entre 60 a 70% da capacidade máxima de retenção de água do solo, como descrito por Cattelan e Vidor (1990). No entanto, não foi determinada essa capacidade nas amostras de solo analisadas.

5.2 Análise química e física do solo rizosférico

A interpretação dos dados químicos e físicos baseou-se na 5ª Aproximação – Recomendações para o Uso de Corretivos e Fertilidade de Minas Gerais (CFSEMG, 1999) e no livro Fertilidade do Solo (NOVAIS et al., 2007). O resultado e a interpretação das amostras são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados e interpretação dos atributos químicos e físicos do solo rizosférico.**Macronutrientes**

	Resultado	Unidades	Interpretação*
P	52	mg/dm ³	Muito bom
K	113,39	mg/dm ³	Bom
Ca	4,2	cmol/dm ³	Muito bom
Mg	0,9	cmol/dm ³	Muito bom
Ca/Mg	4,7	-	Médio

Micronutrientes

	Resultado	Unidades	Interpretação
S	14,2	mg/dm ³	Muito bom
B	0,3	mg/dm ³	Muito baixo
Fe	42,0	mg/dm ³	Bom
Mn	7,5	mg/dm ³	Médio
Cu	9,5	mg/dm ³	Alto
Zn	12,0	mg/dm ³	Alto

Granulometria

	Resultado	Unidades	Interpretação
Cascalho	0	%	Muito bom
Areia Grossa	11,8	%	Bom

Macronutrientes: Fósforo (P); Potássio (K); Cálcio (Ca); Magnésio (Mg); Relação Cálcio e Magnésio (Ca/Mg). Micronutrientes: Enxofre (S); Boro (B); Ferro (Fe); Manganês (Mn); Cobre (Cu); Zinco (Zn). Granulometria: Cascalho; Areia Grossa; Areia Fina; Argila; Silte; Densidade Aparente; Densidade Real; Classe textural. Outros: pH; Acidez Potencial (H+Al); Matéria Orgânica (MO); Soma de Bases Trocáveis (SB); Capacidade de Troca Catiônica a pH 7 (T); Índice de Saturação de Bases (V); Carbono (C).

Fonte: o autor.

Areia Fina	8,5	%	Muito bom
Argila	58,3	%	Muito bom
Silte	21,4	%	-
Densidade Aparente	1,0	-	-
Densidade Real	3,1	-	-
Classe Textural	Argila	-	Solo Tipo 3**

Parâmetros Gerais

	Resultado	Unidades	Interpretação
C	2,1	dag/kg	Médio
MO	3,6	dag/kg	Médio
SB	5,39	cmol/dm ³	Bom
T	9,39	cmol/dm ³	Bom
V	57,40	%	Médio
pH	5,5	H ₂ O	Médio

* Interpretação realizada com base na 5^o Aproximação – Recomendações para o Uso de Corretivos e Fertilidade de Minas Gerais (CFSEMG, 1999) e no livro Fertilidade do Solo (NOVAIS et al., 2007).

** Solo com alta porcentagem de argila. Solo argiloso (KER et al., 2015).

Com exceção do micronutriente boro, a amostra apresentou bons níveis de macro e micronutrientes na porção do solo rizosférico. Estes fatores positivos contribuem para melhor relação solo-planta, beneficiando diretamente os microrganismos presentes na rizosfera, porém, a sua resposta encontra variação quanto à faixa preferencial de fertilidade por FMAs (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os valores presentes na amostra sugerem ações de fertilização e correção do solo, principalmente nos resultados referentes ao fósforo, potássio e valor de pH. É importante destacar que em áreas agrícolas, que passaram por intervenções antrópicas com adição ou remoção de nutrientes, podem promover efeitos negativos nos microrganismos (RAMOS et al., 2012), principalmente quando comparados a áreas que não sofreram interferência humana (PEREZ; RAMOS; MCMANUS, 2004). Contudo, a diversidade e densidade variam conforme as espécies vegetais e FMAs, a exemplo de áreas de pastagem, onde espera-se encontrar maior incidência de FMAs e relação às áreas com menor incidência, como monoculturas de milho e soja (FERREIRA; CARNEIRO; SAGGIN Jr., 2012).

Segundo Moreira e Siqueira (2006), as condições elevadas de fertilidade podem inibir a presença de micorrizas, enquanto a baixa fertilidade favorece a presença dos FMAs. Como principal macronutriente ligado aos FMAs, o fósforo, quando em excesso, reduz a colonização micorrízica, principalmente no período inicial pós correção do solo. O valor do fósforo presente nas amostras do presente trabalho encontra-se na faixa ideal de absorção, já os micronutrientes Zn e Cu estão elevados e podem estar causando interferência direta sobre os propágulos de FMAs, podendo afetar o processo de micorrização devido à sua elevada sensibilidade (TRINDADE; SIQUEIRA; ALMEIDA, 2000).

O valor de pH do solo encontrado de 5,5 encontra-se dentro da faixa de variação de pH de 3 a 10 que favorece a micorrização, conforme apresentado por Moreira e Siqueira (2006). Borba e Amorim (2007) observaram que um valor medianamente tóxico do pH das amostras pode influenciar nas relações micorrízicas em determinadas espécies de FMAs que preferem uma faixa mais ácida, como o gênero *Glomus*. No entanto, podem ser encontrados outros gêneros, mas com menor frequência como *Gigaspora* e *Scutellospora* (CAMARA et al., 2016).

A classe textural presente na amostra evidencia um solo com uma porcentagem alta de argila, sendo classificado como Solo Tipo 3 (KER et al., 2015). Este solo possui grande capacidade de agregação devido à sua elevada superfície

específica, que favorece a adsorção de água e outras substâncias. As raízes das oliveiras estão mais adaptadas e possuem melhor desenvolvimento no Solo Tipo 2, que possui características de textura média (COUTINHO; RIBEIRO; CAPPELLARO, 2009), com teor de argila menor do que 15%, boa drenagem e índice médio de erodibilidade. Carrenho et al. (2007) comprovaram que solos de diferentes texturas refletem diretamente no potencial micotrófico das plantas, alterando significativamente a porcentagem de colonização micorrízica das raízes. Por outro lado, Mergulhão et al. (2001) demonstraram que a inoculação com FMAs em solos argilosos promoveu melhor resposta quanto ao teor de nitrogênio e fósforo na parte aérea das plantas do que em solos arenosos.

5.3 Intensidade de colonização radicular

Para o cálculo da intensidade de colonização radicular por FMAs foram atribuídas notas de 0 a 100 a cada um dos 10 segmentos das raízes de 51 amostras (3 repetições) representando as 17 variedades de oliveiras do banco de germoplasma da FEMF-Epamig analisadas (Figura 21).

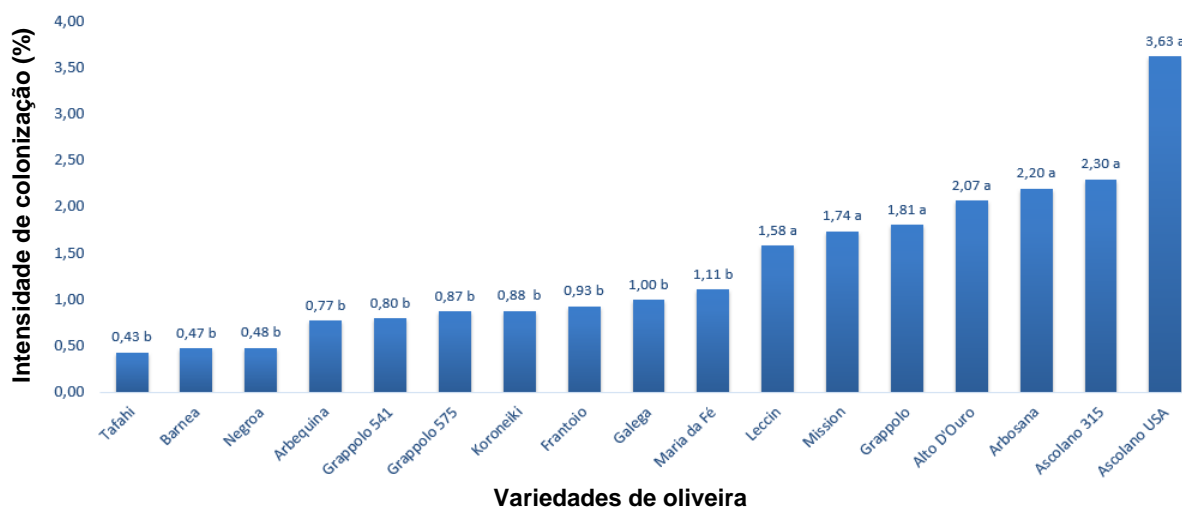


Figura 21 - Intensidade de colonização radicular por FMAs (%) em amostra de raízes das variedades de oliveira na FEMF-Epamig.

Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott, a 5% de significância.

Fonte: o autor.

A taxa de colonização radicular *in situ* variou de 0,43% a 3,63%, com efeito significativo das variedades de oliveira. Observou-se a formação de dois grupos,

sendo o de maior valor representado pela variedade Ascolano USA e o de menor pela variedade Tafahi.

Conforme mencionado no item 5.2, de modo geral, a associação micorrízica é favorecida quando se observam baixos níveis de disponibilidade de nutrientes, notadamente baixos teores de fósforo que estimulam a atuação destes fungos no sistema solo-planta. Neste sentido, observa-se o antagonismo causado pelo excesso desse elemento no solo e na planta, onde quanto mais alto for sua concentração no solo, menor será a intensidade de colonização radicular, o que corrobora os dados obtidos no presente trabalho, visto que a área de estudo estava sob efeito de adubação. Nogueira e Cardoso (2000) observaram uma relação negativa da colonização radicular com o incremento das doses de P nos tratamentos com FMAs na cultura da soja. Apesar de ainda não estar estabelecido o mecanismo de tal inibição, discute-se que esse comportamento possa estar baseado em fenômenos bioquímicos e fisiológicos das plantas (MOHAN et al., 2014; RUY, 2015).

Ademais, o valor da colonização radicular por FMAs em campo é considerado baixo quando comparado a experimentos com inoculação realizados em ambientes controlados (CÓRDOBA; MENDONÇA; ARAÚJO, 2002; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; VIEIRA; MELLONI; VIEIRA NETO, 2011). Os trabalhos realizados em casa de vegetação apresentam controle dos fatores bióticos e abióticos de modo a favorecer o melhor desenvolvimento dos FMAs e possibilitar que as variáveis em estudo não sofram a interferência destes fatores, favorecendo a formação de micorriza.

Nesse sentido, em condições controladas, ao avaliar a influência dos FMAs sob o controle de nematoides em condições controladas, Castilho et al. (2006) observaram um índice de colonização variando entre 78% a 94,6% para as variedades Arbequina e Picual, quando inoculadas com os FMAs *Glomus mosseae*, *G. intraradices* e *G. viscosum*. No entanto, resultados obtidos por Costa (2018), com a inoculação de três espécies de FMAs (*Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus*) em estacas semi-lenhosas na produção de mudas de oliveira no Brasil, variaram entre 11,2% a 22%, os quais, apesar de baixos, promoveram efeito diferenciado no crescimento e desenvolvimento de mudas das variedades Arbequina, Maria da Fé e Grappolo 541.

Melo, Silva e Yano-Melo (2016) também observaram baixos valores (13,7% a 2,3%) para a colonização radicular em cinco variedades de *Citrus* e consideraram

que tais resultados podem estar relacionados com as condições do solo (baixa fertilidade), bem como ser decorrente da composição da comunidade de FMAs presentes na rizosfera de cada variedade avaliada.

5.4 Densidade e diversidade de esporos

A densidade de esporos na rizosfera das dezessete variedades de oliveiras analisadas é apresentada na Figura 22. O teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade não revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as variedades. No entanto, verificou-se que as variedades Mission (78,3 esporos/50g de solo rizosférico) e Koroneiki (80,3 esporos/50g de solo rizosférico) promoveram maior esporulação na rizosfera do que as demais variedades, como, por exemplo, Grappolo 541 (13,6 esporos/50g de solo rizosférico).

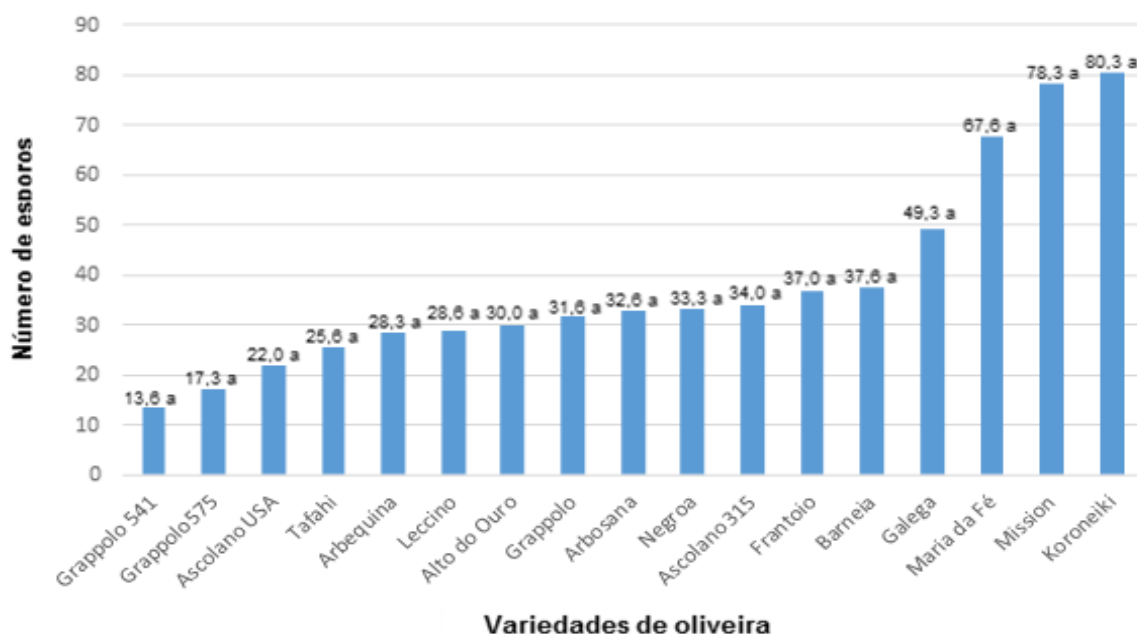


Figura 22 - Densidade de esporos (número por 50g de solo) obtidos na rizosfera das diferentes variedades de oliveira. CV: 35,11%. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade. Fonte: o autor.

Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) observaram baixa densidade de esporos ao analisar, em amostras de solo de campo, sete variedades de oliveiras, com número médio de esporos por 50 g de solo variando de 12,01 na variedade Arbequina a 29,55 em Ascolano 315.

A avaliação do estado micorrízico das raízes de oliveiras marroquinas realizada por Kachkouch et al. (2012) revelou que a densidade de esporos variou de 36 a 165 esporos/100 g de amostra de solo, ou de 18 a 83 esporos/50 g de

amostra de solo, valores muito próximos aos obtidos no presente estudo. Os autores atribuíram a variação no número de esporos ao processo de formação de esporos, sua germinação e degradação, além da dependência às variações microclimáticas, às propriedades físico-químicas dos solos e à estação de amostragem.

Apesar de não ser em oliveira, Belay, Vestberg e Assefa (2013) reforçam que a densidade de esporos pode ser influenciada por fatores do solo, como disponibilidade de P e textura do solo. Estes pesquisadores avaliaram amostras de raízes e solo rizosférico de nove espécies de acácia na Etiópia e encontraram que os solos de rizosfera abrigavam esporos de FMAs variando de 3,7 esporos g⁻¹ de solo em *A. nilotica* (ou seja, 185 esporos por 50 g) até 15,0 esporos g⁻¹ em *A. seyal* em campo de pastoreio aberto (ou seja, 750 esporos por 50 g de amostra de solo), valores muito superiores aos obtidos em oliveira.

Os esporos observados nas variedades analisadas pertenciam a 3 gêneros: *Glomus*, *Acaulospora* e *Gigaspora*. Uma análise detalhada das características morfológicas (Quadro 1) revelou a presença de cinco espécies, sendo quatro identificadas:

Quadro 1 - Características morfológicas dos esporos identificados.

<i>Glomus glomerulatum</i>	Os esporos apresentam diâmetro de 50-70 µm, coloração amarelo dourado e duas camadas de parede, sendo uma evanescente, hialina e a outra amarelada com 7 µm de espessura (SIEVERDING, 1987) (Figura 23A).
<i>Glomus ambisporum</i>	Esporos produzidos exclusivamente em esporocarpos ou agregados em torno de raízes, predominantemente globosos, com diâmetro variando de 85-157 µm e três camadas de parede, onde a camada externa é sub hialina, estendendo-se por toda a extensão da ligação da hifa ao centro do esporocarpo. Tem uma superfície reticulada descrita como consistindo de um arranjo ordenado de placas hexagonais (SMITH; SCHENCK, 1985) (Figura 23B).

<i>Acaulospora scrobiculata</i>	Os esporos apresentam diâmetro de 80-160 μm , três camadas de parede, sendo a exterior contínua com a parede do pescoço do sáculo esporífero pai e as demais sintetizadas com a origem do esporo. Os esporos são globosos, subglobosos e ocasionalmente irregulares com coloração amarelo pálido, mas há alguns mais escuros de coloração palha (SPAIN, 1992) (Figura 23C).
<i>Acaulospora denticulata</i>	Os esporos apresentam diâmetro variando de 120-180 μm , três camadas de parede, sendo a externa contínua com a parede do pescoço do sáculo esporífero e as demais sintetizadas assim que a parede do esporo começa a se formar. Os esporos são globosos ou subglobosos, com coloração marrom-laranja pálido a marrom-laranja escuro (SIEVERDING; TORO, 1987) (Figura 23D).
<i>Gigaspora</i> sp.	O gênero <i>Gigaspora</i> é caracterizado por esporos que crescem individualmente a partir do esporógeno células do bulbo formadas na ponta das hifas férteis (KOSKE; WALKER, 1985). Este gênero foi representado por uma única espécie não identificada: <i>Gigaspora</i> sp. (Figura 23E).

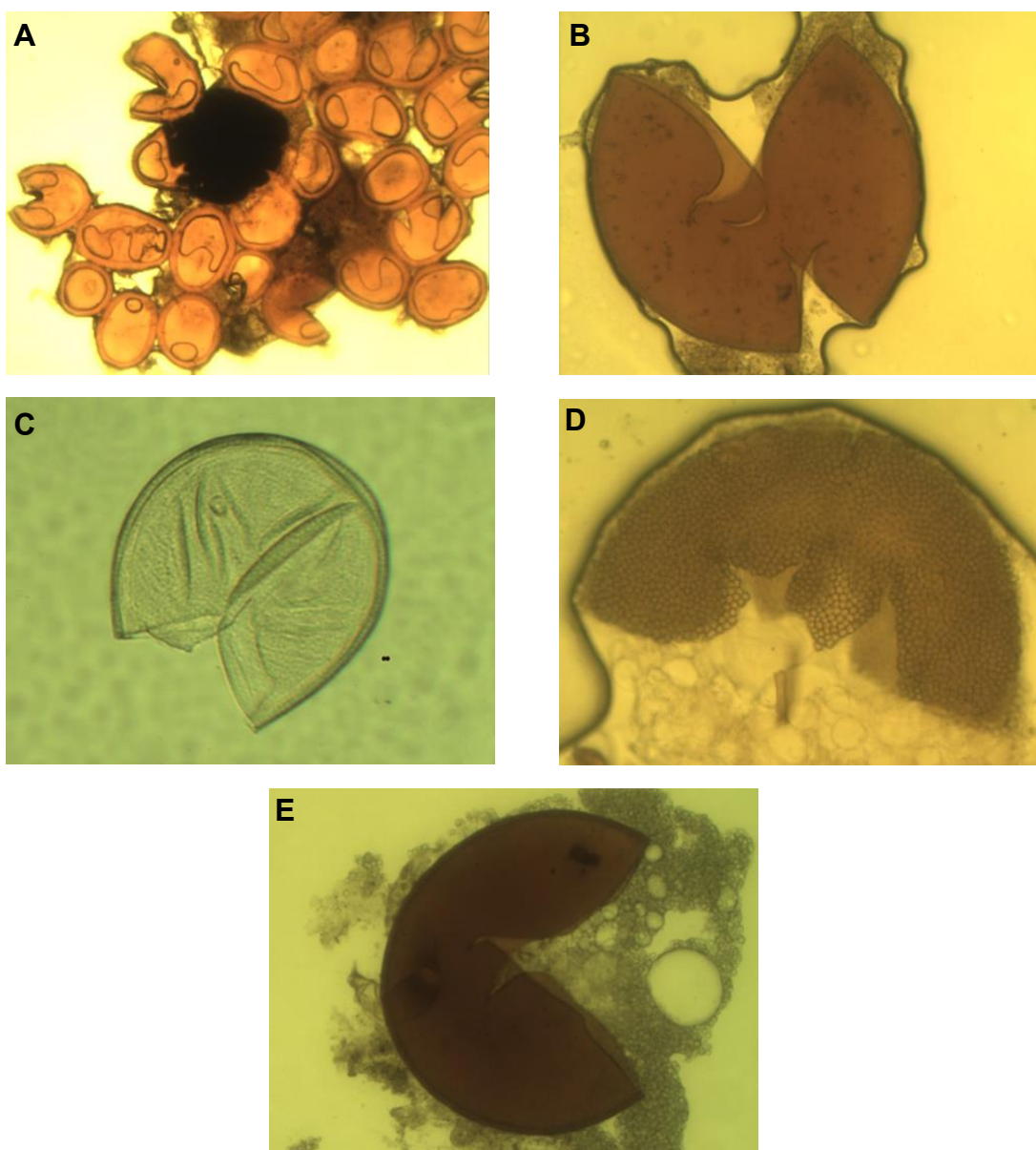


Figura 23- Esporos de fungos micorrízicos arbusculares isolados da rizosfera das variedades de oliveira analisadas. A) *Glomus glomerulatum*; B) *Glomus ambisporum*; C) *Acaulospora scrobiculata*; D) *Acaulospora denticulata*; E) *Gigaspora* sp.
Fonte: o autor.

As espécies *Glomus ambisporum* e *Acaulospora scrobiculata* foram encontradas nos solos rizosféricos de todas as variedades analisadas, conforme apresentado na Figura 24. *Glomus ambisporum* foi observada com maior frequência em todas as variedades, com exceção das variedades Galega (Figura 24H) e Grappolo 541 (Figura 24J) em que predominaram as espécies *Glomus glomerulatum* e *Acaulospora scrobiculata*, respectivamente. A espécie *Acaulospora denticulata* foi identificada apenas nas variedades Arbosana (Figura 24C), Ascolana

315 (Figura 24D) e Grappolo 575 (Figura 24K). Com exceção das variedades Ascolana USA (Figura 24E), Grappolo 575 (Figura 24K) e Tafahi (Figura 24Q), as demais variedades de oliveiras analisadas apresentaram os mais baixos valores de densidade de esporos da espécie *Gigaspora* sp.

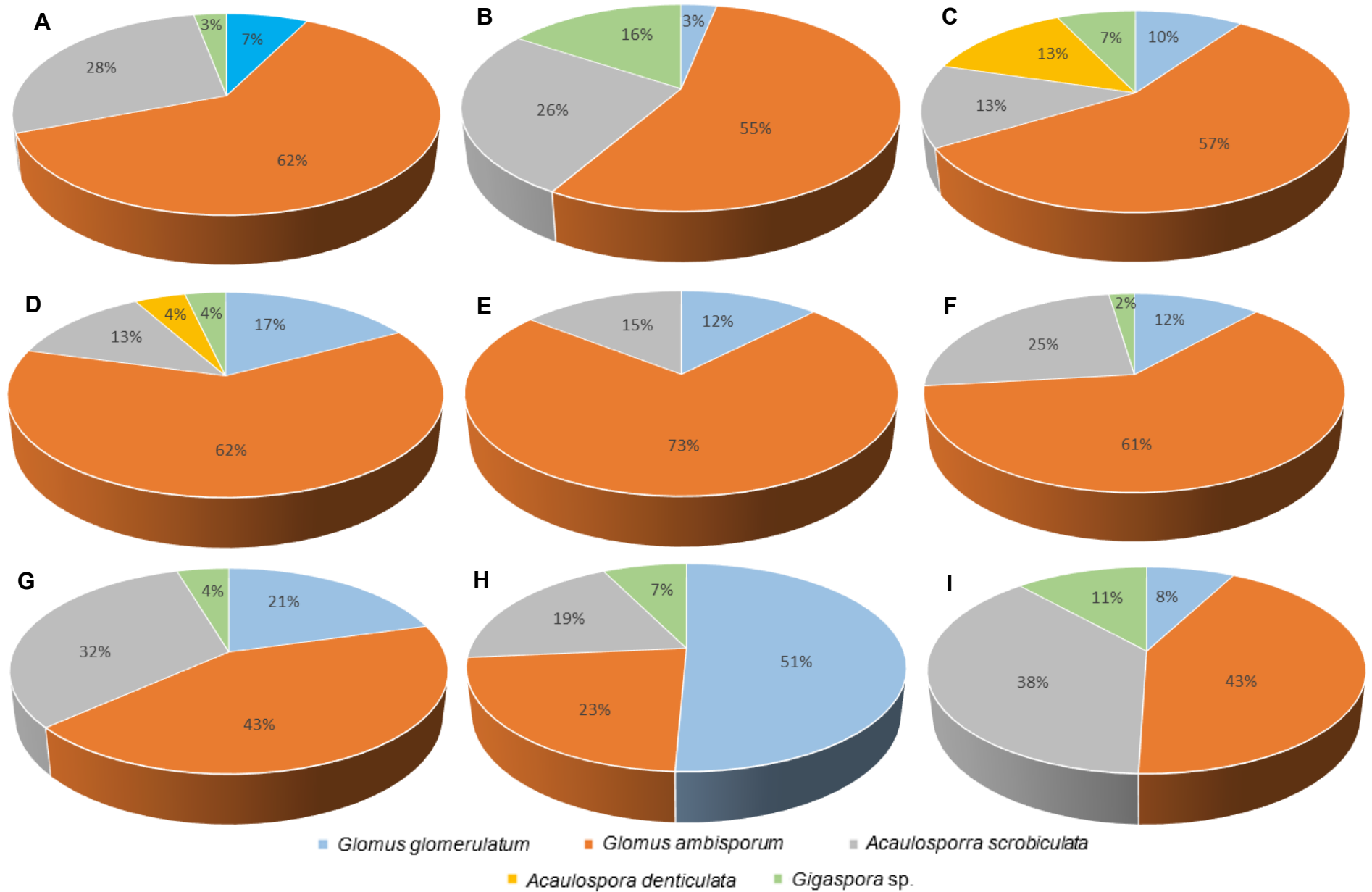


Figura 24- Densidade de esporos por espécies de FMAs obtidos da rizosfera das diferentes variedades de oliveira. A) Alto do Ouro; B) Arbequina; C) Arbosana; D) Ascolano 315; E) Ascolano USA; F) Barneia; G) Frantoio; H) Galega; I) Grappolo.
Fonte: o autor.

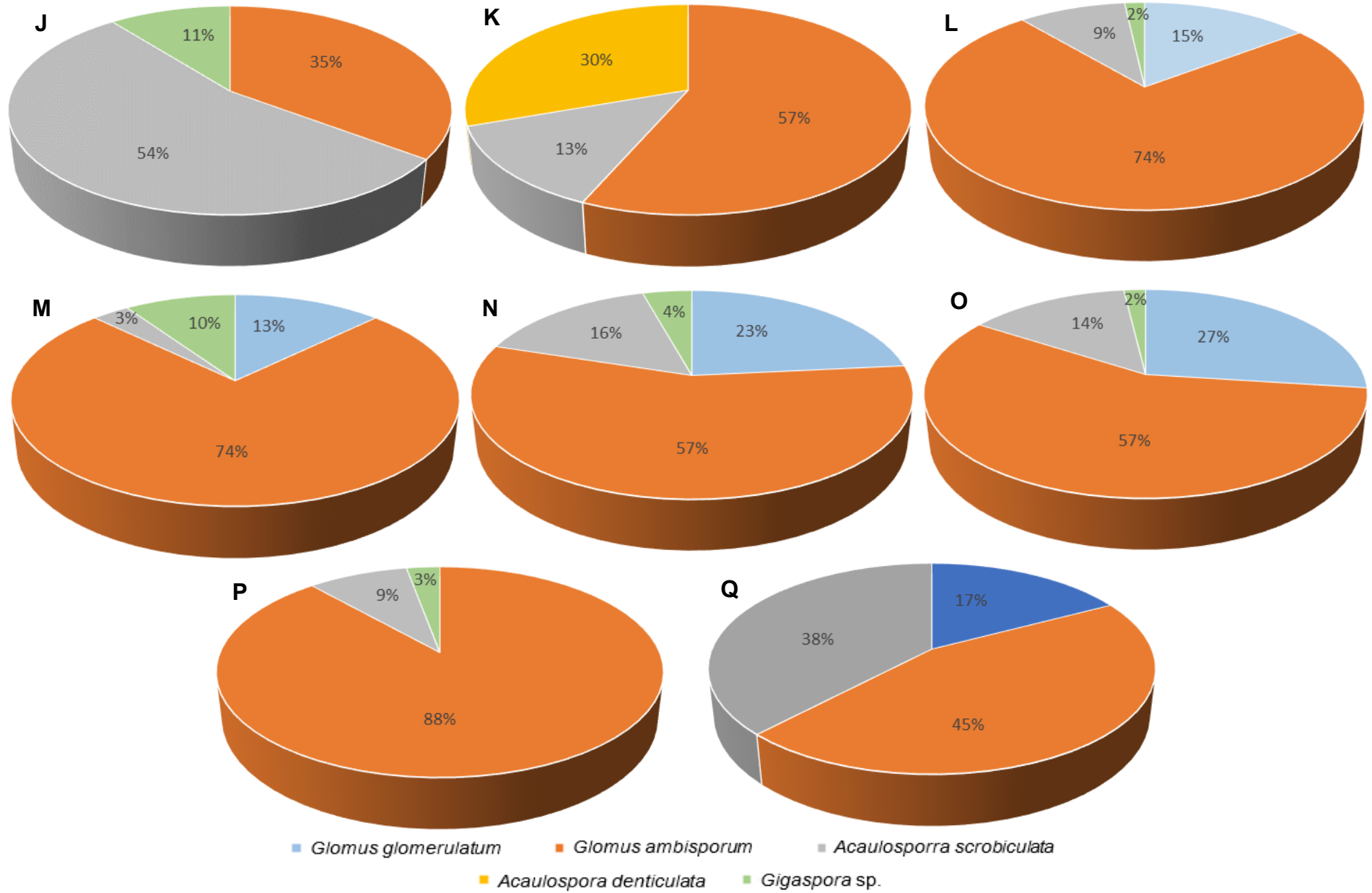


Figura 24- Continuação. J) Grappolo 541; K) Grappolo 575; L) Koroneiki; M) Leccino; N) Maria da Fé; O) Mission; P) Negrao; Q) Tafahi. Fonte: o autor.

Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) também identificaram a espécie *Acaulospora scrobiculata* em todas as variedades analisadas. No entanto, além de ter sido identificada a espécie *Acaulospora denticulata* nas variedades Grappolo 575 e Ascolana 315, os pesquisadores também a identificaram nas variedades Arbequina, Grappolo 541, Leccino e Maria da Fé analisadas no presente trabalho. Ademais, estes pesquisadores não identificaram a espécie *Glomus glomerulatum* que se mostrou dominante na maioria das variedades analisadas atualmente. Esta divergência de resultados pode estar relacionada à análise de diferentes exemplares de oliveiras avaliadas nos dois estudos ou às variações edafoclimáticas ao longo do tempo (MELZ; TIAGO, 2009; CARDOSO et al., 2010; BOROWICZ, 2010).

O gênero *Glomus* também mostrou-se dominante no solo rizosférico das oliveiras cultivadas em Marrocos (KACHKOUCH et al., 2012; Sghir et al., 2013). Avaliando a diversidade natural de FMAs de oliveiras cultivadas em outras regiões do Marrocos, Kachkouch et al. (2014) observaram que os esporos isolados pertenceram a quatro gêneros (*Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* e *Entrophospora*). Os autores reforçaram a importância do estudo da diversidade de FMAs na rizosfera de oliveiras como uma iniciativa para o desenvolvimento de inoculantes adequados para uso nos viveiros, buscando a obtenção de plantas mais robustas e resistentes a patógenos e estresse hídrico após o transplântio.

Costa et al. (2007) destacaram a importância do conhecimento da diversidade, função e das interações das populações de FMAs com o meio abiótico para explicar o crescimento de plantas micorrizadas. A partir de tais conhecimentos é possível inferir a respeito de aspectos relacionados à sobrevivência e persistência das espécies de FMAs na rizosfera, permitindo-se, assim, avaliar os potenciais efeitos benéficos da simbiose e dos impactos do manejo agrícola e ambiental aplicado nas culturas de interesse.

A análise do índice de diversidade de Shannon-Weaver, aplicada às espécies obtidas por meio de esporos (Figura 25), não revelou diferenças estatisticamente significativas entre as variedades, com valor médio de 0,75. A variedade Negrao apresentou a menor diversidade de FMAs que está relacionada à baixa presença das espécies *Acaulospora scrobiculata* (9%) e *Gigaspora* sp. (3%) em contrapartida à grande dominância da espécie *Glomus ambisporum* (88%), conforme evidenciado na Figura 24P. Esta menor diversidade pode ter comprometido a micorrização desta variedade que apresentou uma baixa taxa de

colonização radicular (Figura 21). Houve correlação positiva e significativa entre intensidade de colonização e índice de diversidade, a qual será apresentada posteriormente.

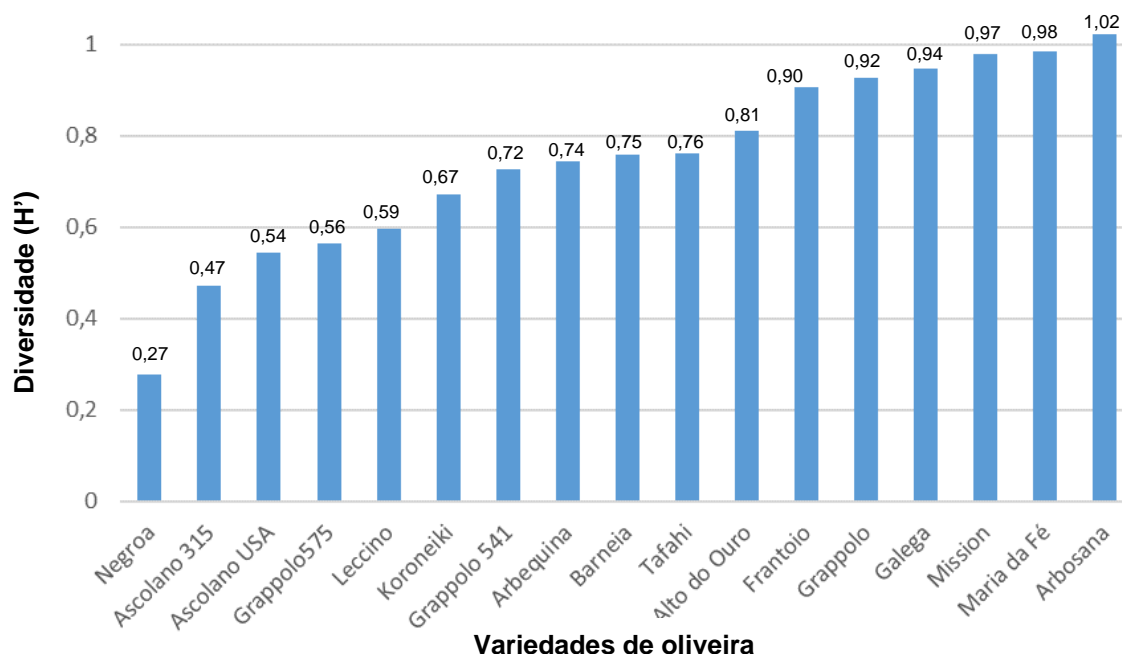


Figura 25- Índice de diversidade de Shannon-Weaver (H'), calculado em função das espécies de FMAs obtidas da rizosfera das diferentes variedades de oliveira.

CV: 32,05%. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: o autor.

Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) também observaram baixos valores de índice de diversidade. No entanto, a variedade que apresentou menor diversidade naquele estudo foi Grappolo 575, cujo valor de H' foi de 1,05 sendo maior que o valor obtido no presente estudo (0,56) para essa cultivar, que também evidenciou a ausência da espécie *Gigaspora* sp. e a dominância do gênero *Acaulospora* e *Glomus*.

5.5 Micélio extrarradicular total

Verificou-se diferença significativa entre as cultivares de oliveira, com relação ao MET (Figura 26), formando três grupos distintos. A variedade Ascolano 315 apresentou o maior comprimento de micélio total ($5,51 \text{ m g}^{-1}$ de solo seco) comparado às demais variedades, formando um grupo único. Um segundo grupo com as variedades Alto do Ouro, Ascolano USA, Frantoio, Koroneiki, Leccino, Maria da Fé e Mission apresentou valores intermediários, que variaram de 3,29 a 4,30 m

g^{-1} de solo seco, enquanto o terceiro grupo com as demais variedades com os menores comprimentos, que variaram de 0,83 a 2,99 m g^{-1} de solo seco.

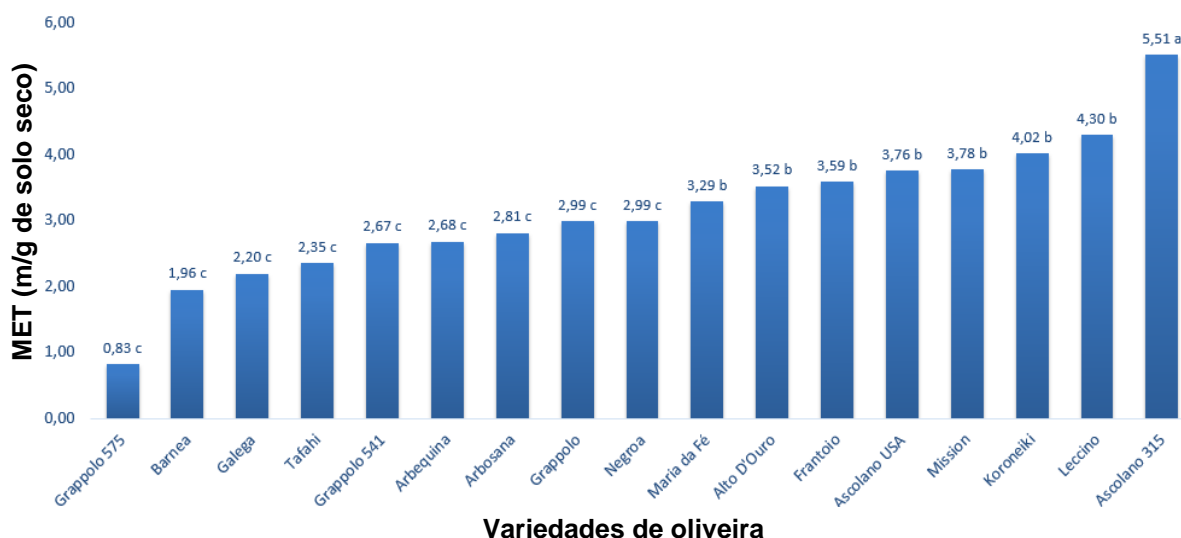


Figura 26 – Valores médios do comprimento do micélio extrarradicular total em amostras de solo rizosférico de diferentes variedades de oliveira do banco de germoplasma da FEMF – Epamig. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de significância. Fonte: o autor.

O maior comprimento do MET observado na variedade Ascolano 315 pode indicar maior dependência da associação micorrízica para o seu desenvolvimento e nutrição fosfatada e nitrogenada, conforme sugerido por Balota et al. (1997) ao analisar valores elevados de MET em cultivos de mandioca. Ademais, Machineski, Balota e Souza (2011) discutiram que esta maior dependência pode ter contribuído para um maior desenvolvimento do micélio extrarradicular dos FMAs que atuam como extensões do sistema radicular, elevando a área de exploração das raízes nos solos.

Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) não observaram diferença entre os valores de MET para as sete variedades de oliveiras cultivadas em campo, além de verificarem uma menor variação de comprimento (2,4 a 3,7 m g^{-1} de solo seco). Esta diferença pode ser explicada por efeitos de sazonalidade, onde Melloni et al. (2011) discutiram que no verão ocorre um melhor desenvolvimento das raízes devido ao aumento da mineralização de matéria orgânica e disponibilização de nutrientes às plantas e microrganismos. Neste sentido, as colonizações intra e extrarradiculares podem ser comprometidas, resultando em um impacto negativo às estruturas fúngicas como o micélio extrarradicular. Adicionalmente, a utilização das hifas fúngicas como fonte de carbono e energia por outros organismos do solo

pode reduzir o comprimento de micélio nas diferentes estações. No entanto, isso não foi averiguado no presente trabalho.

5.6 Análise de correlação entre as variáveis

A análise de correlação de Pearson entre as variáveis estudadas (Tabela 2), considerando todas as variedades de oliveiras juntas, indicou relação positiva significativa para os atributos microbiológicos micélio extrarradicular total, intensidade de colonização radicular, densidade de esporos, índice de diversidade de espécies e densidade de esporos das espécies *Glomus ambisporum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus* sp.

Verificou-se que a intensidade de colonização radicular se relacionou positivamente com o índice de diversidade de espécies, ou seja, quanto maior a diversidade, maior a intensidade de colonização. Os valores para a densidade de esporos também apresentaram correlação positiva com as variáveis índice de diversidade de espécies e as espécies *Glomus glomerulatum*, *Glomus ambisporum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora* sp., evidenciando que quanto maior a densidade observada na rizosfera, maior a diversidade das espécies, e vice-versa. O índice de diversidade de espécies apresentou valores significativos para as espécies *Glomus glomerulatum*, *Glomus ambisporum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora* sp.

A correlação entre as espécies de fungos foi significativa para *Glomus glomerulatum* com *Glomus ambisporum* e *Gigaspora* sp. Outra correlação significativa foi observada entre *Glomus ambisporum* e *Acaulospora scrobiculata*. Correlação positiva foi encontrada entre as espécies *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora* sp.

As espécies *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora* sp. correlacionaram-se com o maior número de variáveis (MET, densidade de esporos, densidade de esporos por espécie, densidade de esporos de *Glomus glomerulatum*), seguidas por *Glomus ambisporum* e *Glomus glomerulatum* em menor nível de significância.

Não se observou correlação significativa entre os macronutrientes P, K, Ca, Mg e S e as demais variáveis, ou seja, a fertilidade do solo apresentou pouca ou nenhuma influência no micotrofismo ou formação de propágulos de FMAs pelas variedades de oliveira analisadas no presente trabalho. Esse resultado diverge daqueles obtidos por Miller, Domoto e Walker (1985), Habte, Muruleedhara e Ikawa

(1993) e Ishii et al. (1999) que relataram o teor de fósforo no solo como um fator determinante para a instalação e desenvolvimento dos FMAs. Mais especificamente referente às oliveiras, Kachkouch et al. (2012) observaram maiores intensidades micorrízicas em baixas concentrações de fósforo nos olivais marroquinos. No Brasil, ainda não há estudos sobre o efeito do P na formação de micorriza em oliveira, tanto em condições controladas quanto em condições de campo.

No entanto, apesar dos efeitos generalizados discutidos anteriormente, sugerem-se novas análises de correlação, considerando isoladamente cada variedade de oliveira e seus respectivos atributos. Isso se deve pelo fato da observação, ao longo dessa dissertação, do efeito diferenciado de cada variedade de oliveira na formação de micorriza e seus propágulos.

Quadro 2 - Matriz de correlação de Pearson para as variedades de oliveira.

	MET	ICR	DESP	IDE	DEGg	DEGa	DEAs	DEAd	DEGs	P	K	Ca	MG	S
MET														
ICR	0,7364**													
DESP	0,6925**	0,37												
IDE	0,6733**	0,5397*	0,7324**											
DEGg	0,4001	0,2197	0,7529**	0,5573*										
DEGa	0,7492**	0,399	0,9195**	0,5448*	0,5188*									
DEAs	0,5699**	0,302	0,6824**	0,8617**	0,5813**	0,4744*								
DEAd	-0,023	0,21	-0,063	0,1324	-0,132	0,0132	-0,147							
DEGs	0,4883*	0,2817	0,478*	0,6466**	0,4727*	0,3109	0,5524*	-0,063						
P	-0,332	-0,248	-0,277	-0,35	-0,158	-0,26	-0,289	-0,08	-0,216					
K	-0,332	-0,248	-0,277	-0,35	-0,158	-0,26	-0,289	-0,08	-0,216	-0,048				
Ca	-0,332	-0,248	-0,277	-0,35	-0,158	-0,26	-0,289	-0,08	-0,216	-0,048	-0,048			
MG	-0,332	-0,248	-0,277	-0,35	-0,158	-0,26	-0,289	-0,08	-0,216	-0,048	-0,048	-0,048		
S	-0,332	-0,248	-0,277	-0,35	-0,158	-0,26	-0,289	-0,08	-0,216	-0,048	-0,048	-0,048	-0,048	

Fonte: o autor.

MET-Micélio Extrarradicular Total; ICR-Índice de Colonização Radicular; DESP-Densidade de Esporos; IDE-Índice de Diversidade de Espécies; DEGg-Densidade de Esporos *Glomus glomerulatum*; DEGa-Densidade de Esporos *Glomus ambisporum*; DEAs-Densidade de Esporos *Acaulospora scrobiculata*; DEAd-Densidade de Esporos *Acaulospora denticulata*; DEGs-Densidade de Esporos *Glomus* sp.; P-Fósforo; K-Potássio; Ca-Cálcio; Mg-Magnésio; S-Enxofre.

Nota: Valores menores que -0,561 e maiores que 0,561 (**) e menores de -0,444 e maiores que 0,444 (*) mostram correlações negativa e positivas significativas a 1% e 5% respectivamente (TRIOLA, 2008).

6. CONCLUSÕES

Houve efeito diferenciado das variedades de oliveira na formação de micorriza e propágulos. Os valores encontrados para a densidade e diversidade de esporos, embora distintos, não apresentaram diferença estatística, enquanto os valores encontrados para o comprimento do micélio extrarradicular total foram distribuídos em 3 agrupamentos estatísticos entre as variedades avaliadas.

Verificou-se correlação significativa e positiva entre a formação de micorriza com a produção de propágulos de FMAs, considerando a análise conjunta de todas as variedades de oliveira.

7. REFERÊNCIAS

ABREU, C.H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A.F. Exchangeable aluminum evaluation in acid soils. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 543-548, 2003.

ALMEIDA, I.R.; ANTUNES, L.E.C. Necessidades climáticas e influência do clima sobre adaptação, produção e qualidade. In: ANTUNES, L.E.C.; HOFFMANN, A. **Pequenas frutas: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, p. 194, 2012.

ASSIS Jr., S.L.; ZANUNCIO, J.C.; KASUYA, M.C.M.; COUTO, L.; MELIDO, R.C.N. Atividade microbiana do solo em sistemas agroflorestais, monocultura, mata natural e área desmatada. **Revista Árvore**, Belo Horizonte, v. 27, n. 1, p. 35-41, 2003.

BABIKOVA, Z.; GILBERT, L.; BRUCE, T.J.A.; BIRKETT, M.; CAULFIELD, J.C.; WOODCOCK, C.; PICKETT, J.A.; JOHNSON, D. Underground signals carried through common mycelial networks warn neighbouring plants of aphid attack. **Ecology Letters**, France, v. 16, p. 835-843, 2013.

BAGYARAJ, D.J., **Ecology of vesicular–arbuscular mycorrhizae**. In: ARORA, D.K.; RAI, B.; MUKERJI, K.G.; KNUDSEN, G.R. (Eds.) *Handbook of applied micology: soil and plant*. New York, v.1, p.4–34, 1991.

BALOTA, E.L.; LOPES, E.S.; HUNGRIA, M.; DOBEREINER, J. Inoculação de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares na cultura da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 627-639, 1997.

BELAY, Z.; VESTBERG, M.; ASSEFA, F. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi associated with acacia trees from different land use systems in Ethiopia. **African Journal of Microbiology Research**, Nigeria, v. 7, n. 48, p. 5503-5515, 2013.

BENDAVID–VAL, R.; RABINOWITCH, H.D.; KATAN, J.; KAPULNIK, Y. Viability of VA–mycorrhizal fungi following soil solarization and fumigation. **Plant and Soil**, v. 195, p. 185–193, 1997.

BETHLENFALVAY, G.J.; PACOVSKY, R.S.; BROWN, M.S. Measurement of mycorrhizal infection in soybeans. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 45 n. 5, p. 871-875, 1981.

BOMPADRE, M.J.; PÉRGOLA, M.; FERNÁNDEZ BIDONDO, L.; COLOMBO, R.P.; SILVANI, V.A.; PARDO, A.G.; CAMPO, J.A.; GODEAS, A.M. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi capacity to alleviate abiotic stress of olive (*Olea europaea* L.) plants at different transplant conditions. **The Scientific World Journal**, London, v.1, n.1, p. 1-13, 2014.

BORBA, M.F.; AMORIM, S.M.C. Fungos micorrízicos arbusculares em sempre-vivas: subsídio para cultivo e replantio em áreas degradadas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, São Cristovão, v. 7, n. 2, p. 20-27, 2007.

BOROWICZ, V.A. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi on strawberry tolerance to root damage and drought stress. **Pedobiologia**, v. 53, p. 265-270, 2010.

BRUNDRETT, M.C.; ASHWATH, N.; JASPER, D.A. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. I. Propagules of mycorrhizal fungi and soil properties in natural habitats. **Plant Soil**, 184:159-171, 1996.

CABALLERO, J.M. Variedades de oliveira mais plantadas nos principais países produtores do mundo. In: OLIVEIRA, A. F. de. **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. Belo Horizonte: Epamig, Cap. 6, p. 159-192, 2012.

CAMARA, R.; PEREIRA, M.G.; RANIERI, C.F.S.; PAULA, R.R.; SILVA, E.M.R. Fungos micorrízicos arbusculares em dois fragmentos florestais de restinga periodicamente inundável em Marambaia - RJ. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 1, p. 33-42, 2016.

CARDOSO, E.J.B.N.; CARDOSO, I.M.; NOGUEIRA, M.A.; BARETTA, C.R.D.M.; PAULA, A.M. **Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas**. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.de; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, p. 153-21, 2010.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: Esalq, 221 pp., 2016.

CARRENHO, R.; TRUFEM, S.F.B.; BONONI, V.L.R.; SILVA, E.S. The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. **Acta Botanica Brasílica**, Belo Horizonte, v. 21, p. 723-730, 2007.

CASTILHO, P.; NICO, A.L.; AZCÓN-AGUILAR, C.; CALVET, C.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. Protection of olive planting stocks against parasitism of root-knot nematodes by arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant Pathology**, London, v. 55, p. 705-713, 2006.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 14, p. 133-142, 1990.

CFSEMG - COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1999.

CHANDRASEKARAN, M.; BOUGHATTAS, S.; HU, S.; OH, S.H.; SA, T. A meta-analysis of arbuscular mycorrhizal effects on plants grown under salt stress. **Mycorrhiza**, v. 24, p. 611-625, 2014.

CIVANTOS, L. La olivicultura em el mundo y em Españã. In: BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR. R.; RALLO, L. **El cultivo del olivo**. 6. ed. Madrid: Mundi-Prensa: Junta de Andalucía, p. 18-35, 2008.

CÓRDOBA, A.S.; MENDONÇA, M.; ARAÚJO, E.F. Avaliação da diversidade genética de fungos micorrízicos arbusculares em três estádios de estabilização de dunas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 931-937, 2002.

CORRADI, N.; BONFANTE, P. The Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: Origin and Evolution of a Beneficial Plant Infection. **PLoS Pathogens** 8, e1002600, 2012.

COSTA, S.M.L. **Coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de variedades de oliveira (*Olea europaea* L.)**. 2018. 83 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Instituto de Recursos Naturais, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2018.

COUTINHO, E.F.; RIBEIRO, F.C.; CAPPELLARO, T.H. **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 125, 2009.

COUTINHO, E.F.; WREGGE, M.S.; REISSER JÚNIOR, C.; ALMEIDA, I.R. de; STEINMETZ, S. **Cultivo de oliveira (*Olea europaea* L.)**: clima. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

CRUZ, C.; RAMOS, A.; FAÇANHA, A.; FEIJÓ, J.; MARTINS-LOUÇÃO, A.M. **Enzyme activity modulated by AMF colonization**: the urea cycle and membrane-bound phosphatase activities. In: (eds), A.V. (Ed.), *A Text Book of Molecular Biotechnology*. Springer Publishers, p. 563-572, 2009.

CUENCA, G.; HERRERA, R.; MENESES, E. Effects of VA mycorrhiza on the growth of cacao seedlings under nursery conditions in Venezuela. **Plant and Soil**, v. 126, p. 71–78, 1990.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Ed. 3, 2017.

EPAMIG. **Primeira extração do azeite brasileiro completa 10 anos**. Comunicação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Disponível em: <<https://epamig.wordpress.com/2018/03/26/primeira-extracao-do-azeite-brasileiro-completa-10-anos/>> Acesso em: 14 jun. 2018.

EXTENDA - AGENCIA ANDALUZA DE PROMOCIÓN EXTERIOR. Estudio del sector del Aceite de Oliva de Andalucía, p.19-36, 2017.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Symposium**, Recife, v. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, D.A.; CARNEIRO, M.A.C.; SAGGIN JR., O.J. Fungos micorrízicos arbusculares em um latossolo vermelho sob manejos e usos no cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 51-61, 2012.

FILLIPINI ALBA, J.M.; FLORES, C.A.; WREGGE, M.S.; COUTINHO, E.F.; JORGE, R.O. (Ed.). **Zoneamento edafoclimático da olivicultura para o Rio Grande do Sul**. Brasília: Embrapa, p. 80, 2014.

FOLLI-PEREIRA, M.S.; MEIRA-HADDAD, L.S.; BAZZOLLI, D.M.S.; KASUYA, M.C.M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, p. 1663-1679, 2012.

FREITAS, R.E.; MENDONÇA, M.A.A. Expansão agrícola e a participação da soja: 20 anos. **Revista de Economia e Sociologia rural**, Brasília, v. 54, n. 3, p. 497-516, 2016.

GARMENDIA, I.; GOICOECHEA, N.; AGUIRREOLEA, J. Moderate drought influences the effect of arbuscular mycorrhizal fungi as biocontrol agents against *Verticillium*-induced wilt in pepper. **Mycorrhiza**, v. 15, p. 345-356, 2005.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, London, v. 46, p. 235-244, 1963.

GIANINAZZI-PEARSON, V. Plant Cell Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Getting to the Roots of the Symbiosis. **The Plant Cell**, Los Angeles, v. 8, p. 1871-1883, 1996.

GUADARRAMA, P.; ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, F.J. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain Forest, Veracruz, Mexico. **Mycorrhiza**, v. 8, p. 267-270, 1999.

HABTE, M.; MURULEEDHARA, B.N.; IKAWA, H. Response of Neem (*Azadirachta indica*) to soil P concentration. **Arid Soil Research and Rehabilitation**, v. 7, n. 4, p. 327-333, 1993.

HARRISON, M.J. Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Current Opinion in Plant Biology**, Madrid, v. 1, p. 360-365, 1998.

HART, M.M.; READER, R.J. Do arbuscular mycorrhizal fungi recover from soil disturbance differently? **Tropical Ecology**, v. 45, n. 01, p. 97-111, 2004.

HOEFT, R.G.; WALSH, L.M.; KEENEY, D.R. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. **Soil Science Society of American Proceedings**, United States, v. 37, p. 401-404, 1973.

IDOIA, G.; NIEVES, G.; JONE, A. Plant Phenology Influences the Effect of Mycorrhizal Fungi on the Development of *Verticillium*-induced Wilt in Pepper. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 227-238, 2004.

INVAM. **International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi**. 2012. Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

IOC-INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **World Olive Oil Figures**. Madrid, Nov. 2017. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>>. Acesso em: 18 jan. 2019.

ISHII, T.; MATSUMOTO, I.; SHRESTHA, Y.H.; ET KADOY, K. Ecological aspects at vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 68, n. 2, p. 219-227, 1999.

JOHNSON, W.C.; PFLEGER, F.L. Vesicular- arbuscular mycorrhiza and cultura stress. In: THLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. (Ed.) **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Winsconsin: ASA, p.71-99, 1992.

KACHKOUCH, W.; TOUHAMI, A.O.; FILALI-MALTOUF, A.; MODAFAR, C.E.; MOUKHLI, A.; OUKABLI, A.; BENKIRANE, R.; DOUIRA, A. Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of *Olea europaea* L. in Morocco. **Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 15, n. 3, p. 2275-2287, 2012.

KACHKOUCH, W.; TOUATI, J.; TOUHAMI, A.O.; FILALI-MALTOUF, A.; MODAFAR, C.E.; MOUKHLI, A.; OUKABLI, A.; BENKIRANE, R.; DOUIRA, A. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Olea europaea* in three regions of Morocco (Tafilalt, Zagora and Taounate). **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v. 2, n. 5, p. 178-195, 2014.

KER, J.C.; CURI, N.; SCHAEFER C.E.G.R.; TORRADO, P.V. **Pedologia Fundamentos**. Viçosa (MG): SBCS, 2015.

KOSKE, R.E.; WALKER, C. Species of *Gigaspora* (Endogonaceae) with roughened outer walls. **Mycologia**, v. 77, p. 702-720, 1985.

LAMBASIS, M.R.; MEHDY, M.C. Suppression of endochitinase, -1, 3-endoglucanase, and chalcone isomerase expression in bean vesicular-arbuscular mycorrhizal roots under different soil phosphate conditions. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Saint Paul, v. 6, p. 75-75, 1993.

LI, T.; LIN, G.; ZHANG, X.; CHEN, Y.; ZHANG, S.; CHEN, B. Relative importance of an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) and root hairs in plant drought tolerance. **Mycorrhiza**, v. 24, p. 595-602, 2014.

LIOUSSANNE, L.; JOLICOEUR, M.; ST-ARNAUD, M. Role of Root Exudates and Rhizosphere Microflora in the Arbuscular Mycorrhizal Fungi-Mediated Biocontrol of *Phytophthora nicotianae* in Tomato. In: VARMA, A.; KHARKWAL, A. (Ed.). **Symbiotic Fungi**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, p. 141-158, 2009.

MACHINESKI, O.; BALOTA, E.L.; SOUZA, J.R.P. Resposta da mamoneira a fungos micorrízicos arbusculares e a níveis de fósforo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1855-1862, 2011.

MECHRI, B.; MANGA, A. G. B.; TEKAYA, M.; ATTIA, F.; CHEHEB, H.; MERIEM, F. B.; BRAHAM, M.; BOUJNAH, D.; HAMMAMI, M. Changes in microbial communities and carbohydrate profiles induced by the mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) in rhizosphere of olive trees (*Olea europaea* L.). **Applied Soil Ecology**, Firenze, v. 75, n.1, p. 124-133, 2014.

MECHRI, B.; TEKAYA, M.; CHEHEB, H.; ATTIA, F.; HAMMAMI, M. Accumulation of flavonoids and phenolic compounds in olive tree roots in response to mycorrhizal colonization: A possible mechanism for regulation of defense molecules. **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 185, n.1, p. 40-43, 2015.

MEDDAD-HAMZA, A.; HAMZA, N.; NEFFAR, S.; BEDDIAR, A.; GIANINAZZI, S.; CHENCHOUNI, H. Spatiotemporal variation of arbuscular mycorrhizal fungal colonization in olive (*Olea europaea* L.) roots across a broad mesic-xeric climatic gradient in North Africa. **Science of The Total Environment**, Barcelona, v. 583, n.1, p. 176-189, 2017.

MEHLICH, A. **Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄ by North Carolina Soil Testing Laboratories**. Raleigh: University of North Carolina, 1953.

MEKAHLIA, M.N.; BEDDIAR, A.; CHENCHOUNI, H. Mycorrhizal dependency in the olive tree (*Olea europaea*) across a xeric climatic gradient. **Advances in Environmental Biology**, Amman, v. 7, n. 9, p. 2166-2174, 2013.

MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas - I: método empregado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 53- 58, 1999.

MELLONI, R.; GUIDA, E.C.; ANDRADE, M.R.; MELLONI, E.G.P. Fungos micorrízicos arbusculares em solos da reserva biológica municipal Serra dos Toledos, Itajubá/MG. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 799-809, 2011.

MELO, K.G.P.; SILVA, A.R.S.; YANO-MELO, A.M. Variedades de Citrus podem afetar a comunidade de fungos do solo? **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 7, n. 2, p.167-174, 2016.

MELZ, E.; TIAGO, P.V. Propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo de um Parque em Tangará da Serra, MT, uma área de transição entre Amazônia e Cerrado. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 39, p. 829-834, 2009.

MERGULHÃO, A.C.E.S.; SILVA, M.L.R.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P. Influência da dupla inoculação rizóbio e fungos micorrizas-arbusculares em plantas de sabiá sob solos de diferentes texturas. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 26, p. 42-47, 2001.

MILLER, D.; DOMOTO, P.; WALKER, C. Colonization and efficiency of different endomycorrhizal fungi with apple seedling at tow phosphorus levels. **New Phytologist**, v. 100, n. 3, p. 393-402, 1985.

MIRANDA, J.C.C.; SOUSA, D.M.G.; MIRANDA, L.N. Influência de fungos endomicorrízicos vesicular-arbusculares na absorção de fósforo e no rendimento de matéria seca de plantas de sorgo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 31-36, 1984.

MOHAN, J.E.; COWDEN, C.C.; BAAS, P.; DAWADI, A.; FRANKSON, P.T.; HELMICK, K.; HUGHES, E.; KHAN, S.; LANG, A.; MACHMULLER, M. Mycorrhizal fungi mediation of terrestrial ecosystem responses to global change: mini-review. **Fungal Ecology**, v. 10, p. 3-19, 2014.

MONTES-BORREGO, M.; METSIS, M.; LANDA, B.B. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with the Olive Crop across the Andalusian Landscape: Factors Community Differentiation. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 5, p. 1-12, 2014.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

NEWMAN, E.I. A method of estimating the total length of root in a sample. **Journal of applied Ecology**, London, v. 3, n. 1, p. 139-145, 1966.

NOGUEIRA, M.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 329-338, 2000.

NOVAIS, R.F.; SMITH, T.J.; NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F.; ALVARES, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.B.C.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, p. 471-550, 2007.

OLIVEIRA, A.F. **Oliveira no Brasil: tecnologias de produção**. EPAMIG: Belo Horizonte, 772p., 2012.

PANTANO, A.P.; BEERTONCINI, E.I.; WREGGE, M.S. Pré-zoneamento climático para a cultura da oliveira no Estado de São Paulo. **O Agrônomo**, São Paulo, v. 64-66, p. 52-55, 2014.

PAULA JR., T.J.; ZAMBOLIM, L. Efeito de fungicidas e de herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, p. 173–177, 1994.

PEREIRA, J.C. 2000. **Interações entre as populações de actinomicetos e outros organismos na rizosfera**. Embrapa Agrobiologia, Seropédica. Documentos, 118, p.15, 2000.

PEREZ, K.S.S.; RAMOS, M.L.G.; MCMANUS, C. Carbono da biomassa Microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 6, p. 567 – 573, 2004.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British mycological Society**, London, v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

PICONE, C. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. **Biotropica**, v. 32, p. 734-750, 2000.

RAIJ, B.V.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; ABREU, C.A. Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H., eds. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p.5-39, 2001.

RAMOS, M.L.G.; KONRAD, M.L.F.; SILVA, D.E.; RIBEIRO JUNIOR, W.Q.; BATISTA, L.M.T. Diversidade de fungos micorrízicos e colonização radicular, em forrageiras solteiras e em consórcio com milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, ed. 28, p. 235-244, 2012.

RODRIGUES, M.A.; CORREIA, C.M. **Manual da safra e contra safra do olival**. Bragança: Instituto Politécnico, p. 9-16, 2009.

RUY, R. **Indicadores microbiológicos e bioquímicos de qualidade em solo de baixa fertilidade natural que recebeu calagem e adubação fosfatada**. Embrapa Soja-Teses/dissertações, 2015.

SANTOS, F.F.; BANDEIRA, J.M.; MARINI, P.; MARTINS, A.B.N.; VARGAS, D.P.; DUTRA, L.F.; COUTINHO, E.F.; MORAES, D.M. Relações entre viabilidade, vigor e cultivo *in vitro* de embriões e sementes de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.13, n. 3, p. 130-133, 2015.

SAWERS, R.J.H.; YANG, S.Y.; GUTJAHR, C.; PASZKOWSKI, U. **The Molecular Components of Nutrient Exchange in Arbuscular Mycorrhizal Interactions**. In: al., Z.A.S.e. (Ed.), *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Springer Science + Business Media B.V., p. 37-59, 2008.

SGHIR, F.; CHLIYEH, M.; KACHKOUCH, W.; KHOUADER, M.; TOUHAMI, A.O.; BENKIRANE, R.; DOUIRA, A. Mycorrhizal status of *Olea europaea* spp. oleaster in Morocco. **Journal of Applied Biosciences**, Kenya, v. 61, p. 4478-4489, 2013.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The Mathematical Theory of Communication**. Urbana: University of Illinois Press, 1949.

SIDHOUM, W.; FORTAS, Z. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of semi-woody olive cuttings of the variety "Sigoise" in Algeria. **American Journal of Research Communication**, San Antonio, v. 1, n.11, p. 244-57, 2013.

SIEVERDING, E. A VA-mycorrhizal fungus, *Glomus glomerulatum* sp. nov., with two hyphal attachments and spores formed only in sporocarps. **Mycotaxon**, v. 29, p. 73-79, 1987.

SIEVERDING, E.; TORO, S.T. *Acaulospora denticulata* sp. nov. and *Acaulospora rehmi* sp. nov. (Endogonaceae) with ornamented spore walls. **Angewandte Botanik**, v. 61, p. 217-223, 1987.

SMITH, G.S.; SCHENCK, N.C. Two new dimorphic species in the Endogonaceae: *Glomus ambisporum* and *Glomus heterosporum*. **Mycologia**, v. 77, p. 566-574, 1985.

SMITH, S.E.; READ, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 3. ed. London: **Academic Press**, 2008.

SPAIN, J.L. Patency of shields in water-mounted spores of four species in Acaulosporaceae (Glomales). **Mycotaxon**, v. 43, p.331-339, 1992.

STORCK, L.; GARCIA, D.C.; LOPES, S.J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação Vegetal**. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 848p. 2009.

TEKAYA, M.; MECHRI, B.; MBARKI, N.; CHEHEB, H.; HAMMAMI, M.; ATTIA, F. Arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* influences key physiological parameters of olive trees (*Olea europaea* L.) and mineral nutrient profile, **Photosynthetica**, Praha, v. 55, n. 2, p. 308-316, 2017.

TRINDADE, A.V.; SIQUEIRA, J.O.; ALMEIDA, F.P. Eficiência simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares em solo não fumigado, para mamoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 505-513, 2000.

TRIOLA, M.F. **Introdução a Estatística**. 10 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 696 p.

VIEIRA, V.C.S.M. **Avaliação do status micorrízico de variedades de oliveira, na Fazenda Experimental de Maria da Fé – MG (FEMF-EPAMIG)**. 2010. 51 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Instituto de Recursos Naturais, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2010.

VIEIRA, V.C.S.; MELLONI, R.; VIEIRA NETO, J. Avaliação da interação micorrízica em variedades de oliveira (*Olea europea* L.). **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. Viçosa, v. 35, n. 6, p. 1885-1892, 2011.

VIERHEILIG, H.; COUGHLAN, A.P.; WYSS, U.; PICHÉ, Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, p. 5004-5007, 1998.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, United States, v. 37, n. 1, p. 29-38, 1934.

WREGE, M.S.; COUTINHO, E.F.; STEINMETZ, S.; REISSER JUNIOR, C.; ALMEIDA, I.R.; MATZENAUER, R.; RADIN, B. **Zoneamento agroclimático para oliveira no Estado do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

WREGE, M.S.; COUTINHO, E.F.; PANTANO, A.P.; JORGE, R.O. Distribuição potencial de oliveiras no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 3, p. 656-666, 2015.