

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

**Coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no
crescimento de mudas de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.)**

Samara Maria Lopes Costa

Itajubá (MG)

2018

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

Samara Maria Lopes Costa

**Coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no
crescimento de mudas de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.)**

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)

2018



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

A N E X O I
FOLHA DE JULGAMENTO DA BANCA EXAMINADORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS

Título da Dissertação: **“Coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.)”**

Autor: **Samara Maria Lopes Costa**

JULGAMENTO

Examinadores	Conceito A = Aprovado - R = Reprovado - I = Insuficiente	Rubrica
2ª	A	
3º	A	

Observações:

- (1) O Trabalho será considerado Aprovado se todos os Examinadores atribuírem conceito A.
 - (2) O Trabalho será considerado Reprovado se forem atribuídos pelos menos 2 conceitos 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.
- Este documento terá a validade de 60 (sessenta) dias a contar da data da defesa da Dissertação.

Resultado Final: Conceito: A, ou seja, aprovado

Observações: _____

Itajubá, 21 de fevereiro de 2018.

Prof.ª Dr.ª Maria Inês Nogueira Alvarenga
2ª Examinadora - UNIFEI

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

À Deus, força divina que me sustenta a todo instante,
guia meus passos e ilumina meus pensamentos.

OFEREÇO

À todos os agricultores que lutam para sustentar suas famílias
em dias de sol, chuva e frio, em especial ao meu pai Ari,
exemplo de fé, coragem e persistência.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus e à Virgem Maria pela minha vida e pela intercessão em todos os momentos. À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro por meio da concessão da bolsa de estudo, possibilitando a execução desse trabalho.

À Unifei e ao Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Recursos hídricos, pela infraestrutura, oportunidade de aprendizado, desenvolvimento pessoal, profissional e pela receptividade. À EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), por meio da FEMF (Fazenda Experimental de Maria da Fé), em especial ao pesquisador Luiz Fernando de Oliveira da Silva, pelo auxílio no planejamento e materiais utilizados na presente pesquisa. À Esalq/USP, através da pesquisadora Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso, pela doação de esporos dos fungos micorrízicos arbusculares e à Embrapa Soja, por meio do pesquisador Marco Antonio Nogueira, pela identificação dos isolados de rizobactérias utilizadas no presente estudo.

Ao meu professor, orientador e amigo Rogério Melloni, pelos grandes ensinamentos compartilhados, paciência, confiança, incentivo, conselhos e amizade. Deixo claro minha profunda admiração pelo seu lado profissional e pessoal, que dedica a tudo que faz com muito amor, carinho e perfeição, na qual vou levar de exemplo por toda minha vida!

Aos meus pais, Ari e Ronilda, por estarem comigo o tempo todo, serem minha base e sustento incondicionais em todos os momentos. Ao meu noivo, Josimar, por ter me apoiado desde sempre nos meus estudos, por ter tido paciência, carinho e compreensão.

A minha eterna gratidão à ex-professora Liliana Auxiliadora Avelar Pereira Passin, por ter me instruído durante o período da graduação, tanto em minha vida pessoal como profissional e por estar presente ainda hoje em minha vida, sempre me aconselhando, orientando e ensinando, além do laço inigualável de afeto e carinho que existe entre nós.

Ao meu psiquiatra, Renato Ribeiro Torres, por todo auxílio durante grande parte da minha vida e, principalmente, durante o período do mestrado. Da mesma forma, sou grata ao serviço de Psicologia da UNIFEI, principalmente às psicólogas Ro-

sana e Thamiris, que tanto me ajudaram e me acolheram nos momentos que mais precisei.

À todos os professores da Unifei, os quais tive contato durante o período de mestrado por meio das disciplinas, em especial às professoras Eliane Guimarães Pereira Melloni e Maria Inês Nogueira Alvarenga, pelas contribuições importantíssimas na etapa de qualificação deste trabalho.

Aos servidores Paulo Sérgio Marques, Willians César da Silva e Haroldo Felipe da Costa, por todo auxílio nos laboratórios e materiais necessários à pesquisa, principalmente o professor Paulo Sérgio Marques, durante o período de estágio de docência e auxílio no laboratório.

Aos professores Denismar Alves Nogueira (Unifal) e Juliana Cespedes (Unifesp), pela ajuda e conselhos nas análises estatísticas dos dados deste trabalho.

Aos familiares e amigos que me ajudaram e marcaram muito esse momento, em especial à minha grande e eterna amiga de infância Gabriely, por sempre me apoiar e oferecer um ombro amigo a todo e qualquer momento, ao seu esposo Reginaldo pela grande amizade e também às amigas Bruna Marques e Ana Elisabete. Agradeço também aos familiares, em especial aos meus padrinhos Maria Helena e Douglas, prima Mariana, tia Márcia. Ao pároco de minha cidade, Manoel Marques da Silva, pelos conselhos e apoio nos momentos que precisei.

Agradeço, também, aos colegas de mestrado que conheci e pude compartilhar muitas experiências e aprendizados, em especial à aluna de iniciação científica Beatriz Marques Pereira, por me ajudar em uma das metodologias deste trabalho e à colega e amiga Martha Lúcia Valderrama Rios.

Enfim, agradeço de coração a todos que direta ou indiretamente, de certa forma, contribuíram para a concretização deste trabalho!

“O papel dos infinitamente pequenos na natureza é infinitamente grande”

Louis Pasteur

RESUMO

A olivicultura brasileira se instituiu por volta do século XIX, nas regiões altas da Serra da Mantiqueira, Minas Gerais e, posteriormente, para o Sul do Brasil. Entretanto, o cultivo em escala comercial ainda não se estabeleceu, em virtude da falta de investimentos em estudos relacionados ao manejo do solo, mudanças climáticas, dificuldades de floração e frutificação da espécie e outros fatores que interferem, de forma direta, na produção desta cultura. Devido a esses aspectos, o país importa de países tradicionalmente produtores quase todo azeite e azeitona consumidos. Diante da necessidade de estudos alternativos relacionados à produção de mudas de oliveira, este trabalho teve como objetivo analisar o potencial biotecnológico da coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e rizobactérias no crescimento de mudas, em condições controladas. Para isso, conduziram-se três experimentos simultaneamente, em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial (3x3+1), sendo um para cada cultivar de oliveira (Arbequina, Maria da Fé e Grappolo 541), com 3 isolados de rizobactérias (*Pseudomonas* sp., *Paenibacillus* sp1. e *Paenibacillus* sp2.) combinados com 3 espécies de FMAs (*Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus*) e um controle total (sem fungo e sem bactéria), com três repetições por tratamento, totalizando 90 unidades experimentais. Foram avaliados, após 12 meses de condução, a altura, diâmetro do caule, número de folhas, matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de N e P, intensidade e porcentagem de colonização radicular, comprimento de micélio extrarradicular ativo e total e número de esporos. Os resultados foram analisados pelo teste de Skott e Knott e correlação de Pearson. Houve efeito da coinoculação para cada cultivar, sendo para a cultivar Arbequina maior produção de matéria seca na parte aérea e para a cultivar Maria da Fé acúmulos significativos de nitrogênio na parte aérea. Quanto aos fungos micorrízicos arbusculares, destacou-se *Acaulospora scrobiculata* para todas as cultivares. A análise de correlação de Pearson confirmou que o efeito no crescimento das mudas esteve diretamente relacionado com a formação de micorriza.

Palavras-chave: Olivicultura. Micorriza. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. Inoculante.

ABSTRACT

Brazilian olive cultivation was instituted around the 19th century, in the high regions of the Serra da Mantiqueira, Minas Gerais and, later, to the South of Brazil. However, commercial scale cultivation has not yet been established due to the lack of investments in studies related to soil management, climatic changes, flowering difficulties and fruiting of the species and other factors that directly interfere its production. Due to these aspects, the country imports from traditionally producing countries almost all olive oil and olive consumed. In view of the need for alternative studies related to the production of olive tree seedlings, this work aimed to analyze the biotechnological potential of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and rhizobacteria in the growth of seedlings under controlled conditions. For this, three experiments were conducted simultaneously in a completely randomized design, with factorial arrangement (3x3+1), one for each olive cultivar (Arbequina, Maria da Fé and Grappolo 541), with three rhizobacterial isolates (*Pseudomonas* sp., *Paenibacillus* sp1. and *Paenibacillus* sp2.) combined with 3 species of AMF (*Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora rosea* and *Rhizophagus clarus*) and a total control (without fungus and without bacteria), with three replicates per treatment, totaling 90 experimental units. The height, stem diameter, number of leaves, fresh root matter, shoot dry matter, N and P concentration and accumulation, intensity and percentage of root colonization, active and total extraradicular mycelium length, and number of spores were determined after 12 months. The results were analyzed by the Skott and Knott test and Pearson's correlation. There was effect of the co-inoculation for each cultivar, with greater aerial shoot dry matter production by Arbequina cultivar, and significant accumulations of nitrogen in the aerial part by Maria da Fé cultivar. Regarding the arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora scrobiculata* showed outstanding effect. Pearson's correlation analysis confirmed that the effect on seedling growth was directly related to mycorrhiza formation.

Key-words: Olive cultivation. Mycorrhiza. Plant growth promoting bacteria. Inoculant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mecanismos usados pelos FMAs e RBPC na melhoria do crescimento de plantas.....	29
Figura 2- Plantio das estacas das três cultivares de oliveira em canteiros de propagação.	32
Figura 3 - Transplântio das estacas de oliveira para sacos de polietileno de 1,5 kg contendo uma parte de areia e duas partes de substrato.	33
Figura 4 - A. Coinoculação dos microrganismos: Inoculação dos esporos das espécies de FMAs; B. Inoculação das rizobactérias.	34
Figura 5 – Medições da altura (A) e diâmetro do caule (B) das mudas de oliveira...	35
Figura 6 – A. Solo sendo colocado nos sacos plásticos; B. Raízes sendo separadas em sacos plásticos; C. Detalhe do papel toalha na abertura de cada saco plástico com o solo; D. Amostras de solo em câmara fria.	36
Figura 7 – A. Lavagem das raízes em água corrente; B. Raízes dispostas sobre bancada em papéis toalhas para secagem em temperatura ambiente; C. Pesagem das raízes em temperatura ambiente; D. Armazenamento das raízes em álcool 70%.	37
Figura 8- A. Parte aérea das plantas em estufa; B. Parte aérea das plantas sendo pesada após secagem em estufa.....	38
Figura 9 – A. Raízes colocadas em cassetes; B. Amostras das raízes com KOH em banho-maria.	39
Figura 10 - Disposição dos segmentos de raízes em lâmina de microscopia para observação em microscópio no aumento de 100x.	39
Figura 11 – Estruturas fúngicas de FMA observadas nas diferentes cultivares de oliveira no aumento de 100X. Estruturas indicadas por setas. ESP. Esporos; H. Hifas; VES. Vesículas.....	40
Figura 12 - Amostras de raízes em placa quadriculada para análise da porcentagem de colonização micorrízica.	41
Figura 13 – A. Amostras de solo úmido nos cadinhos metálicos; B. Pesagem de amostra com solo em balança analítica antes da secagem em estufa; C. Cadinhos com as amostras em estufa de secagem; D. Pesagem de amostra com solo em balança analítica depois da secagem em estufa.....	42

Figura 14 – A. Pesagem do solo; B. Adição de 500 mL de água; C. Suspensão sendo mexida; D. Peneiramento em peneiras de malha de 0,500 mm e 0,250 mm em liquidificador.....	43
Figura 15 – A. Agitação por 30 s; B. Retirada de 500 mL da amostra com uma proveta; C. Peneiramento em peneira de malha 0,045 mm; D. Recolhimento de 11 mL da amostra; E e F. Transferência do retido para frascos de vidro.....	44
Figura 16 - A e B. Filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose; C. Colocação da membrana em lâmina de vidro; D. Demarcação dos campos de 8x8 para observação em microscopia.....	45
Figura 17 - A. Volume de 50 mL de solo; B. Substrato sendo colocado em um béquer; C. Água sendo colocada no béquer; D. Agitação uniforme com bastão de vidro; E. Peneiramento; F e G. Resultado do peneiramento sendo transferido para tubos de centrífuga; H. Centrifugação a 3000 rpm por 3 minutos.	47
Figura 18 - A. Descarte do sobrenadante; B. Adição de sacarose 50%; C. Agitação da suspensão de sacarose e esporos; D. Centrifugação a 2000 rpm por 2 minutos; E. Transferência para peneira de malha 0,045mm; F e G. Lavagem seguida da transferência para um recipiente de vidro; H. Observação dos esporos em lupa microscópica em aumento de 40X.	48
Figura 19 - Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Arbequina, sobre: A-Altura; B-Diâmetro; C-Matéria fresca de raiz; D-Matéria seca parte aérea; E-Teor de P; F-Acúmulo de P; G-MET..	50
Figura 20 - Efeito dos FMAs na cultivar Arbequina, sobre: A-Número de folhas; B-Teor de N; C-Acúmulo de N; D-Intensidade de colonização radicular; E-Porcentagem de colonização radicular; F-Número de esporos.....	53
Figura 21 - Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A-Número de folhas; B-Teor de N; C-Acúmulo de N; D- Porcentagem de colonização radicular; E-MET.....	58
Figura 22 - Efeito dos FMAs na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A-Altura; B-Diâmetro; C-Matéria seca parte aérea; D-Teor de P; E-Acúmulo de P; F-Intensidade de colonização radicular.....	60
Figura 23 - Efeito isolado entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A-Matéria fresca de raiz; B-Número de esporos..	61

Figura 24- Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Grappolo 541, sobre: A-Diâmetro; B-Teor de N; C-Porcentagem de colonização radicular; D-MET; E-Número de esporos..64

Figura 25- Efeito dos FMAs na cultivar de oliveira Grappolo 541, sobre: A-Altura; B-Número de folhas; C-Matéria fresca de raiz; D-Matéria seca parte aérea; E-Teor de P; F-Acúmulo de N; G-Acúmulo de P; H-Intensidade de colonização radicular.....67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Matriz de correlação de Pearson para a cultivar Arbequina.....	56
Tabela 2- Matriz de correlação de Pearson para cultivar Maria da Fé.....	63
Tabela 3- Matriz de correlação de Pearson para cultivar Grappolo 541	69

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Aspectos gerais da oliveira	17
3.2 Produção de mudas de oliveira	20
3.3 Importância dos fungos micorrízicos arbusculares e sua interação com a cultura da oliveira	22
3.4 Rizobactérias e sua relação com a cultura da oliveira	25
3.5 Interações de FMAs e rizobactérias em culturas diversas	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Montagem do experimento e enraizamento das mudas das cultivares de oliveira coinoculadas com FMAs e rizobactérias na casa de vegetação da FEMF 31	31
4.2 Acompanhamento do crescimento e desenvolvimento das mudas das cultivares de oliveira coinoculadas	34
4.3 Desmontagem do experimento e preparo de amostras	35
4.4 Intensidade de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares	38
4.5 Porcentagem de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares	41
4.6 Umidade das amostras de substrato	41
4.7 Preparo das amostras para extração do micélio extrarradicular total	42
4.8 Número de esporos	46
4.9 Análises estatísticas	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Cultivar Arbequina	49
5.2 Cultivar Maria da Fé	57
5.3 Cultivar Grappolo 541	64
6 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

A olivicultura brasileira ainda é considerada um negócio recente quando em comparação com a da maior parte dos países da Europa, Ásia, América do Norte e Oriente Médio. Atualmente, o Brasil situa-se entre os 10 países mais consumidores de azeite do mundo, o que o torna um grande importador deste óleo vegetal (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL, 2017).

O cultivo da oliveira no Brasil foi iniciado nas áreas mais altas da Serra da Mantiqueira, em Minas Gerais, e vem estimulando produtores, visto que os benefícios a base de produtos oriundos da oliveira, como azeite e azeitona, estão sendo cada vez mais difundidos à população (BRASIL, 2012; VIEIRA NETO et al, 2011b). A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), por meio da Fazenda Experimental de Maria da Fé (FEMF), já vem desenvolvendo trabalhos com diversas cultivares de oliveiras, com estudos desde enraizamento das estacas, melhores épocas de coleta e armazenamento destas e produção de frutos (OLIVEIRA et al., 2009a; SILVA et al., 2012a).

A maior parte dos estudos com oliveira no Brasil e em diversos países do mundo tem sido direcionada para produção e manejo, enquanto poucos são relacionados a fatores de ordem biológica, que auxiliam na produtividade de culturas (VIEIRA; MELLONI; VIEIRA NETO, 2011). Dentre esses fatores de ordem biológica que afetam a produtividade de culturas, encontram-se a atuação dos fungos micorrízicos arbusculares e das rizobactérias, cujos efeitos são registrados em literatura científica há anos. No Brasil, os trabalhos de Ferreira et al. (2015), Silva et al. (2017) e Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011) e foram os pioneiros com relação ao uso de microrganismos na cultura da oliveira.

Internacionalmente, trabalhos com uso de microrganismos capazes de estabelecer interação com plantas de oliveira, como os fungos micorrízicos arbusculares, são relatados em vários países, principalmente no que diz respeito ao crescimento e absorção de nutrientes (BATI; SANTILLI; LOMBARDO, 2015; BINET et al., 2007; ESTAÚN et al., 2003; MALIK; NUÑEZ; MCKEEVER, 2017; TEKAYA et al., 2017), proteção contra patógenos (CASTILLO et al., 2006; MECHRI et al., 2015), aumento de tolerância em situações de estresse ambiental (CALVO-POLANCO et al., 2016; MEDDAD-HAMZA et al., 2017; MEKAHLIA; BEDDIAR; CHENCHOUNI, 2013; POR-

RAS SORIANO et al., 2009) e sobrevivência após transplântio para o campo (BOM-PADRE et al., 2014; MEDDAD-HAMZA et al., 2010; PORRAS PIEDRA et al., 2005).

De maneira semelhante, trabalhos com rizobactérias, outro grupo de microrganismos que podem associar à oliveira, relatam o aumento da proteção contra patógenos com o uso de rizobactérias (ARANDA et al., 2011; SCHILIRÒ et al., 2012), enraizamento de estacas (MONTERO-CALASANZ et al., 2013; PEYVANDI et al., 2010) e crescimento de plantas pela produção de hormônios vegetais (EL TAWHEEL; OMAR; SHAHEEN, 2014)

O estabelecimento da associação micorrízica e de rizobactérias em oliveira são retratados positivamente, mas de maneira isolada. Por isso, há a necessidade de investigar o efeito desses microrganismos quando coinoculados em oliveira, processo que ocorre naturalmente, o que abririam maiores possibilidades de produção sustentável de olivais e postos de trabalho para agricultores.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento e desenvolvimento de mudas de cultivares de oliveira.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar variáveis de crescimento e desenvolvimento, em mudas de cultivares de oliveira coinoculadas.
- Determinar variáveis microbiológicas relacionadas à formação de micorriza.
- Comparar o efeito da coinoculação no crescimento de mudas de cultivares de oliveira.
- Analisar a relação entre as variáveis de crescimento e as microbiológicas, para cada cultivar de oliveira.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos gerais da oliveira

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta de porte arbóreo que pertence à família botânica Oleaceae, produz frutos comestíveis e apresenta um ciclo de vida perene, destacando-se por sua longevidade (COUTINHO et al., 2015; SANTOS et al., 2015). Os frutos são denominados azeitonas, sendo estes consumidos *in natura*, como as azeitonas de mesa, ou usados para extração do azeite que, assim como as azeitonas de mesa, são consumidos mundialmente (WREGGE et al., 2009).

A origem da espécie compreende uma região extensa do mediterrâneo, que vai desde o sul do Cáucaso até o Egito (COUTINHO et al., 2015). Por ser uma planta de clima temperado e apresentar estrutura xerofítica, ou seja, com adaptações para viver em ambientes de clima seco, se desenvolve satisfatoriamente até mesmo em ambientes com baixos índices pluviométricos e verões extensos (WREGGE et al., 2009).

Diferentes fatores climáticos influenciam no crescimento e desenvolvimento dessa espécie, como temperatura, clima, umidade relativa e pluviometria. Neste contexto, após o desenvolvimento de diversos trabalhos com plantio de oliveiras em países do mediterrâneo, verificou-se que a temperatura adequada para a ocorrência de frutificação efetiva, chamada de *fruit set*, deve ser de 25°C a 35°C, porém, as oliveiras têm capacidade de suportar temperaturas próximas a 40°C, sem que ocorram queimaduras nos ramos e folhas (ALBA; FLORES; WREGGE, 2013). Temperaturas a partir de 10°C dão início à floração e, entre 15°C e 20°C ocorre a plena floração da espécie (NAVARRO; PARRA, 2008). No entanto, temperaturas abaixo de 12°C impedem o seu crescimento (TAPIA et al., 2003).

Com relação à pluviometria, a espécie necessita de distribuição regular de chuva, em média, de 650-800 mm por ano (ALBIÑANA, 2002; COUTINHO, 2007). A umidade relativa na fase de frutificação deve ficar entre 60 a 80%, caso contrário há o comprometimento da viabilidade do estigma (WREGGE et al., 2009). Descrições mais detalhadas sobre a influência dos fatores climáticos na espécie podem ser obtidas em Alba, Flores e Wrege (2013) e Wrege et al. (2009).

O plantio da oliveira, denominada olivicultura, tem sido realizado em todos os continentes, em regiões de clima subtropical ou temperado, como os países do mediterrâneo (COUTINHO; RIBEIRO; CAPPELLARO, 2009). Em países de clima subtropical, como a Argentina, Austrália e Chile, o desenvolvimento dessa espécie tem sido ampliado (TOFOLI et al., 2013). No Brasil, tal cultura se estabeleceu no início do século XIX, em quase todos os estados, porém, com maior expressividade nas regiões Sudeste e Sul (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (VIEIRA NETO et al., 2008). Atualmente, o país se situa entre os 10 maiores consumidores de azeite do mundo, o que o torna um grande importador deste óleo vegetal (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL, 2017).

Segundo Brasil (2012), de 2003 a 2012, o aumento no consumo de azeite de oliva e azeitona no Brasil foi de 120% e 45% respectivamente. A elevação do consumo desses produtos é justificada pela divulgação dos benefícios da dieta mediterrânea na saúde humana, pela entrada de produtos no mercado interno com preços mais acessíveis e aumento do poder aquisitivo de algumas classes sociais (BRASIL, 2012).

Os benefícios da dieta à base de azeite de oliva, comumente utilizada em países do mediterrâneo, são inúmeros, principalmente atribuídos às fontes de vitaminas A, E e K, de minerais como cálcio, ferro, magnésio, potássio e de aminoácidos, com diversos benefícios ao coração, pele, olhos, ossos e sistema imune (TOFOLI et al., 2013). Além disso, a folha da oliveira apresenta diversos compostos fenólicos que possuem efeitos antioxidantes, anti-hipertensivos, antiaterogênicos, anti-inflamatórias, hipoglicêmicas e hipocolesterolêmicas (EL; KARAKAYA, 2009).

No Brasil, o cultivo de oliveira é um negócio agrícola considerado recente e em desenvolvimento, onde plantios comerciais foram iniciados na região Sul do país e no estado de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2009a). Assim, o país necessita importar todo o azeite de oliva e azeitona que consome, principalmente de países como Portugal, Espanha, Itália, Grécia e países sul-americanas como Argentina e Chile para atender a demanda do mercado interno (BALLUS et al., 2014). Isso se deve ao fato de a produção nacional de azeitona não dispor de um volume suficiente para atender a população, além de menor expressividade e tecnologia para competir com os concorrentes internacionais (SILVA; MELLO, 2014).

Em vista disso, esse quadro de importações pelo Brasil, segundo os dados da Companhia Nacional de Abastecimento/ CONAB (2016) gerou, em 2015, um gas-

to de 277 milhões de dólares na importação de 58 mil toneladas de azeite de oliva. Como decorrência, o preço do azeite de oliva é considerado oneroso, o que faz com que a maioria da população não tenha acesso a esse prestigiado óleo vegetal saudável (BALLUS et al., 2014).

Para diminuir esse quadro de total dependência de importações, diversos estudos têm sido realizados desde 1940 e tiveram impulso a partir do ano 2000, tais como os de zoneamentos agroclimáticos, edafoclimáticos (levando-se em conta as particularidades de cada cultivar) e econômicos realizados por instituições ligadas ao Ministério da Agricultura. Os resultados estabeleceram de algumas regiões brasileiras com as melhores características, aptidões climáticas e edáficas satisfatórias para o desenvolvimento de lavouras em larga escala (MELLO; PINHEIRO, 2012). Atualmente, existem áreas pequenas de olivais plantadas no Rio Grande do Sul e em Minas Gerais (WREGGE et al., 2015).

Até o ano de 2012, nas regiões altas da Serra da Mantiqueira, local onde se iniciou o cultivo de oliveira no Brasil, existiam aproximadamente 330 mil plantas de oliveiras espalhadas entre 60 produtores e 55 municípios (SILVA et al., 2012b). Porém, para atender completamente o mercado interno, com base no volume de azeitonas que são importadas anualmente, é necessário um plantio de 11 milhões de plantas, aproximadamente 62 mil hectares de oliveiras, o que requer bastante pesquisa sobre informações técnicas para sua produção (OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012c).

Em face disso, a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, vem desenvolvendo pesquisas com a oliveira na Fazenda Experimental de Maria da Fé (FEMF), sul de Minas Gerais, com o intuito de diminuir o volume de importações, obtendo resultados promissores e possibilitando a inserção de novas alternativas agrícolas para agricultura familiar, agregando valor ao produto e possibilitando a geração de empregos e renda (OLIVEIRA et al., 2009b). Além dessas vantagens, por ser uma planta arbórea de grande longevidade, a oliveira propicia a conservação de solos e mananciais d'água, o que possibilita que regiões de uso agrícola sejam preservadas, evitando o uso intenso do solo e admitindo a integração com outras atividades agrícolas, como a pastagem ou o plantio consorciado com culturas de ciclo anual e de baixo porte (MESQUITA; FRÁGUAS; PAULA, 2006).

Porém, para que a exploração racional da oliveira continue a progredir são necessários mais investimentos em pesquisas. O insucesso do desenvolvimento da

cultura no Brasil se deu até o presente momento por falta de tecnologias e estudos apropriados sobre a espécie, relacionados à fisiologia da floração e frutificação da espécie, à manipulação de tecnologias de produção de azeite, à capacitação de técnicos para realização de análises laboratoriais físico-químicas e sensoriais da azeitona de mesa e azeite, do manejo adequado do solo e da planta (ALBA; FLORES; WREGGE, 2013).

No entanto, como resultados de alguns estudos, no sul de Minas Gerais, algumas cultivares já demonstraram potencial produtivo e comercial, como as variedades Grappolo, que se destinam à extração de azeite, e a Ascolana, apropriada para a produção de azeitonas de mesa (MELLO; PINHEIRO, 2012). O estudo desenvolvido por Ballus et al. (2014), para determinar o teor de algumas substâncias químicas no azeite de oliva virgem brasileiro de 17 variedades de azeitonas cultivadas na região Sudeste do Brasil, mostrou a viabilidade de alguns azeites para o mercado comercial, porém mais estudos de avaliações sensoriais do azeite são ainda necessários.

Como as áreas tradicionais de cultivo desta cultura estão estagnadas em termos de expansão nos países onde o cultivo é comum, como Espanha e países mediterrâneos da Europa, novas oportunidades estão sendo abertas aos países sul-americanos (MESQUITA; OLIVEIRA; MESQUITA, 2006). Desse modo, a tendência da olivicultura no Brasil, nos últimos anos, foi a expansão das áreas cultivadas, com um melhoramento das técnicas de cultivo, tendo em vista uma maior produtividade.

3.2 Produção de mudas de oliveira

Produzir mudas de qualidade é essencial para a implantação de pomares da cultura da oliveira, de maneira que estes atinjam rendimentos satisfatórios e que atendam às demandas comerciais. Para formação de mudas, a estaquia é o método de propagação mais utilizado no Brasil e nos países europeus. A técnica vem sendo melhorada a cada ano, particularmente para o enraizamento de estacas semilenhosas, mediante nebulização intermitente (CABALLERO; DEL RIO, 2006). Neste método de propagação vegetativa, a planta apresenta um sistema radicular fasciculado, exibindo três fases distintas de multiplicação: enraizamento, em que ocorre a emissão de raízes adventícias na base das estacas; a aclimação, onde ocorre o funcionamento do sistema radicular obtido na fase de enraizamento e a fase de formação

de mudas em viveiros, em que se obtêm plantas em sacos formados com um só caule ou tronco (COUTINHO; RIBEIRO; CAPPELLARO, 2009).

Para o processo de enraizamento, utilizam-se estacas medindo de 12 a 15 cm de comprimento aproximadamente, com um número variado de entrenós, com dois a três pares de folhas em sua parte apical, sendo indispensável um tratamento hormonal antes de se realizar o plantio das estacas (CABALLERO; DEL RÍO, 2006). O tipo de tratamento hormonal mais utilizado para o enraizamento de estacas consiste em imergir a base das estacas, por 5 s, em uma solução de ácido indolbutírico (AIB) diluída em álcool etílico e água 50%, na concentração de 3.000 a 4.000 mg/L (OLIVEIRA et al., 2008).

De acordo com o trabalho de Silva et al. (2012b), diferentes fatores interferem no processo de enraizamento de estacas de oliveira, dentre eles o período do ano em que se coletam as estacas e a eficiência genética das cultivares. Tais autores observaram que o enraizamento das estacas difere entre as cultivares, sendo que o mês de abril propicia um melhor enraizamento para algumas cultivares estudadas no Brasil.

O êxito do desenvolvimento comercial dessa cultura no Brasil depende da aptidão ao local de plantio, o uso de mudas saudáveis e o uso de diferentes cultivares de oliveiras intercaladas ou com auxílio de agentes polinizadores (OLIVEIRA; ANTUNES; SCHUCH, 2006). Além disso, é imprescindível o auxílio de políticas públicas, com incentivos governamentais ao desenvolvimento de olivais em território nacional, para que, assim, estes possam atender a demanda comercial interna, diminuindo gastos com importações de azeitonas de mesa e seus derivados.

Como o mercado consumidor está cada vez mais exigente, a busca por produtos de alta qualidade está cada vez maior, principalmente pelos que cumprem as exigências ambientais e visem uma produção sustentável, desde o início de sua cadeia produtiva até sua disposição final. Neste contexto, o uso de tecnologias microbiológicas na produção de mudas de oliveiras, em especial envolvendo grupos funcionais, como os fungos micorrízicos arbusculares e as rizobactérias, podem ser uma alternativa e ferramenta de gestão ambiental frente ao uso de insumos agrícolas químicos. Além do que, o uso de bactérias e fungos coinoculados tem se mostrado como alternativa eficaz diante da enorme degradabilidade em que se encontram os solos agricultáveis, além de possibilitar uma redução quanto ao uso extensivo de fertilizantes químicos (RASHID et al., 2016).

Diante disso, a inoculação de microrganismos benéficos pode favorecer desde a fase de enraizamento de estacas até o crescimento das mudas e maior sobrevivência do crescimento quando do transplântio para o campo. Tais possibilidades de práticas de manejo contribuem para a expansão da olivicultura pelo país, em zonas favoráveis, como o sul de Minas Gerais, o que permite o incentivo à agricultura familiar, oferta do produto no mercado interno e redução de gastos com importação.

3.3 Importância dos fungos micorrízicos arbusculares e sua interação com a cultura da oliveira

Em princípio, o solo comporta pequena disponibilidade de nutrientes, a qual é compensada pela presença de zonas que apresentam elevada atividade biológica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Algumas dessas zonas, chamadas de “*hot spots*”, são favorecidas pela matéria orgânica ou pela rizosfera, que recebe influência dos exsudatos liberados pelas raízes das plantas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Os microrganismos que vivem na rizosfera são chamados microrganismos rizosféricos e desempenham papel importante em ciclos biogeoquímicos de nutrientes (ANDREOTE; GUMIERE; DURRER, 2014). Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) fazem parte dessa ampla gama de microrganismos que vivem na rizosfera. Esses fungos desempenham papéis essenciais na natureza, apresentando estruturas denominadas hifas, que atuam como uma extensão do sistema radicular das plantas e auxiliam na absorção efetiva de nutrientes, principalmente o fósforo e água, além de atuarem na estruturação do solo, na tolerância a estresses abióticos e resistência a doenças em plantas (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Os diversos efeitos benéficos dos FMAs são essenciais para a manutenção dos sistemas florestais e agrícolas, exercendo influência direta no crescimento de plantas (SUGAI; COLLIER; SAGGIN-JÚNIOR, 2011). As interações desses fungos com as raízes das plantas hospedeiras determinam os benefícios resultantes dessa associação, dependendo das condições edafoclimáticas (CAMPOS; ANDRADE; CASSIOLATO, 2010). Nesse sentido, os FMAs apresentam a capacidade de tornar as plantas mais hábeis em lidar com estresses bióticos e abióticos, como aumento da tolerância a espécies reativas de oxigênio, que são moléculas instáveis resultantes do processo de fotossíntese e respiração que alteram o metabolismo da planta em condições de estresse ambiental (FOLLI-PEREIRA et al., 2012).

Neste contexto, trabalhos relatam efeitos benéficos no crescimento e desenvolvimento vegetal com a associação de FMAs em diversas culturas, como pornunha (*Manihot* sp.) (NASCIMENTO et al., 2016); jenipapeiro (*Genipa americana* L.) (SOARES et al., 2012); pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (SABOYA et al., 2012), pessegueiro cv. Okinawa (*Prunus persica* (L.) Batsch) (NUNES et al. 2011); mamoeiro (*Carica papaya*) (ALMEIDA et al., 2016); amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krap. & Greg.) (MIRANDA; SILVA; SAGGIN JÚNIOR, 2016); acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) (BALOTA; MACHINESKI; STENZEL, 2011). As associações micorrízicas são também retratadas em diversos trabalhos como indutoras de tolerância a patógenos. Sousa et al. (2010), por exemplo, verificaram que os FMAs das espécies *Glomus clarum* e *Gigaspora albida* atuaram na redução de um nematóide do gênero *Meloidogyne*, em mudas de tomateiro.

Na cultura da oliveira também existem diversos trabalhos internacionais com relação à associação micorrízica. Na Espanha, por exemplo, Montes-Borrego, Metsis e Landa (2014) examinaram a estrutura e a diversidade de FMAs na rizosfera de azeitonas cultivadas e silvestres na comunidade de Andaluzia. Os autores utilizaram duas abordagens moleculares independentes, concluindo que os FMAs exercem grande especificidade com as oliveiras, o que pode facilitar o processo de produção de mudas micorrizadas em viveiro. Mekahlia, Beddiar e Chenchouni (2013) avaliaram a colonização radicular por FMAs em oliveiras ao longo de um gradiente climático (subúmido, semi-árido e árido) no norte da Argélia, verificando que as raízes de oliveira eram colonizadas por FMAs nos três tipos de clima, independentemente da estação ou dos anos de estudo (2010-2012). Sidhoum e Fortas (2013), também na Argélia, após inocularem FMAs em estacas herbáceas da oliveira cultivar “Sigoise” em condições controladas, verificaram uma melhora significativa no crescimento das plantas.

Na Tunísia, Mechri et al. (2014) determinaram as alterações quali e quantitativas dos carboidratos da rizosfera de oliveira (cv. Meski) após a inoculação com o FMA *Glomus intraradices* e o efeito dessa inoculação na comunidade microbiana da rizosfera. Os autores verificaram que o micélio do FMA em estudo apresentava estruturas que absorviam os açúcares da rizosfera, translocando-os para oliveira, além de terem induzido mudanças significativas na comunidade microbiana. Mechri et al. (2015), também na Tunísia, verificaram que a micorrização com *Rhizophagus irregularis* em raízes de oliveira (*Olea europaea* L.) teve efeito significativo sobre o conte-

údo de fenóis e flavonóides nas raízes, fator importante na capacidade antioxidante da planta, principalmente nas condições climáticas do mediterrâneo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Tekaya et al. (2017), na Tunísia, ao estudarem a capacidade do fungo *Rhizophagus irregularis* modificar os perfis de comunidades microbianas na rizosfera de oliveira, com reflexos na absorção de nutrientes. Os autores verificaram que a inoculação com esse FMA promoveu maior taxa de fotossíntese na planta e de carboidratos nas raízes, fazendo com que houvesse um grande volume de micélio que contribuiu para um melhor estado nutricional da planta. Da mesma forma, na Argentina, os trabalhos de Bompadre et al. (2014) mostraram que o FMA *Rhizophagus irregularis* foi eficiente no desenvolvimento de mudas de oliveira na fase de viveiro, facilitando o transplântio para o campo.

Melhorias significativas foram observadas na composição de polifenóis nas folhas de oliveira da cultivar Arbequina, com a inoculação de FMAs, o que possibilitou uma melhoria na qualidade das folhas utilizadas em tratamentos fitoterápicos (MALIK; NUÑEZ; MCKEEVER, 2017). Bati, Santilli e Lombardo (2015) comprovaram que, além dos FMAs aumentarem o crescimento e melhorarem a absorção de P em plântulas de oliveira, contribuem para a proteção contra manganês (Mn), um micronutriente tóxico às plantas quando em excesso no solo. Enquanto Meddad-Hamza et al. (2017), avaliaram como os aspectos climáticos afetam o desenvolvimento de determinados FMAs na rizosfera de oliveiras. Esses autores verificaram que os climas úmidos e subúmidos favorecem a micorrização de mudas de oliveiras, o que possibilita a expansão dessa cultura para países que apresentam clima semelhante, como o Brasil.

Como visto em diversos países europeus e do mediterrâneo, há estudos demonstrando a viabilidade dos FMAs no crescimento e desenvolvimento de mudas de oliveira. Porém, tais estudos ainda são incipientes, principalmente nas condições edafoclimáticas brasileiras, o que justifica o presente trabalho.

No Brasil, os poucos trabalhos disponíveis são de Vieira, Melloni e Vieira Neto (2011), que constataram a associação micorrízica em diferentes cultivares de oliveira e de Ferreira et al. (2015), que evidenciaram a importante função desses fungos no crescimento de mudas já enraizadas, ambos no sul do estado de Minas Gerais.

3.4 Rizobactérias e sua relação com a cultura da oliveira

As rizobactérias promotoras do crescimento em plantas (RBPC), proporcionam às plantas um melhor desenvolvimento, por meio de diferentes mecanismos, podendo ser pela suplementação de nutrientes pouco disponíveis ou pela inibição do desenvolvimento de pragas e patógenos de plantas, com a produção de antibactericidas e antifúngicos (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Sabe-se ainda que essas rizobactérias produzem reguladores de crescimento de vegetais, os fitormônios, tais como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico (CAMELO; VERA; BONILLA, 2011; DODD et al., 2010; SILVA et al., 2016; VEJAN et al., 2016).

Segundo Vafadar, Amooaghaie e Otrshy (2014), as rizobactérias promovem o desenvolvimento das plantas graças à produção de fitormônios, mobilização de fósforo, inibição da síntese de etileno na planta, indução à resistência sistêmica contra patógenos, produção de sideróforos e antibióticos. Carvalho et al. (2009) demonstraram como o uso de metabólitos produzidos por rizobactérias pode auxiliar no crescimento de plantas. Estes autores constataram que três tipos de rizobactérias cultivadas em meio TSB (tryptic soy broth) produziram substâncias capazes de estimular o crescimento das primeiras folhas do embrião de plantas de trigo, características que podem ser exploradas em outras plantas.

Há outros trabalhos relatando o estímulo no crescimento de plantas e sua produtividade pela aplicação de rizobactérias. Pais et al. (2016) obtiveram resultados positivos após o isolamento e caracterização de bactérias oriundas de solos sob cultivo de cucurbitáceas e posterior aplicação no desenvolvimento de plântulas de melancia, onde alguns isolados aumentaram o comprimento da parte aérea. Resultados benéficos também foram observados no cultivo de cenoura a partir de rizobactérias isoladas da rizosfera de crotalária, em que alguns dos isolados permitiram maior produtividade (KOZUSNY-ANDREANI; AGIADO; ANDREANI JUNIOR, 2014).

O aumento da produtividade de culturas está diretamente relacionado à produção de hormônios de crescimento vegetal pelas rizobactérias. A produção da auxina do tipo ácido indolacético (AIA) permite o crescimento das raízes e o aumento de pêlos radiculares. Com isso, a absorção de água e nutrientes do solo melhoram e, em consequência, o crescimento vegetal (CABALLERO-MELLADO, 2006). Essas auxinas vêm sendo usadas para proporcionar maior formação de raízes em espécies ornamentais, florestais, medicinais e em frutíferas (VALMORBIDA et al., 2008).

Fachinello (2005) explicou que o uso de reguladores vegetais, como auxinas, citocininas, giberelinas, entre outros, apresenta forte influência no processo de formação de raízes em estacas e têm como objetivo proporcionar um início mais rápido e aumentar o número e a qualidade das raízes estabelecidas.

Nessa mesma linha, Neves et al. (2006) ressaltaram que a produção comercial de mudas por estaquia depende da eficiência de enraizamento de cada espécie, da condição do sistema radicular formado e do crescimento sequente da planta. Além disso, Oliveira et al. (2009b) ressaltaram que a temperatura, luminosidade, umidade, tipo de substrato, lesão na base da estaca e o tipo e a época de coleta são fatores que influenciam no processo de enraizamento. A exemplo disso, Spassin et al. (2016) demonstraram que, dependendo do período da coleta das miniestacas de *Eucalyptus dunnii*, as rizobactérias apresentaram efeitos benéficos ou deletérios sobre a sobrevivência das mesmas.

Com relação à cultura da oliveira também há estudos abordando o uso de rizobactérias como promotoras de enraizamento. No Brasil, o trabalho de Silva (2011) foi o pioneiro com relação à inoculação de bactérias diazotróficas não simbióticas, na cultura da oliveira. Nesse caso, alguns isolados apresentaram potencial de enraizamento de estacas de oliveira, com comportamento similar ao proporcionado pelo uso do hormônio sintético ácido indolbutírico (AIB). O mesmo ocorreu com os trabalhos de Mariosa (2014), a partir dos resultados do trabalho de Silva (2011), em que alguns isolados de rizobactérias permitiram um maior enraizamento de estacas de oliveira.

Os trabalhos de Montero-Calasanz et al. (2013), na Espanha, demonstraram o potencial de alguns isolados de rizobactérias produtoras de auxinas na indução do enraizamento de estacas semilenhosas de algumas cultivares de oliveira, em um sistema de agricultura orgânica. Tais autores constataram que, em condições de viveiro, todas as estirpes de rizobactérias testadas foram eficientes no processo de enraizamento de estacas de cultivares de oliveira, quando comparadas ao controle tratado com AIB, o que mostrou a viabilidade do uso dessas bactérias em um sistema de agricultura orgânica. Schilirò et al. (2012), na Espanha, comprovaram que a rizobactéria *Pseudomonas fluorescens* PICF7 agiu no biocontrole efetivo em raízes de oliveira contra a doença conhecida como verticilose, desencadeando uma proteção maior nessas raízes, pela ativação e modulação de diversas vias de defesa.

No Egito, os trabalhos de El Taweel, Omar e Shaheen (2014) também encontraram resultados benéficos da inoculação de *Bacillus polymyxa* sobre o crescimento vegetativo, o rendimento, a qualidade do fruto e os teores de nutrientes foliares em oliveira 'Manzanillo'. Já Peyvandi et al. (2010), no Irã, estudaram a formação e arquitetura radicular de oliveiras inoculadas com *Pseudomonas fluorescens*, observando uma melhora considerável no comprimento e no número de raízes adventícias e laterais quando comparados ao controle, apenas com AIB.

Como visto, o uso de rizobactérias em cultivares de oliveira é retratado em alguns trabalhos, porém ainda são incipientes. Tal fato justifica o presente trabalho, na tentativa de melhor compreender papel de alguns isolados de rizobactérias no enraizamento de estacas e no crescimento de mudas de oliveira, nas condições climáticas do Brasil.

3.5 Interações de FMAs e rizobactérias em culturas diversas

Entender as associações estabelecidas no meio edáfico, principalmente entre os diversos tipos de microrganismos e as plantas, é de grande importância para a ciência. O uso controlado desses microrganismos presentes na microbiota natural do solo pode reduzir o uso de fertilizantes químicos, já que aumenta a eficiência da biodisponibilidade de nutrientes e outras atividades relacionadas à promoção de crescimento de plantas (SAXENA; CHANDRA; NAIM, 2013).

Entre esses microrganismos, os FMAs e as rizobactérias ganharam mais importância nas últimas duas décadas, conforme apresentado anteriormente. Os mecanismos moleculares que controlam as interações rizosféricas benéficas no solo são complexos (DHAWI; DATTA; RAMAKRISHNA, 2015). Até o momento, sabe-se que os esporos produzidos pelos FMAs podem fornecer alimento e abrigo para as bactérias que colonizam as suas superfícies, protegendo-as de fatores de estresse ambiental, como dessecação, radiação, predação e salinidade (LEVY et al., 2009).

As rizobactérias estão entre os grupos microbianos que podem favorecer a germinação de esporos de FMAs devido à produção de alguns compostos como dióxido de carbono, etileno, amoníaco, aminas, álcoois, compostos de enxofre, entre outros (XAVIER; GERMIDA, 2003). Estes compostos influenciam a fisiologia das plantas por meio da elevação da permeabilidade das células das raízes, viabilizando a penetração do fungo e a formação da micorriza nas plantas (VIVAS et al., 2003).

Além disso, no processo de penetração das hifas infectivas dos FMAs, pode ocorrer maior exsudação de nutrientes pela planta, o que intensifica o crescimento das bactérias ali presentes (PAULA; REIS; DÖBEREINER, 1991). Por outro lado, as bactérias associadas aos esporos de FMAs podem provocar a intensificação e a rápida colonização do hospedeiro pelo fungo (BHOWMIK; SINGH, 2004). Os compostos exsudados pelas hifas de FMAs, como a glicoproteína glomalina, também intervm na constituição da comunidade microbiana na região hifosférica (BOMBERG et al., 2003).

Diversos trabalhos mostram resultados positivos da coinoculação de FMAs e rizobactérias em diferentes espécies vegetais. Dhawi, Datta e Ramakrishna (2015) mostraram que algumas combinações de FMAs com rizobactérias aumentaram a absorção de nutrientes pelo milho e seu crescimento, quando comparadas ao tratamento controle. Resultados semelhantes foram encontrados por Kumar et al. (2015), ao avaliarem a combinação de uma mistura de 6 espécies de FMAs (*Acaulospora morrowae*, *Gigaspora margarita*, *Glomus constrictum*, *Glomus mossae*, *Glomus aggregatum* e *Scutellospora calospora*) com 4 rizobactérias, isoladamente ou combinadas (*Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Azospirillum brasilense* e *Streptomyces* sp.), sobre o crescimento e desenvolvimento do milho. Quando combinadas todas as espécies de FMAs com todas as espécies de rizobactérias, observou-se uma taxa de crescimento de 82% na altura do milho em relação ao controle (sem inoculação).

O estudo de Krishnamoorthy et al. (2016) também envolveu a coinoculação de rizobactérias e FMAs em milho. Porém, neste trabalho, os autores tiveram o objetivo de avaliar se as interações planta-fungo-bactéria melhorariam a tolerância do milho ao estresse salino, resultando, ao final, em uma combinação que aliviou drasticamente a redução induzida pelo sal nas plantas, no tratamento controle.

Além de trabalhos retratando melhorias no crescimento e absorção de nutrientes em plantas e proteção destas contra o estresse salino, a inoculação simultânea de FMAs e rizobactérias em plantas permite a proteção destas contra patógenos, funcionando como biocontroles naturais. A exemplo disso, os trabalhos de Hernández-Montiel et al. (2013) objetivaram determinar a capacidade de um complexo formado por várias espécies de FMAs combinadas com *Pseudomonas putida* (e também separadamente) em controlar a podridão radicular do mamão causada por *Fusarium oxysporum*. A combinação do complexo micorrízico (composto pela mistu-

ra dos FMAs *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum* e *Gigaspora albida*) com a rizobactéria *Pseudomonas* sp. se mostrou eficaz no biocontrole da doença, possibilitando diminuir o uso de fungicidas químicos.

A coinoculação de FMA e bactérias, além de promover às plantas os benefícios já citados, pode auxiliar a planta a tolerar períodos de seca. A exemplo disso, o trabalho de Armada et al. (2016), na Espanha, ao investigarem a coinoculação da rizobactéria *Bacillus thuringiensis* com espécies micorrízicas, e também individualmente, em plantas de *Lavandula dentata*, verificaram que a combinação de tais microrganismos aumentou o crescimento da planta em estudo, pela redução do metabolismo oxidativo dos lipídios o que indica atenuação do estresse pela seca. Fatores ambientais estressantes, tanto abióticos como bióticos, têm contribuído para uma baixa produção agrícola em virtude de desequilíbrios hormonais e nutricionais nas plantas, susceptibilidade a doenças e vários outros, o que pode ser melhorado com a aplicação de inoculantes microbianos (NADEEM et al., 2014) (Figura 1).

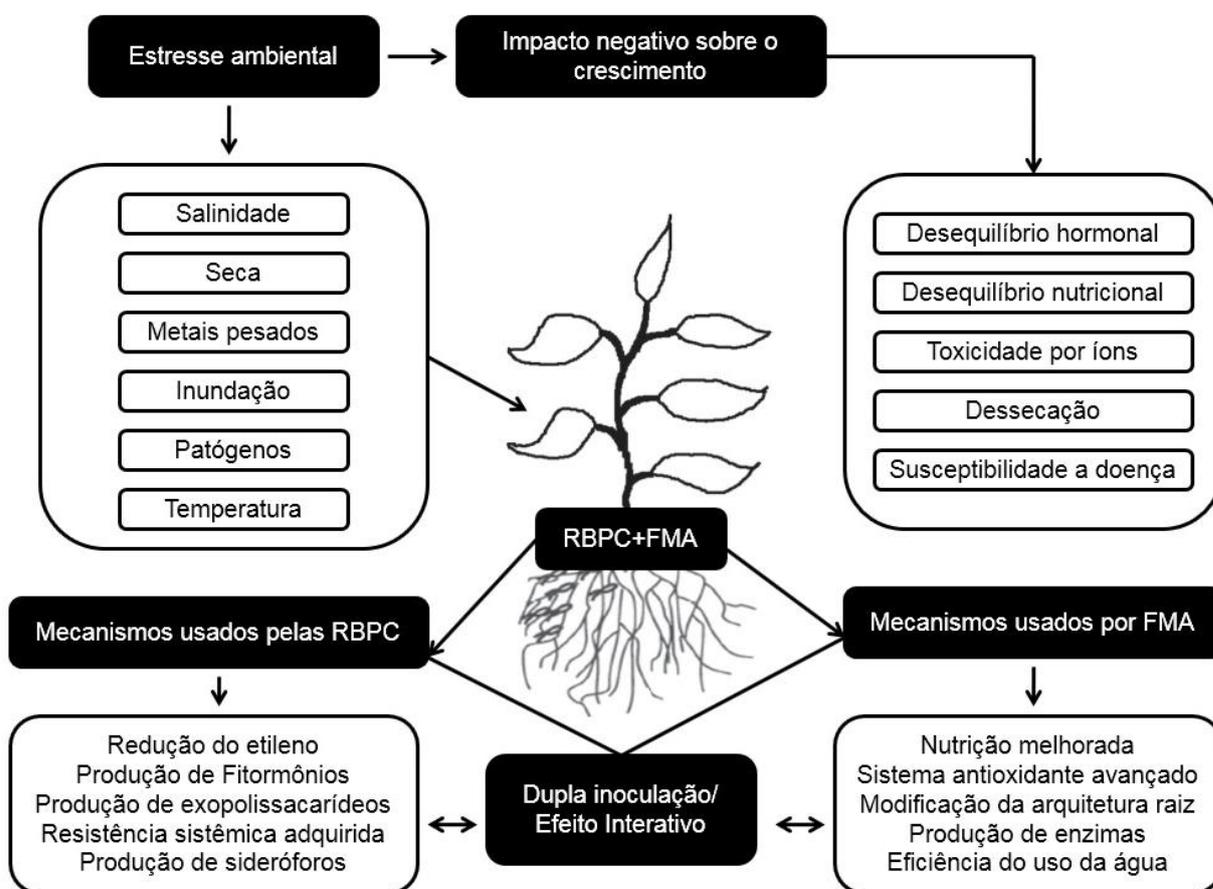


Figura 1- Mecanismos usados pelos FMAs e RBPC na melhoria do crescimento de plantas. Traduzido de Nadeem et al. (2014).

A inoculação mista de microrganismos também é retratada no trabalho de Bona et al. (2016), na Itália. A coinoculação de FMA e rizobactérias sobre a qualidade de frutos de tomateiro promoveu melhorias na produção de flores e frutos e nas concentrações de vitamina e açúcares. Inoculação conjunta de FMA e rizobactérias também é retratada em literatura como maneira viável para restauração sustentável de solos degradados, já que estes microrganismos apresentam potencial de restabelecer a fertilidade do solo por meio de vários processos, como o aumento da biodisponibilidade de nutrientes (RASHID et al., 2016).

Como visto, a literatura científica retrata claramente os efeitos benéficos da coinoculação de FMAs e rizobactérias em diversas culturas. Porém, em oliveira, há apenas o trabalho de Mridha et al. (2013) que analisou o estado atual sobre o papel das micorrizas e das rizobactérias no crescimento de plantas de oliveira. Assim, reforça-se a importância do presente estudo na tentativa de registrar os efeitos da coinoculação de FMAs e rizobactérias em mudas de oliveira, contribuindo para o melhor conhecimento da olivicultura, que se inicia no enraizamento e produção de mudas, processos esses dependentes do potencial biotecnológico de grupos microbianos específicos como os FMAs e rizobactérias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte do projeto CAG-FAPEMIG APQ 02152-14 e foi conduzido de agosto de 2015 a setembro de 2016, na casa de vegetação da Universidade Federal de Itajubá (Unifei), em Itajubá (MG).

As cultivares de oliveira utilizadas nesse trabalho foram a Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE), cuja escolha foi devida à sua importância regional. Tais cultivares pertencem ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da FEMF-EPAMIG, localizada no município de Maria da Fé, sul de Minas Gerais (22° 18' Sul e 45° 23' Oeste, altitude média de 1.276 m), que possui classificação climática de Köppen tipo Cwb, ou seja, clima temperado chuvoso (mesotérmico), também denominado subtropical de altitude (SILVA et al., 2012c).

Os isolados das rizobactérias *Pseudomonas* sp., *Paenibacillus* sp1. e *Paenibacillus* sp2. foram identificados pelo Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja e obtidos por Silva (2011), a partir de amostras de solo coletadas na Reserva Biológica Serra dos Toledos, localizada em Itajubá/MG. Esses isolados foram selecionados por apresentarem as maiores produções de ácido indolacético (AIA), conforme Silva et al. (2017). Já os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), *Acaulospora scrobiculata*, *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus*, foram selecionados em vista de sua grande dispersão ambiental e baixa especificidade natural aos hospedeiros, oriundos da coleção pertencente à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Esalq/USP.

4.1 Montagem do experimento e enraizamento das mudas das cultivares de oliveira coinoculadas com FMAs e rizobactérias na casa de vegetação da FEMF

Conduziram-se 3 experimentos simultaneamente em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com esquema fatorial 3x3+1, por cultivar de oliveira (Arbequina, Maria da Fé e Grappolo 541), avaliando-se os 3 isolados de rizobactérias combinados com 3 espécies de FMAs, com três repetições por tratamento e um controle total (sem inoculação), totalizando 30 unidades experimentais (U.E.) por experimento. As estacas das três cultivares de oliveira foram tratadas com solução de ácido indolbutírico (AIB) diluída em álcool etílico e água 50%, a uma concentração de 3000 mgL⁻¹. Em seguida, as estacas foram plantadas em bancadas (canteiros) de

propagação a uma profundidade de quatro a cinco centímetros em areia de textura média, lavada e desinfestada com hipoclorito de sódio 1% na casa de vegetação da FEMF (Epamig) (Figura 2).



Figura 2- Plantio das estacas das três cultivares de oliveira em canteiros de propagação.

Após o enraizamento, foram escolhidas as estacas e uniformizadas quanto ao tamanho, idade e número de folhas, e transplantadas (Figura 3) em sacos para mudas de polietileno com capacidade de 1,5 kg, cujo substrato foi composto de uma parte de areia de rio lavada e duas partes de solo de um horizonte A, proveniente de um Latossolo Vermelho distrófico típico, peneirado em malha de 2 mm e esterilizados em autoclave (1 h a 121°C), em dois dias alternados. Esta fase do experimento foi conduzida na casa de vegetação da Unifei.



Figura 3 - Transplântio das estacas de oliveira para sacos de polietileno de 1,5 kg contendo uma parte de areia e duas partes de substrato.

Cada saco recebeu apenas uma estaca enraizada, constituindo uma unidade experimental. A infestação do substrato com propágulos de FMAs (Figura 4A) e suspensão de rizobactérias selecionadas (Figura 4B) foi realizada uma semana após o transplântio das estacas enraizadas para os sacos de polietileno com capacidade de 1,5 kg. Para isso, foram utilizados esporos das diferentes espécies de FMAs, aplicados ao lado das raízes, próximo ao colo das plantas. Cerca de 100 esporos por planta foram separados por peneiramento úmido, seguindo metodologia de Gerdemann e Nicolson (1963). A suspensão bacteriana foi realizada conforme metodologia proposta por Silva (2011), adicionando células bacterianas na fase de melhor crescimento exponencial e concentrações de 10^9 células mL^{-1} de inoculante ao meio Dygs, submetido à agitação em temperatura ambiente (28°C), por três dias, aplicando-se em seguida, 10 mL de inoculante por amostra.



A

B

Figura 4 - A. Coinoculação dos microrganismos: Inoculação dos esporos das espécies de FMAs; B. Inoculação das rizobactérias.

4.2 Acompanhamento do crescimento e desenvolvimento das mudas das cultivares de oliveira coinoculadas

O desenvolvimento das mudas foi acompanhado por 12 meses em casa de vegetação da Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI e avaliado por meio das seguintes variáveis respostas: altura da base até a última folha (Figura 5A), com auxílio de uma régua graduada; diâmetro do colo (Figura 5B), com auxílio de um paquímetro digital; contagem do número de folhas a partir de 1 cm de comprimento; matéria fresca da parte radicular; matéria seca da parte aérea; teor de fósforo e nitrogênio da parte aérea; acúmulo de fósforo e nitrogênio da parte aérea aos 12 meses. Quanto às variáveis microbiológicas, foram quantificadas: a intensidade e porcentagem de colonização micorrízica (BETHLENFALVAY; PACOVSKY; BROWN, 1981; GIOVANNETTI; MOSSE, 1980; PHILLIPS; HAYMAN, 1970), comprimento de micélio extraradicular total (MELLONI; CARDOSO, 1999) e número de esporos de FMAs (GERDEMANN; NICOLSON, 1963).



A

B

Figura 5 – Medições da altura (A) e diâmetro do caule (B) das mudas de oliveira.

4.3 Desmontagem do experimento e preparo de amostras

Aos 12 meses, o experimento foi desmontado na casa de vegetação da Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI. Os substratos foram colocados individualmente em sacos plásticos transparentes, de 2 kg (Figura 6A), não esterilizados e devidamente enumerados. As raízes foram separadas do substrato e colocadas em sacos plásticos de 500 g (Figura 6B), devidamente enumerados. Colocou-se papel toalha na abertura de cada saco plástico e amarrou-se levemente com um barbante a fim de permitir a troca de ar interno-externo (Figura 6C). Em seguida, foram armazenados e conservados em câmara fria a 6°C até as análises microbiológicas (Figura 6D).



Figura 6 – A. Solo sendo colocado nos sacos plásticos; B. Raízes sendo separadas em sacos plásticos; C. Detalhe do papel toalha na abertura de cada saco plástico com o solo; D. Amostras de solo em câmara fria.

Os sacos plásticos contendo as raízes foram levados para o laboratório de solos do Centro de Estudos em Qualidade Ambiental (Cequam), da Universidade Federal de Itajubá, onde as raízes foram colocadas em peneiras de plástico e lavadas em água corrente para retirada do excesso de partículas de solo e material orgânico (Figura 7A). Posteriormente, essas raízes foram dispostas em bancadas, sobre papéis toalha, para retirada do excesso de umidade, em temperatura ambiente (Figura 7B). Em seguida, as raízes foram pesadas em balança analítica (Figura 7C) e colocadas em recipientes plásticos enumerados contendo solução de álcool etílico 70%, até a análise da colonização micorrízica (Figura 7D).



Figura 7 – A. Lavagem das raízes em água corrente; B. Raízes dispostas sobre bancada em papéis toalhas para secagem em temperatura ambiente; C. Pesagem das raízes em temperatura ambiente; D. Armazenamento das raízes em álcool 70%.

A parte aérea das 90 amostras foi cortada rente ao colo das plantas e colocada em sacos de papel, não esterilizados e devidamente enumerados. No laboratório de solos do Centro de Estudos em Qualidade Ambiental (CEQUAM), com auxílio de caixas, foram colocadas em estufa de secagem por 72 horas à temperatura de 60°C (Figura 8A). Após a secagem, cada amostra foi pesada em balança analítica (Figura 8B) e, posteriormente, acondicionada em caixas para serem enviadas para Universidade Federal de Lavras (Ufla), para determinação dos teores de fósforo e nitrogênio da parte aérea.

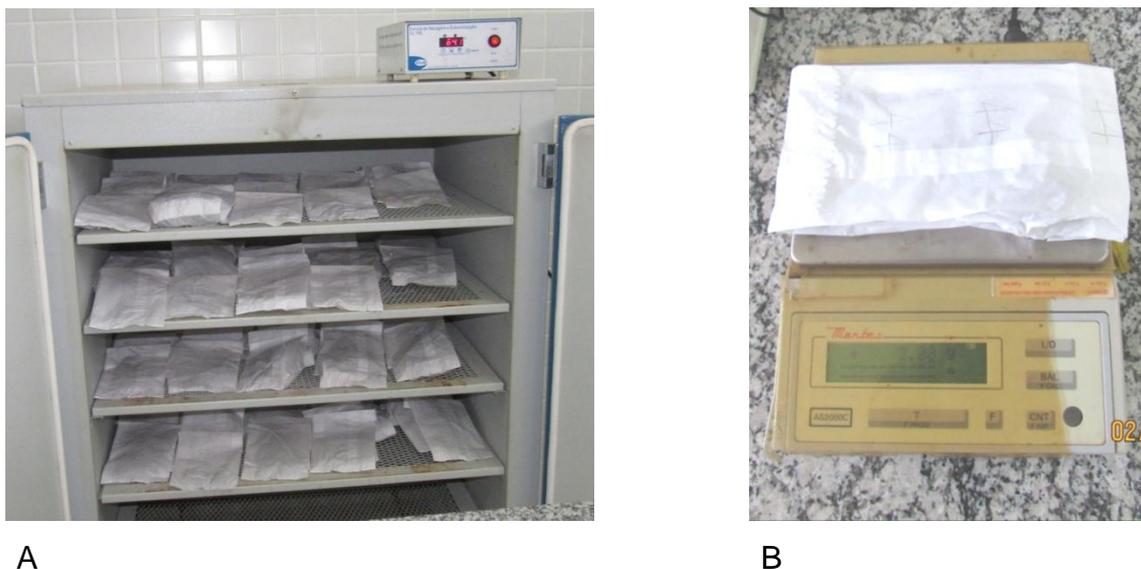


Figura 8- A. Parte aérea das plantas em estufa; B. Parte aérea das plantas sendo pesada após secagem em estufa.

4.4 Intensidade de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares

Para o preparo das amostras para avaliação da intensidade de colonização radicular, utilizou-se o método descrito por Phillips e Hayman (1970), com modificações. Aproximadamente 1 g de raízes de cada amostra foram cortadas em pedaços de aproximadamente 1 cm com auxílio de uma tesoura e colocadas em cassetes (Figura 9A). Esses cassetes foram colocados em béqueres com solução de KOH a 10% em banho-maria a 90°C, por 30 minutos para clarificação (Figura 9B). Em seguida, retirou-se essa solução de KOH, enxaguou-se em água corrente e, posteriormente, colocou-se solução de HCl a 1% por 10 minutos para acidificar as raízes. Após isso, as raízes foram lavadas em água corrente diversas vezes e coradas com lactoglicerol e azul de tripano por meio de aquecimento em banho-maria a 90°C, por 10 minutos. Por fim, o corante foi descartado e as raízes foram retiradas dos cassetes e colocadas em recipientes enumerados. Posteriormente, utilizou-se uma solução de lactoglicerol incolor, composta por mistura de 500 mL de glicerina + 500 mL de água destilada + 5 mL de HCl para conservação das raízes antes das observações microscópicas.



Figura 9 – A. Raízes colocadas em cassetes; B. Amostras das raízes com KOH em banho-maria.

Para a avaliação da intensidade de colonização radicular, 10 segmentos de raízes de cada amostra foram dispostos em lâmina de microscopia (Figura 10), cobertas com lamínulas e levadas ao microscópio óptico em aumento real de 100X, atribuindo-se notas de 0 a 100 em cada segmento de raiz, conforme a ocupação da área radicular pelas estruturas fúngicas (BETHLENFALVAY; PACOVSKY; BROWN, 1981).



Figura 10 - Disposição dos segmentos de raízes em lâmina de microscopia para observação em microscópio no aumento de 100x.

As estruturas fúngicas presentes nas raízes das plantas de oliveira foram observadas em microscópio com aumento de 100X (Figura 11).

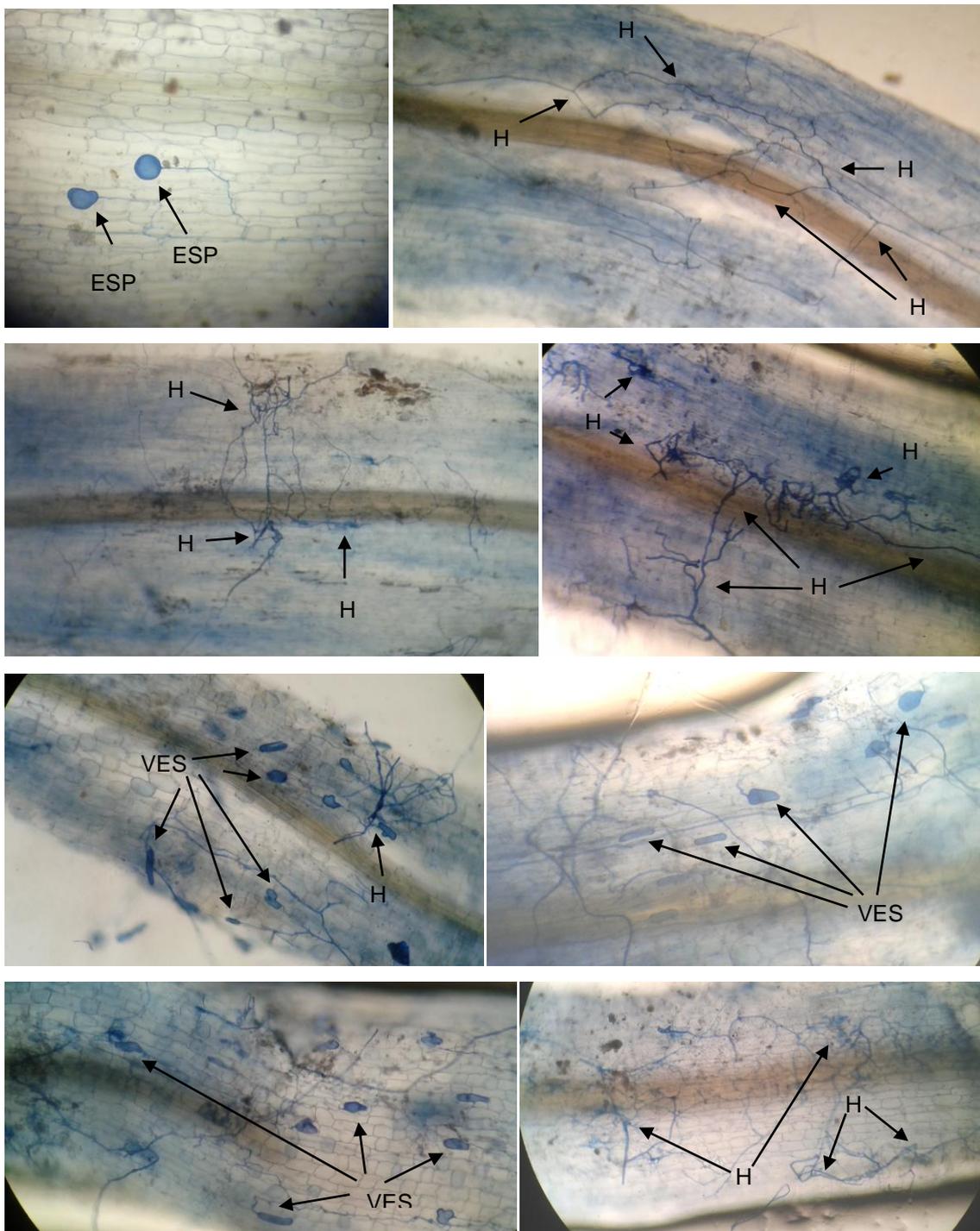


Figura 11 – Estruturas fúngicas de FMA observadas nas diferentes cultivares de oliveira no aumento de 100X. Estruturas indicadas por setas. ESP. Esporos; H. Hifas; VES. Vesículas.

4.5 Porcentagem de colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares

A porcentagem de colonização radicular foi estimada pelo método da interseção em placa quadriculada (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980), em lupa microscópica com aumento de 40X. As raízes de cada amostra, armazenadas em recipientes com lactoglicerol incolor, foram dispostas sobre uma placa quadriculada (Figura 12). Avaliou-se a interseção de fragmentos de raízes com as linhas horizontais da placa, observando e registrando se a raiz apresentava ou não estruturas fúngicas, com auxílio de um contador manual.



Figura 12 - Amostras de raízes em placa quadriculada para análise da porcentagem de colonização micorrízica.

4.6 Umidade das amostras de substrato

A verificação da umidade das amostras do substrato foi feita pela pesagem de cadinhos metálicos antes e após secagem em estufa (Tecnal – TE 397/4) por 24 horas, por aproximadamente 105°C (EMBRAPA, 1997) (Figura 13). A umidade é utilizada para estabelecer a unidade da variável microbiológica micélio extrarradicular total (MET), especificados a seguir.

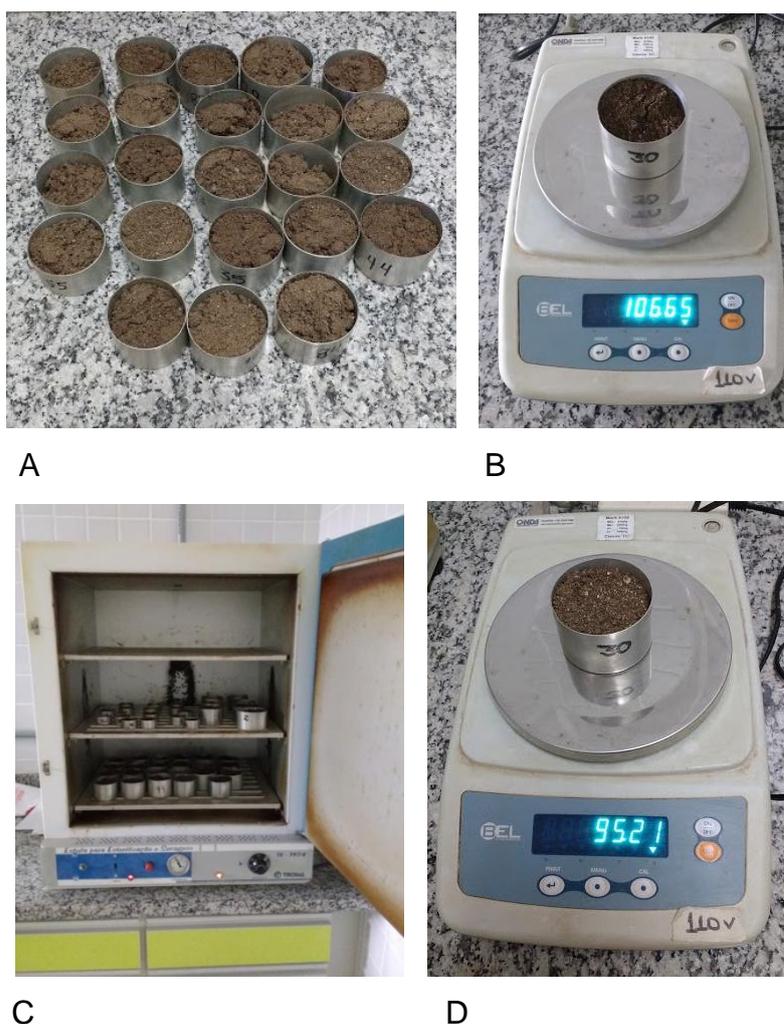


Figura 13 – A. Amostras de solo úmido nos cadinhos metálicos; B. Pesagem de amostra com solo em balança analítica antes da secagem em estufa; C. Cadinhos com as amostras em estufa de secagem; D. Pesagem de amostra com solo em balança analítica depois da secagem em estufa.

4.7 Preparo das amostras para extração do micélio extrarradicular total

A extração do micélio extrarradicular total de FMAs (MET) seguiu o método proposto por Melloni e Cardoso (1999). Para cada amostra de substrato armazenado em câmara fria, retiraram-se 10 g (Figura 14A) aos quais foram adicionados 500 mL de água da torneira, em um béquer de 1 L (Figura 14B). A suspensão foi agitada com bastão de vidro (Figura 14C), e peneirada em peneiras de malhas de 0,500 mm e 0,250 mm para eliminação de impurezas grosseiras, cujo peneirado foi submetido à agitação em um liquidificador (Figura 14D) (maior velocidade).



A



B



C



D

Figura 14 – A. Pesagem do solo; B. Adição de 500 mL de água; C. Suspensão sendo mexida; D. Peneiramento em peneiras de malha de 0,500 mm e 0,250 mm em liquidificador.

Após a agitação em liquidificador por 30 segundos (Figura 15A), manteve-se em repouso por dois minutos, antes da retirada de alíquota de 500 mL em uma proveta (Figura 15B). O conteúdo da proveta foi peneirado na malha de 0,045 mm (Figura 15C), e 11 mL do retido foram recolhidos com auxílio de uma pipeta volumétrica de 20 mL (Figura 15D) e distribuídos em dois frascos de vidro (5mL para cada frasco) (Figura 15E e 15F).



Figura 15 – A. Agitação por 30 s; B. Retirada de 500 mL da amostra com uma proveta; C. Peneiração em peneira de malha 0,045 mm; D. Recolhimento de 11 mL da amostra; E e F. Transferência do retido para frascos de vidro.

O período de incubação foi de 5 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, realizou-se uma filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose, quadriculada (linhas horizontais e verticais distanciadas de 3 mm), de 47 mm de diâmetro e 0,45 μm de porosidade (Figura 16A e 16B). Esta foi seca ao ar e colocada sobre uma lâmina de vidro de 25 cm^2 (Figura 16C), antes da demarcação dos campos (Figura 16D) a serem avaliados em microscópio de fluorescência (Olympus System Microscope Model BX40), conforme metodologia proposta por Melloni e Cardoso (1999).

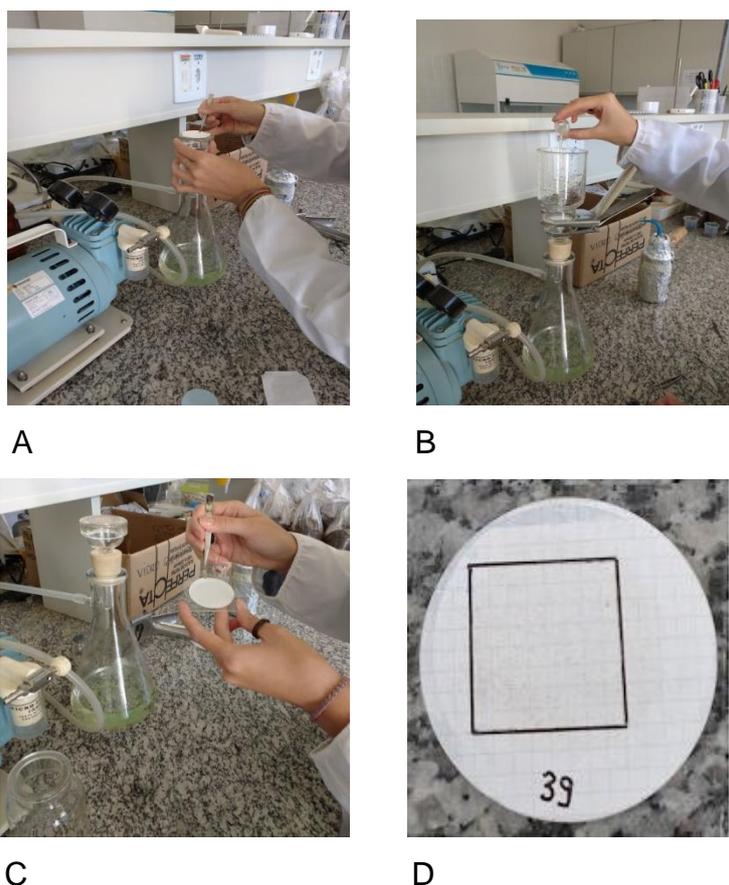


Figura 16 - A e B. Filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose; C. Colocação da membrana em lâmina de vidro; D. Demarcação dos campos de 8x8 para observação em microscopia.

Para a observação em microscópio de epifluorescência, acoplou-se na ocular do microscópio um dispositivo (descrito na literatura internacional como “eye piece whipple disc”, ocular reticulada) com área de 100 mm^2 (no aumento de 10 vezes), composto de 10 linhas verticais e 10 horizontais. A área correspondente ao reticulado foi sobreposta a cada campo da membrana, num total de 64 campos (8 x 8). Em cada campo, avaliou-se o número de interseções de hifas com as linhas horizontais do reticulado e aplicou-se a equação de Newman (1966), corrigindo o valor obtido de acordo com o teor de água presente no substrato, o aumento e os volumes das alíquotas utilizadas.

Para o MET foi necessária contagem da interseção sob luz branca. Após a contagem do número de interseções entre hifas e linhas horizontais do reticulado em todos os campos demarcados da membrana e, de posse da quantidade de amostra utilizada e das diluições sugeridas, o comprimento do MET foi obtido pelo uso da equação simplificada, apresentada em Melloni e Cardoso (1999):

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

em que

C = comprimento de micélio extrarradicular (ativo e total), 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.

4.8 Número de esporos

Para determinação do número de esporos nas amostras utilizou-se o método do peneiramento úmido descrito por Gerdemann e Nicolson (1963), com adaptações. Para isso, um volume de 50 mL de substrato úmido foi recolhido de cada amostra armazenada em câmara fria, com auxílio de um béquer (Figura 17A). Em seguida, este substrato foi submetido a três lavagens, sendo colocado em béquer de 2000 mL (Figura 17B), e completado com 700 mL de água corrente (Figura 17C), agitado uniformemente com um bastão de vidro (Figura 17D) e peneirado em peneiras de malhas 0,71 e 0,053 mm) (Figura 17E). O retido nessa última peneira foi transferido para tubos de centrífuga (Falcon®), com auxílio de um funil e pisseta com água (Figura 17F e G). Em seguida, cada tubo contendo o retido foi submetido à centrifugação, inicialmente por 3000 rpm (rotações por minutos) durante 3 minutos (Figura 17H).

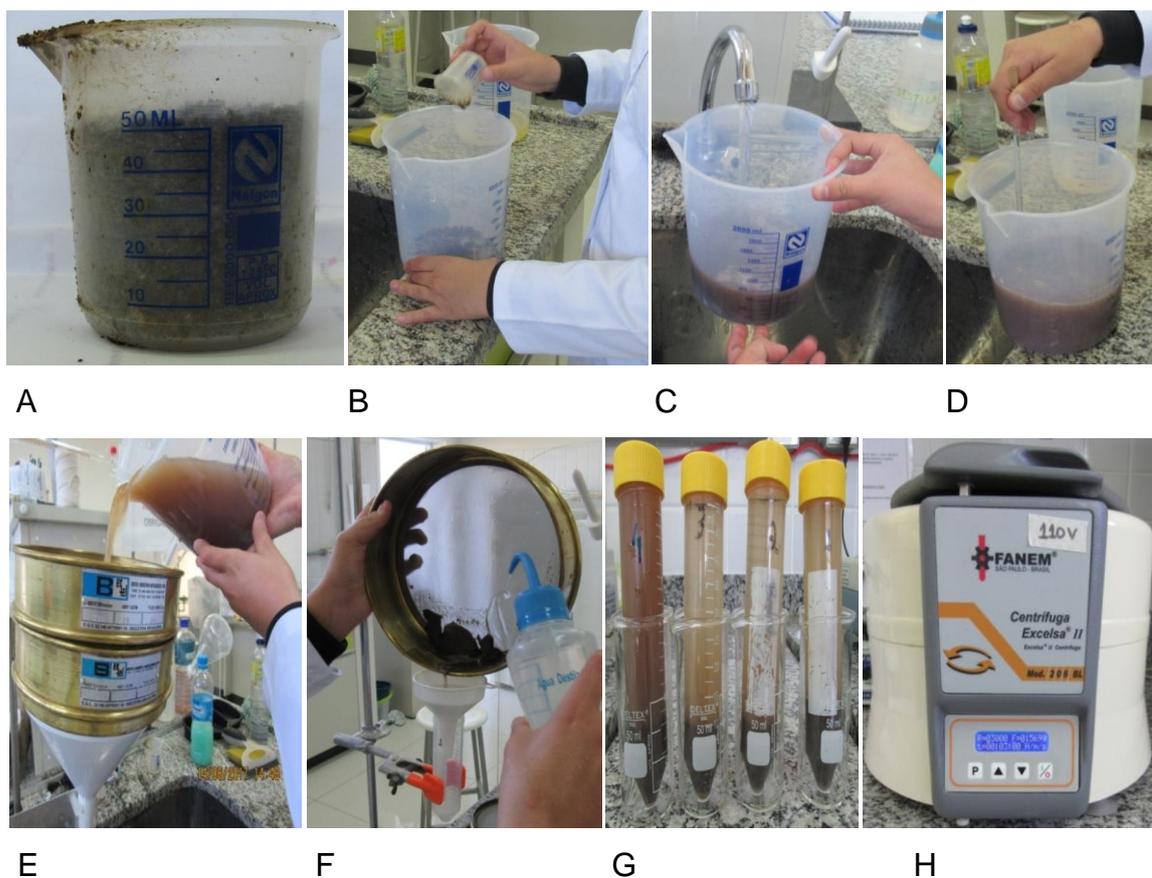


Figura 17- A. Volume de 50 mL de solo; B. Substrato sendo colocado em um béquer; C. Água sendo colocada no béquer; D. Agitação uniforme com bastão de vidro; E. Peneiramento; F e G. Resultado do peneiramento sendo transferido para tubos de centrifuga; H. Centrifugação a 3000 rpm por 3 minutos.

Posteriormente, o sobrenadante foi descartado (Figura 18A), acrescentando-se, em seguida, uma solução de sacarose 50% (Figura 18B). Posteriormente, agitou-se a suspensão de esporos e sacarose 50% (Figura 18C) e submeteu-se à nova centrifugação por 2 min a 2000 rpm (Figura 18D). O sobrenadante (contendo esporos, menos densos que a solução de sacarose) foi transferido para uma peneira de malha de 0,045 mm (Figura 18E) e, em seguida, lavada em água corrente (Figura 18F). O retido nesta peneira foi transferido para um recipiente de vidro pequeno com auxílio de um funil e pisseta com água (Figura 18G). A observação dos esporos foi feita em lupa microscópica, em aumento real de 40X (Figura 18H), em placa concêntrica de plástico (9 circunferências com depressão em relação à superfície da placa) e a contagem do número total de esporos foi realizada com auxílio de um contador manual. O resultado foi expresso em número de esporos por 50 mL de amostra de substrato.

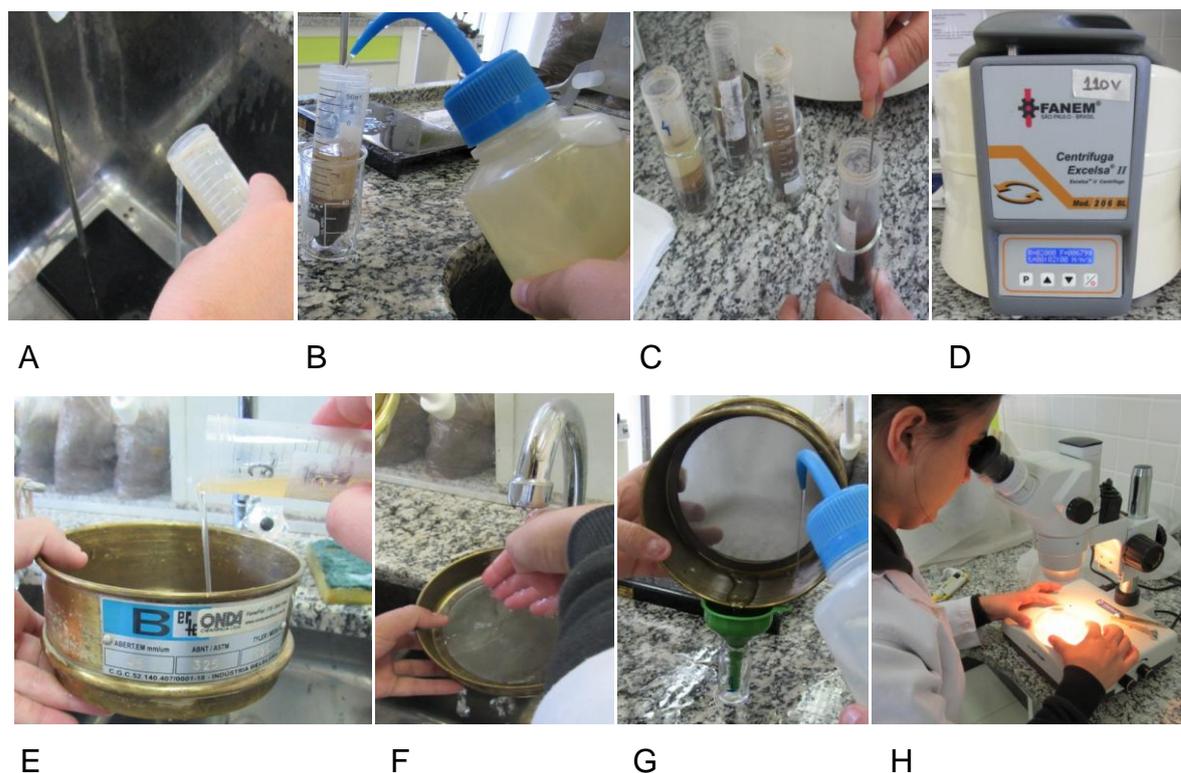


Figura 18- A. Descarte do sobrenadante; B. Adição de sacarose 50%; C. Agitação da suspensão de sacarose e esporos; D. Centrifugação a 2000 rpm por 2 minutos; E. Transferência para peneira de malha 0,045mm; F e G. Lavagem seguida da transferência para um recipiente de vidro; H. Observação dos esporos em lupa microscópica em aumento de 40X.

4.9 Análises estatísticas

Para cada variável, realizou-se 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, foi aplicada a transformação $\sqrt{x+1}$ (STORCK et al., 2016). Posteriormente, realizou-se a análise de variância (ANOVA) para verificar se houve diferença entre as fontes de variação avaliadas (níveis dos fatores rizobactérias e FMAs). Para os atributos que apresentaram significância, realizou-se a comparação de médias pelo teste Skott e Knott a 5% de probabilidade. Para estas análises, foi utilizado o programa estatístico R Core Team (2017), com o pacote estatístico ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2011). Para avaliar a interação entre as variáveis 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

Os resultados foram apresentados por cultivar de oliveira, de modo a facilitar o entendimento, uma vez que há muitas variáveis analisadas e interações significativas. Devido à inexistência de estudos de coinoculação de FMAs e rizobactérias em cultivares de oliveiras publicados em literatura nacional e internacional, considerando um período de pesquisa de 14 anos (de 2003 a 2017), os resultados foram discutidos com base em outras culturas, mesmo sabendo-se que existe variação da resposta da interação de microrganismos em diferentes hospedeiros (CARDOSO; ANDREOTE, 2016; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

5.1 Cultivar Arbequina

As variáveis altura, diâmetro do colo, matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de fósforo e micélio extrarradicular total apresentaram interação entre FMAs e das rizobactérias (Figura 19). Esses resultados corroboram os encontrados por Kumar et al. (2015), ao estudarem a interação entre FMAs e rizobactérias na cultura do milho (*Zea mays*). Tais autores estudaram quatro espécies de rizobactérias (*Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Azospirillum brasilense* e *Streptomyces* sp.), combinadas ou isoladas com uma mistura de solo rizosférico contendo esporos de seis espécies de FMAs (*Acaulospora morrowae*, *Gigaspora margarita*, *Glomus constrictum*, *Glomus mossae*, *Glomus aggregatum* e *Scutellospora calospora*). Os resultados desses autores mostraram que a inoculação com todas as rizobactérias e FMAs dobrou os valores de matéria seca da parte aérea, raiz e altura, quando comparada ao controle, o que resultou em uma maior produtividade. Esse aumento pode ter sido devido à capacidade das rizobactérias aumentarem o efeito micorrízico, uma vez que os parâmetros físico-químicos (liberação de exsudatos radiculares, acidificação pela liberação de prótons, secreção de fitormônios pelas rizobactérias, entre outros) são regulados por essa interação e, consequentemente, afetam o crescimento da planta, conclusões estas que também podem ser replicadas para essa cultivar de oliveira.

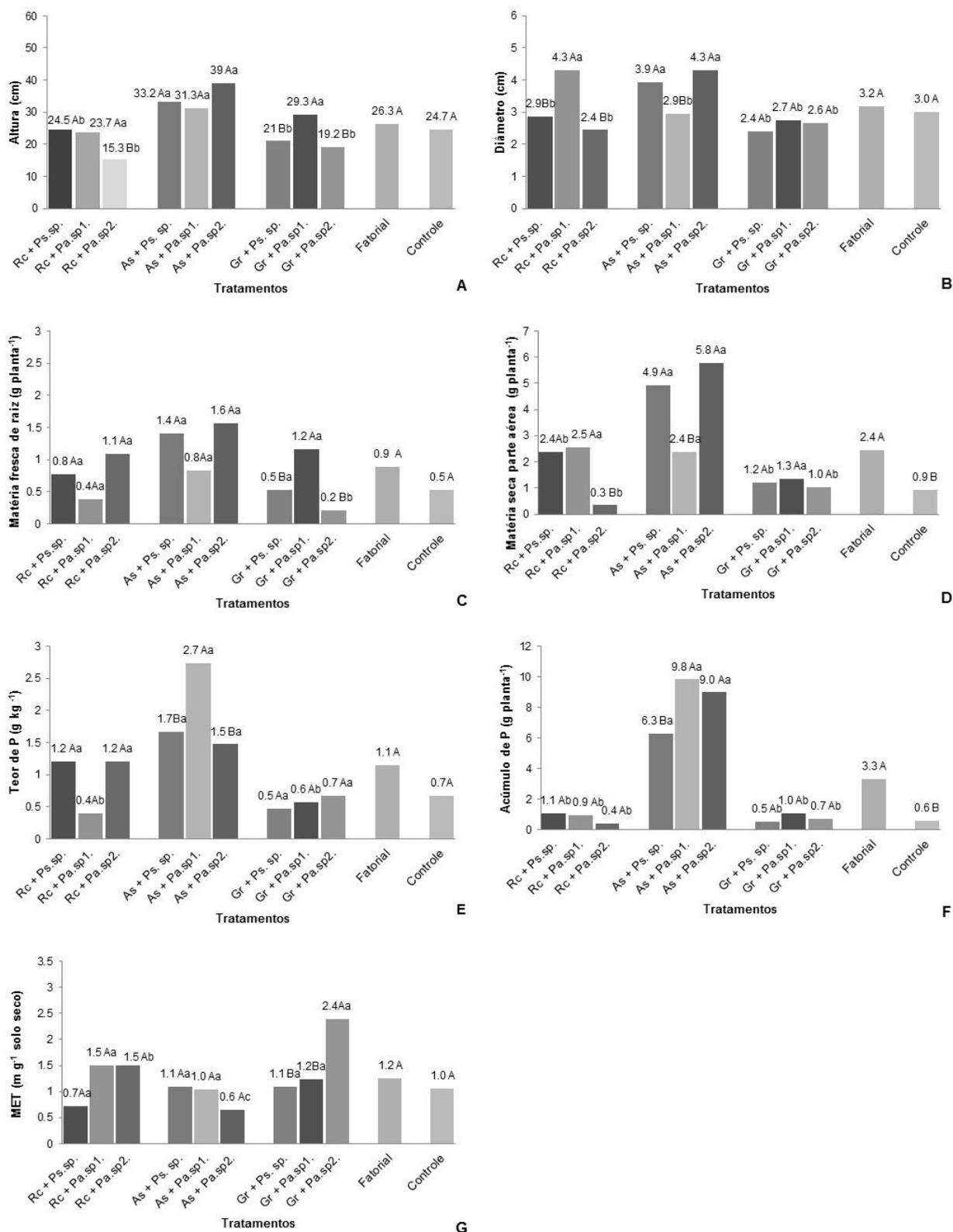


Figura 19 - Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Arbequina, sobre: A-Altura; B-Diâmetro; C-Matéria fresca de raiz; D-Matéria seca parte aérea; E-Teor de P; F-Acúmulo de P; G-MET. Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nos grupos e minúsculas entre os grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

*Rc = *Rhizophagus clarus*.; As = *Acaulospora scrobiculata*.; Gr = *Gigaspora rosea*.; Ps.sp. = *Pseudomonas* sp.; Pa.sp1. = *Paenibacillus* sp1.; Pa.sp2. = *Paenibacillus* sp2.

Para a altura (Figura 19A), não houve diferença estatística entre o fatorial (26,3 cm), com a combinação entre as rizobactérias e os FMAs, e o controle (24,7 cm), sem inoculação. Já em relação à coinoculação FMAs e rizobactérias, a combinação do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. proporcionou a maior altura (39 cm) e não diferiu estatisticamente quando este mesmo FMA foi combinado com as rizobactérias *Pseudomonas* sp. (33,2 cm) e *Paenibacillus* sp1. (31,3 cm).

Assim como para a altura, o diâmetro do colo (Figura 19B) também não apresentou diferença estatística entre o fatorial (3,2 cm) e o controle (3,0 cm). No que se refere à coinoculação, as combinações *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (4,3 cm), *A. scrobiculata* + *Pseudomonas* sp. (3,9 cm) e *R. clarus* + *Paenibacillus* sp1. (4,3 cm) não diferiram estatisticamente entre si e foram superiores às demais combinações.

Com relação à matéria fresca de raiz (Figura 19C), essa variável também não apresentou diferença estatística entre o fatorial (0,9 g planta⁻¹) e o controle (0,5 g planta⁻¹). Quanto à coinoculação, as combinações do FMA *A. scrobiculata* com as rizobactérias *Pseudomonas* sp. (1,4 g planta⁻¹), *Paenibacillus* sp1. (0,8 g planta⁻¹) e *Paenibacillus* sp2. (1,6 g planta⁻¹) e *G. rosea* + *Paenibacillus* sp1. (1,2 g planta⁻¹) promoveram os maiores valores de massa de matéria fresca de raiz e não diferiram estatisticamente entre si. Esses resultados corroboram os encontrados nos trabalhos de Rodríguez-Romero, Guerra, Jaizme-Vega (2005), ao estudarem os efeitos do FMA *Glomus manihotis* e um consórcio de rizobactérias *Bacillus* spp. sobre o crescimento e nutrição de bananeira durante a fase de formação das mudas. Os autores verificaram um aumento significativo nessas variáveis, como matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea e altura, significativamente maiores que o controle, sem inoculação. Estes autores justificaram os benefícios da dupla inoculação proporcionados às mudas de bananeira como resultados da alta especificidade em termos de compatibilidade funcional envolvida nas interações microbianas da rizosfera.

Para matéria seca da parte aérea (Figura 19D), o fatorial promoveu maior valor (2,4 g planta⁻¹) do que o controle (0,9 g planta⁻¹), diferindo estatisticamente deste. Quanto à coinoculação, as combinações do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (5,8 g planta⁻¹) e *A. scrobiculata* + *Pseudomonas* sp. (4,9 g planta⁻¹) promoveram os maiores valores de massa seca da parte aérea e não diferiram estatisticamente entre si. Um maior peso de matéria seca total foi observado no trabalho de Kim et al. (2010), com um experimento que avaliou o crescimento de pimenta vermelha (*Cap-*

sicum annum L.) inoculada com duas cepas de *Methylobacterium oryzae* e um consórcio de três espécies de FMAs (*Acaulospora longula*, *Glomus clarum* e *Glomus intraradices*). Tais autores verificaram que a coinoculação promoveu maior matéria seca da parte aérea das mudas de pimenta, do que a inoculação separada, quando comparado ao controle, sem inoculação.

O teor de fósforo (Figura 19E) não apresentou diferença estatística entre o fatorial ($1,1 \text{ g kg}^{-1}$) e o controle ($0,7 \text{ g kg}^{-1}$). Em relação à coinoculação, a combinação do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp1. promoveu o maior teor de fósforo ($2,7 \text{ g kg}^{-1}$), diferindo estatisticamente de todas as demais combinações.

Quanto ao acúmulo de fósforo (Figura 19F), o fatorial proporcionou maiores incrementos de fósforo ($3,3 \text{ g planta}^{-1}$) do que o controle ($0,6 \text{ g planta}^{-1}$), diferindo estatisticamente deste. Já acerca da coinoculação, as combinações dos FMAs *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp1. ($9,8 \text{ g planta}^{-1}$) e *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. ($9,0 \text{ g planta}^{-1}$), promoveram os maiores acúmulos de fósforo, não diferindo estatisticamente entre si. Nos trabalhos de Kim et al. (2010), anteriormente citados, verificou-se também um maior acúmulo de nutrientes (todos os macro e micronutrientes) nas raízes e parte aérea de plantas de pimenta coinoculadas.

Em relação às variáveis microbiológicas, o micélio extrarradicular total (Figura 19G) não apresentou diferença estatística entre o fatorial ($1,2 \text{ m g}^{-1}$) e o controle ($1,0 \text{ m g}^{-1}$). Quanto à coinoculação, a combinação do FMA *G. rosea* + *Paenibacillus* sp2., promoveu maior comprimento do micélio extrarradicular total ($2,4 \text{ m g}^{-1}$), diferindo estatisticamente de todas as outras combinações. Valadares, Mescolotti e Cardoso (2016) afirmam que durante a colonização micorrízica pelo fungo, o grande volume de micélio é capaz de explorar regiões onde as raízes das plantas não conseguem chegar, absorvendo nutrientes essenciais às plantas, como fósforo, e também otimizando o uso da água e a estabilidade dos agregados do solo. Para o presente estudo com oliveira, a quantidade produzida de micélio nos tratamentos não diferiu estatisticamente do controle, onde a presença de fungos não micorrízicos (hifas septadas) também foi evidenciada. No entanto, pode-se verificar que a quantidade de micélio do controle não foi suficiente para aumentar o acúmulo de P na planta (Figura 19F) e nem promover formação de massa seca da parte aérea (Figura 19D), como observado para os tratamentos de coinoculação.

Não houve efeito da interação de FMAs e rizobactérias para a variável número de folhas, mas somente o efeito dos FMAs isoladamente. O mesmo se deu para

as variáveis de teor e acúmulo de nitrogênio, intensidade e porcentagem de colonização radicular e número de esporos (Figura 20).

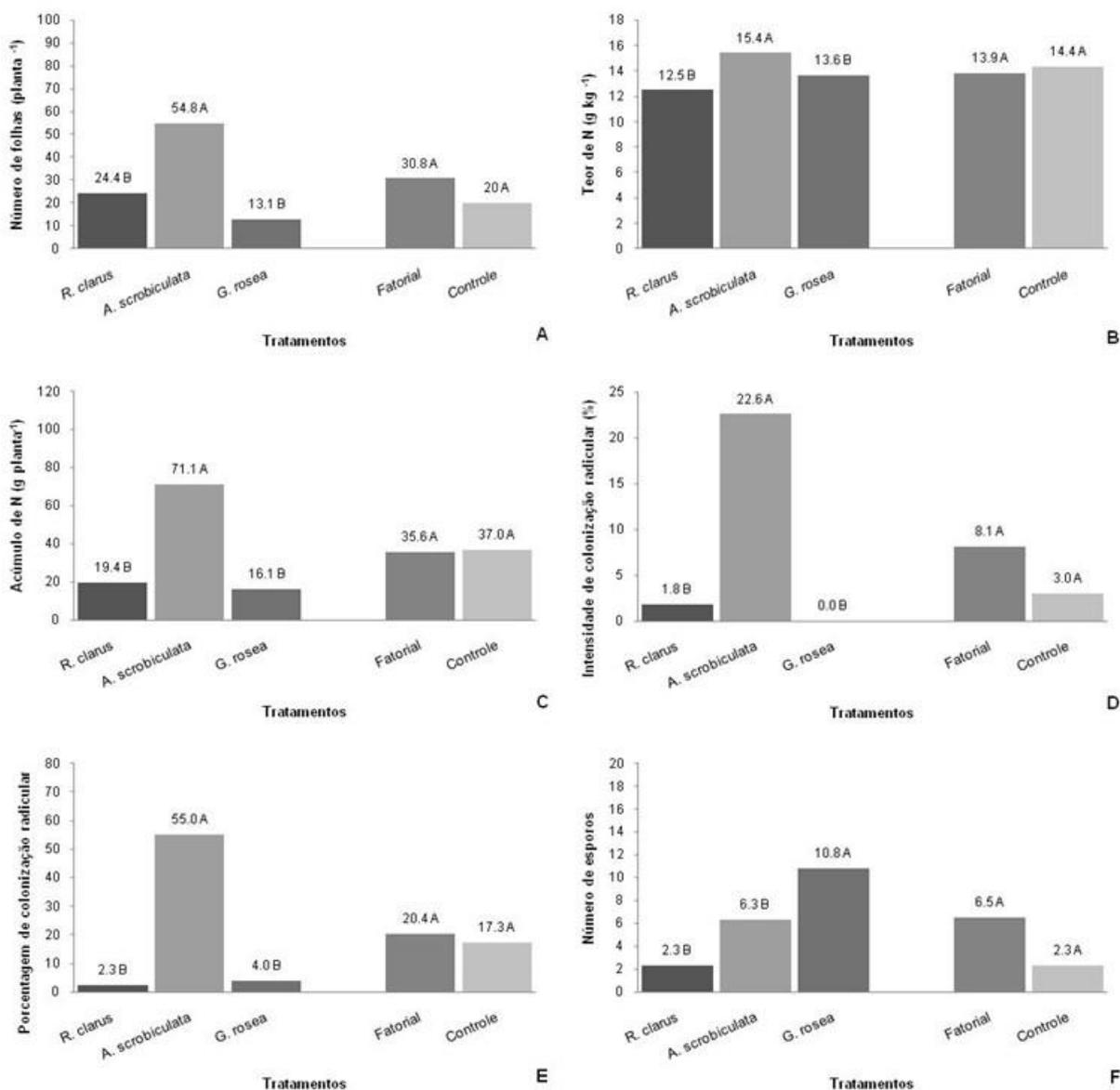


Figura 20- Efeito dos FMAs na cultivar Aréquina, sobre: A-Número de folhas; B-Teor de N; C-Acúmulo de N; D-Intensidade de colonização radicular; E-Porcentagem de colonização radicular; F-Número de esporos. Médias seguidas da mesma letra nos grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

Esses resultados corroboram os encontrados por Lima et al. (2011), em mudas de mamoeiro, avaliando a inoculação com bactérias diazotróficas (*Stenotrophomonas maltophilia* e *Azospirillum* sp.) e FMAs (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*). Tais autores verificaram que apenas os FMAs em estudo (*Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*) promoveram crescimento e desenvolvimento, independentemente da presença da bactéria. Segundos esses autores, possivelmente pode haver uma

competição entre microrganismos quando coinoculados em solo com baixa disponibilidade de P, o que interferiria no desenvolvimento das plantas.

Para todas essas variáveis supracitadas (Figura 20) (número de folhas, teor e acúmulo de nitrogênio, intensidade e porcentagem de colonização radicular e número de esporos) em que houve apenas efeito do FMA, não houve diferença estatística entre o fatorial e o controle, sem inoculação. Quanto ao efeito isolado do FMA, para todas essas variáveis, destacou-se a inoculação com *A. scrobiculata*, independentemente da presença das rizobactérias, exceto para o número de esporos, cujo FMA *G. rosea* proporcionou maior número de esporos e diferiu estatisticamente dos demais FMAs.

Apesar de não ter havido efeito da coinoculação para a porcentagem de colonização, o efeito do FMA sobre tal variável pôde ser observado. Meddad-Hamza et al. (2010), ao avaliarem o potencial de colonização de *Glomus mossae* e *Glomus intraradices* sobre o crescimento de cultivares de oliveira Aglandou micropropagadas, verificaram que ambos os FMAs tiveram dependência micorrízica de 73,9% e 67,3% respectivamente. Esse resultado evidencia alta afinidade destes fungos com a cultivar, já que sua inoculação promoveu melhor crescimento das mudas, verificado nas variáveis analisadas, quando comparado com o controle, sem inoculação. Ferreira (2014), ao avaliar o efeito da inoculação dos mesmos FMAs em estudo na produção de três cultivares de oliveira, Arbequina, Grappolo 541 e Maria da Fé, observaram porcentagem de colonização em torno de 60,4% na cultivar Arbequina, resultados semelhantes aos encontrados neste presente trabalho (55%).

Já são bem conhecidos os efeitos dos FMAs sobre o desenvolvimento de diversas culturas, até mesmo em oliveira, apesar de mais escassos para essa cultura. Seifi et al. (2014) investigaram a inoculação micorrízica utilizando duas espécies de FMAs (*Glomus mosseae* e *Glomus intraradices*) sobre variáveis de crescimento e fitoquímicas de cultivares de oliveira Koroneiki e Valanolia. Os resultados foram diferenciados para as cultivares em relação às variáveis, sendo a porcentagem de colonização radicular maior nas plantas inoculadas com *Glomus intraradices*, com efeitos positivos da inoculação micorrízica em todas as variáveis. Os autores afirmaram que a inoculação de FMAs em oliveiras na fase de viveiro pode ser considerada uma forma simples e efetiva de aumentar o crescimento de mudas, permitindo a produção de plantas saudáveis e vigorosas. Esse resultado pode ser replicado aos obtidos no presente trabalho, uma vez que quando do efeito do FMA, as variáveis de núme-

ro de folhas, teor e acúmulo de nitrogênio, intensidade e porcentagem de colonização radicular apresentaram valores maiores estatisticamente com a inoculação do FMA *A. scrobiculata*.

Em virtude da variabilidade de resposta da cultivar a inoculação ou coinoculação, os resultados foram submetidos à análise de correlação, cujos resultados encontram-se na tabela 1. Houve correlação positiva significativa entre a porcentagem de colonização radicular e as variáveis de altura, número de folhas, produção de matéria fresca de raiz e matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de nitrogênio e fósforo e intensidade de colonização radicular. Esse resultado mostra que o efeito no crescimento esteve relacionado com a formação de micorriza e seus benefícios.

Uma correlação direta entre a colonização pelo FMA e variáveis de crescimento foram também observadas nos trabalhos de Meddad Hamza et al. (2010), com a inoculação dos FMAs *G. Mosseae* e *G. intraradices*, na cultivar de oliveira Aglandou. Tais autores afirmaram que a micorrização permitiu que a planta apresentasse melhorias em variáveis de crescimento, possibilitando melhor nutrição e, conseqüentemente, melhor desenvolvimento, inclusive em situações de estresse como transplântio. Dessa forma, pelos resultados obtidos para a cultivar de oliveira Arbequina, no presente trabalho, confirmou-se o efeito benéfico da simbiose entre as espécies de FMAs e as rizobactérias para maior crescimento (altura, diâmetro, matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de P, micélio extrarradicular total), conforme demonstrado anteriormente (na figura 19).

Tabela 1-Matriz de correlação de Pearson para a cultivar Arbequina

	Altura	Diâmetro	Nfolhas	Mfr	Mspa	TeorN	TeorP	AcuN	AcuP	Icr	Pcr	MET	Nesp
Altura	1												
Diâmetro	0.615**	1											
Nfolhas	0.544**	0.515**	1										
Mfr	0.557**	0.395*	0.493**	1									
Mspa	0.726**	0.781**	0.732**	0.551**	1								
TeorN	0.193	-0.162	0.145	0.333	-0.038	1							
TeorP	0.363*	0.071	0.360	0.309	0.294	0.461*	1						
AcuN	0.829**	0.634**	0.651**	0.486**	0.827**	0.290	0.486**	1					
AcuP	0.717**	0.420*	0.565**	0.397*	0.676**	0.451*	0.721**	0.866**	1				
Icr	0.486**	0.290	0.602**	0.473**	0.453*	0.251	0.357	0.536**	0.539**	1			
Pcr	0.639**	0.357	0.416*	0.376*	0.452*	0.394*	0.526**	0.781**	0.794**	0.638**	1		
MET	-0.319	-0.084	-0.130	-0.166	-0.292	0.025	-0.196	-0.422	-0.351	-0.308	-0.363	1	
Nesp	0.172	-0.008	0.017	0.150	0.088	0.019	-0.172	0.056	0.037	0.360	0.049	0.002	1

Nfolhas-número de folhas; Mfr-matéria fresca de raiz; Mspa-Matéria seca parte aérea; TeorN-Teor de nitrogênio; TeorP-Teor de fósforo; AcuN-Acúmulo de nitrogênio; AcuP-acúmulo de fósforo; Icr-Intensidade de colonização radicular; Pcr-Porcentagem de colonização radicular; MET-Micélio extrarradicular total; Nesp-Número de esporos.

Nota: Valores menores que -0,463 e maiores que 0,463 (**) e menores de -0,361 e maiores que 0,361 (*) mostram correlações negativas e positivas significativas a 1% e 5% respectivamente (TRIOLA, 2008).

A interação entre bactérias e fungos micorrízicos ainda é mal compreendida, mas já é retratada, há décadas, na literatura. Sabe-se que a atividade dos FMAs é afetada diretamente pela ação das bactérias presentes na rizosfera, ocorrendo uma interação entre ambos os simbiontes, com uma melhora do estabelecimento micorrízico proporcionado pelas bactérias, uma vez que as bactérias desencadeiam ou aceleram a germinação de esporos, esclerócios ou qualquer outra forma de propágulo fúngico que esteja em estado de dormência (NAZIR et al., 2010).

Bianciotto et al. (1996) discutiram diferentes hipóteses para explicar o mecanismo de interação entre bactérias e FMAs, onde numa primeira etapa ocorre uma interação mediada por parâmetros físicos químicos gerais, como atração eletrostática. Já numa segunda etapa pode ocorrer uma espécie de ligação com maior estabilidade, com produção de polímeros extracelulares bacterianos. Além disso, as bactérias podem se beneficiar da simbiose com o fungo micorrízico por meio da liberação de nutrientes por células fúngicas mortas, ou as hifas fúngicas que crescem ativamente lançam nutrientes no solo, ou ainda, por meio de bactérias dentro das próprias hifas fúngicas e também esporos (LEVEAU; PRESTON, 2008).

5.2 Cultivar Maria da Fé

Houve efeito dos tratamentos para cada uma das variáveis analisadas. Para as variáveis número de folhas, teor e acúmulo de nitrogênio, porcentagem de colonização radicular e micélio extrarradicular ativo e total houve efeito da interação dos FMAs com as rizobactérias (Figura 21).

Resultados semelhantes, em que houve efeito da coinoculação sobre variáveis de crescimento, foram encontrados por Aguirre-Medina e Moreno (2016), ao estudarem o efeito da inoculação isolada ou combinada do FMA *Rhizophagus intraradices* com as rizobactérias *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense*, sobre o crescimento, produtividade e colonização de pimenta (*Capsicum annuum* L.). Dependendo da combinação, tais autores encontraram frutos maiores de pimenta ou maior número de frutos, onde esses resultados foram associados à capacidade de colonização e interação de microrganismos com a planta.

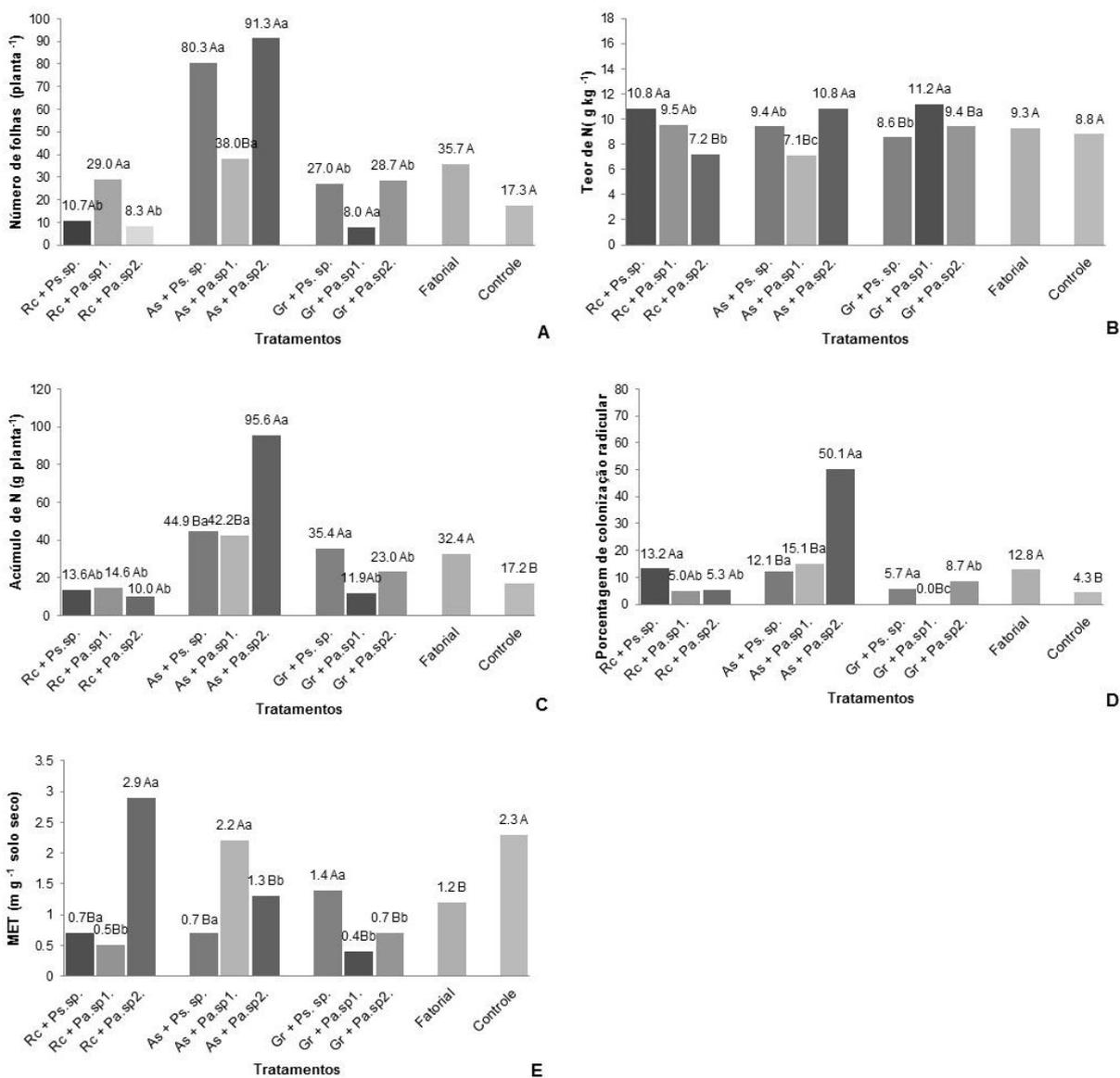


Figura 21- Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A-Número de folhas; B-Teor de N; C-Acúmulo de N; D-Porcentagem de colonização radicular; E-MET. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nos grupos e minúsculas entre os grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

*Rc = *Rhizophagus clarus*.; As = *Acaulospora scrobiculata*.; Gr = *Gigaspora rosea*.; Ps.sp. = *Pseudomonas* sp.; Pa.sp1.= *Paenibacillus* sp1.; Pa.sp2. = *Paenibacillus* sp2.

O número de folhas (Figura 21A) não apresentou diferença estatística entre o fatorial (35,7) e o controle (17,3). Já para coinoculação, a combinação do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (91,3) e *A. scrobiculata* + *Pseudomonas* sp. (80,3) não diferiram estatisticamente entre si e promoveram os maiores valores de número de folhas.

O teor de nitrogênio (Figura 21B) não diferiu entre o fatorial (9,3 g kg⁻¹) e o controle (8,8 g kg⁻¹). Com respeito à coinoculação, a combinação do FMA *G. rosea* + *Paenibacillus* sp1. (11,2 g kg⁻¹) e do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (10,8 g kg⁻¹) proporcionaram os maiores teores de nitrogênio, e foram estatisticamente iguais, diferindo dos demais tratamentos.

O acúmulo de nitrogênio (Figura 21C) diferiu entre o fatorial e o controle, onde o fatorial (32,4 g planta⁻¹) apresentou maior acúmulo de nitrogênio do que o controle (17,2 g planta⁻¹), diferindo estatisticamente deste. Quanto à coinoculação, a combinação do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (95,6 g planta⁻¹) proporcionou o maior incremento de nitrogênio, diferindo estatisticamente das demais combinações.

Para a porcentagem de colonização radicular (Figura 21D), o fatorial apresentou maior porcentagem de colonização (12,8%) do que o controle (4,3%), diferindo estatisticamente deste. No que diz respeito à coinoculação, a combinação do FMA *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. proporcionou uma maior porcentagem de colonização (50,1%), diferindo estatisticamente das demais combinações. Similarmente a esses resultados, Oliveira et al. (2010), ao trabalharem com inoculação isolada e combinada dos FMAs *Glomus entunicatum* e a mistura de *Glomus entunicatum* com *Gigaspora margarita* com as rizobactérias *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus pumilus* em plantas de gengibre (*Zingiber spectabile* Griff), verificaram que a combinação *B. pumillus* + *G.entunicatum*/*G.margarita* favoreceu a colonização micorrízica no gengibre, com valores médios de 60,3%. Esses autores justificaram que tal fato pode estar relacionado à capacidade de algumas rizobactérias estimularem o crescimento do micélio, propiciando a colonização radicular pelas hifas fúngicas, o que também pode ter acontecido para a cultivar de oliveira Maria da Fé em estudo.

O micélio extrarradicular total (Figura 21F) diferiu entre o fatorial e o controle, em que o controle (2,3 m g⁻¹) apresentou valor superior ao fatorial (1,2 m g⁻¹). Assim, verificou-se o crescimento intenso de fungos não micorrízicos no controle, mas não estiveram envolvidos no crescimento ou desenvolvimento das plantas de oliveira. No que se refere à coinoculação, a combinação do FMA *R. clarus* + *Paenibacillus* sp2. (2,9 m g⁻¹) e *A. scrobiculata* + *Paenibacillus* sp1. (2,2 m g⁻¹) promoveram os maiores comprimentos de micélio e não diferiram estatisticamente entre si.

Não houve efeito da interação entre FMAs e rizobactérias para a variável altura, mas apenas efeito para o FMA isoladamente. O mesmo se deu para as variáveis

diâmetro do colo, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de fósforo e intensidade de colonização radicular (Figura 22).

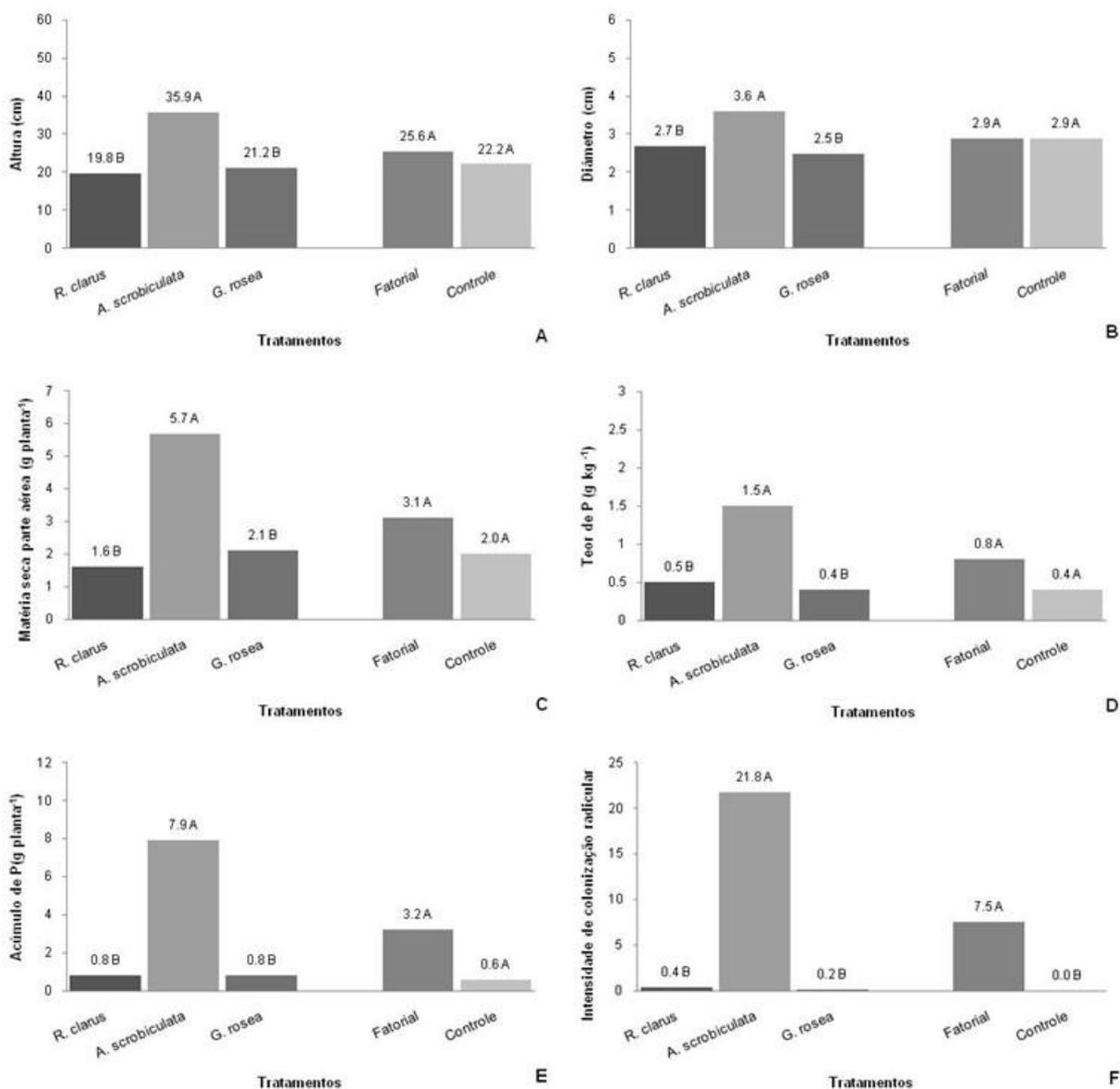


Figura 22 - Efeito dos FMAs na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A-Altura; B-Diâmetro; C-Matéria seca parte aérea; D-Teor de P; E-Acúmulo de P; F-Intensidade de colonização radicular. Médias seguidas da mesma letra nos grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

Para todas essas variáveis (Figura 22) (altura, diâmetro, matéria seca parte aérea, teor de P, acúmulo de P), não houve diferença estatística entre o fatorial e o controle, exceto para a intensidade de colonização radicular. Com relação ao efeito isolado do FMA, para todas essas variáveis destacou-se a inoculação com *A. scrobiculata*. Para os demais FMAs (*G. rosea* e *R. clarus*) as médias não diferiram estatisticamente entre si, assim como salientado para cultivar Arbequina.

Resultados semelhantes foram encontrados por Constantino et al. (2008), ao avaliarem o efeito de duas rizobactérias (*Azotobacter chroococcum* e *Azospirillum brasilense*) combinados com várias espécies de FMAs sobre o crescimento e o rendimento de pimenta chili (*Capsicum chinense* Jacquin). Os autores verificaram que, na fase de viveiro, a aplicação isolada de cada microrganismo promoveu maior crescimento e teor de nutrientes na cultura do que quando combinado. Segundo esses autores, esse resultado pode ser atribuído à não competição de cada microrganismo por compostos de carbono, o que ocorreria quando em combinação, em que a planta hospedeira, além de necessitar de nutrientes, ainda compartilharia com os microrganismos simbiotes.

No que se refere às variáveis matéria fresca de raiz (Figura 23A) e número de esporos (Figura 23B), também não houve diferença estatística entre o fatorial e o controle. Não houve efeito da interação entre as rizobactérias e FMAs, mas somente efeitos isolados tanto das rizobactérias quanto dos FMAs, com destaque para o FMA *A. scrobiculata* ($2,5 \text{ g planta}^{-1}$) e rizobactérias *Pseudomonas* sp. ($1,8 \text{ g planta}^{-1}$) e *Paenibacillus* sp2. ($1,7 \text{ g planta}^{-1}$) para matéria fresca de raiz e FMA *G. rosea* ($10,4 \text{ 50 mL}^{-1}$) e rizobactérias *Paenibacillus* sp1. ($8,7 \text{ 50 mL}^{-1}$) e *Paenibacillus* sp2. ($5,9 \text{ 50 mL}^{-1}$) para o número de esporos.

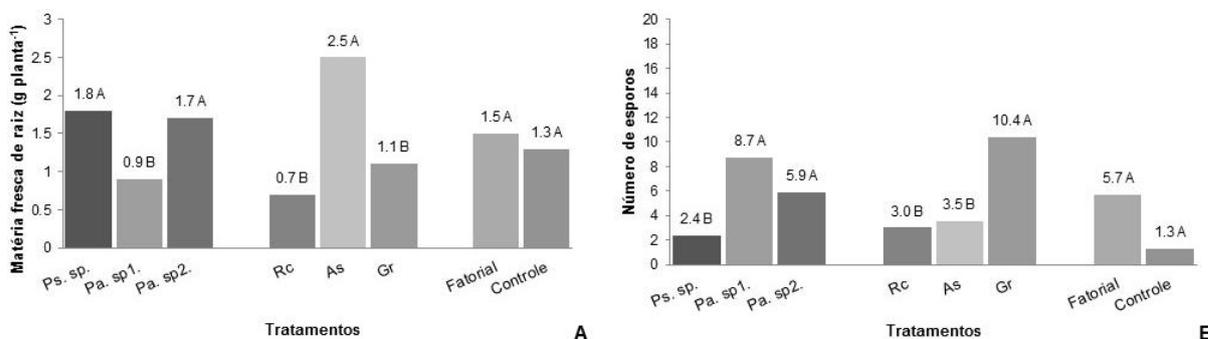


Figura 23 - Efeito isolado entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Maria da Fé, sobre: A- Matéria fresca de raiz; B-Número de esporos. Médias seguidas da mesma letra nos grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

*Rc = *Rhizophagus clarus*.; As = *Acaulospora scrobiculata*.; Gr = *Gigaspora rosea*.; Ps.sp.= *Pseudomonas* sp.; Pa.sp1.= *Paenibacillus* sp1.; Pa.sp2. = *Paenibacillus* sp2.

Sala, Freitas e Silveira (2007), ao avaliarem o efeito da coinoculação de dois isolados de bactérias diazotróficas com FMAs em trigo, tanto isoladamente quanto coinoculados, verificaram que quando se inocularam as bactérias e os FMAs isoladamente, houve um maior crescimento, acúmulo e aproveitamento dos nutrientes por plantas de trigo. Esse resultado, segundo os autores, pode ter sido em função de uma possível competição por compostos fotossintetizantes entre FMAs e bactérias, no período de colonização das raízes.

A correlação de Pearson indicou relação positiva significativa entre a intensidade de colonização radicular e as variáveis altura, diâmetro, número de folhas, produção de matéria fresca de raiz e matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de fósforo e acúmulo de nitrogênio (Tabela 2). Já a porcentagem de colonização radicular se correlacionou positivamente com as variáveis diâmetro, número de folhas, matéria fresca de raiz, teor de fósforo, acúmulo de nitrogênio e intensidade de colonização radicular. Esses resultados demonstram que a micorrização esteve diretamente relacionada ao crescimento da planta, assim como também observado para a cultivar anterior (Arbequina). Bati, Santili e Lombardo (2015), em seus trabalhos com o objetivo de verificar a eficiência da simbiose de FMAs nativos e comerciais, confirmaram a grande capacidade de FMAs estimularem o crescimento em plantas de oliveira, melhorando a absorção de nutrientes, principalmente fósforo. Tais autores verificaram um crescimento de 1,7 a 5 vezes maior com a inoculação, quando comparado ao controle não inoculado.

Tabela 2- Matriz de correlação de Pearson para cultivar Maria da Fé

	Altura	Diâmetro	Nfolhas	Mfr	Mspa	Teor N	TeorP	AcuN	AcuP	Icr	Pcr	MET	Nesp
Altura	1												
Diâmetro	0.525**	1											
Nfolhas	0.607**	0.781**	1										
Mfr	0.690**	0.610**	0.810**	1									
Mspa	0.826**	0.669**	0.779**	0.858**	1								
Teor N	-0.319	0.076	0.158	0.037	-0.078	1							
TeorP	0.508**	0.558**	0.578**	0.389*	0.416*	-0.207	1						
AcuN	0.454*	0.677**	0.835**	0.685**	0.671**	0.107	0.521**	1					
AcuP	0.788**	0.635**	0.668**	0.719**	0.838**	-0.183	0.737**	0.525**	1				
Icr	0.795**	0.564**	0.656**	0.652**	0.742**	-0.185	0.598**	0.564**	0.764**	1			
Pcr	0.145	0.609**	0.648**	0.405*	0.334	0.244	0.467**	0.851**	0.265	0.388*	1		
MET	0.135	0.168	-0.146	-0.053	-0.014	-0.677	0.036	-0.016	-0.018	0.092	-0.003	1	
Nesp	-0.100	-0.301	-0.133	-0.181	-0.077	0.103	-0.174	-0.178	-0.127	0.032	-0.306	-0.284	1

Nfolhas-número de folhas; Mfr-matéria fresca de raiz; Mspa-Matéria seca parte aérea; TeorN-Teor de nitrogênio; TeorP-Teor de fósforo; AcuN-Acúmulo de nitrogênio; AcuP-acúmulo de fósforo; Icr-Intensidade de colonização radicular; Pcr-Porcentagem de colonização radicular; MET-Micélio extrarradicular total; Nesp-Número de esporos.

Nota: Valores menores que -0,463 e maiores que 0,463 (**) e menores de -0,361 e maiores que 0,361 (*) mostram correlações negativas e positivas significativas a 1% e 5% respectivamente (TRIOLA, 2008).

5.3 Cultivar Grappolo 541

Houve efeito dos tratamentos para todas as variáveis analisadas. Para o diâmetro do caule, teor de nitrogênio, porcentagem de colonização radicular, micélio extrarradicular total e número de esporos houve interação entre FMAs e rizobactérias (Figura 24).

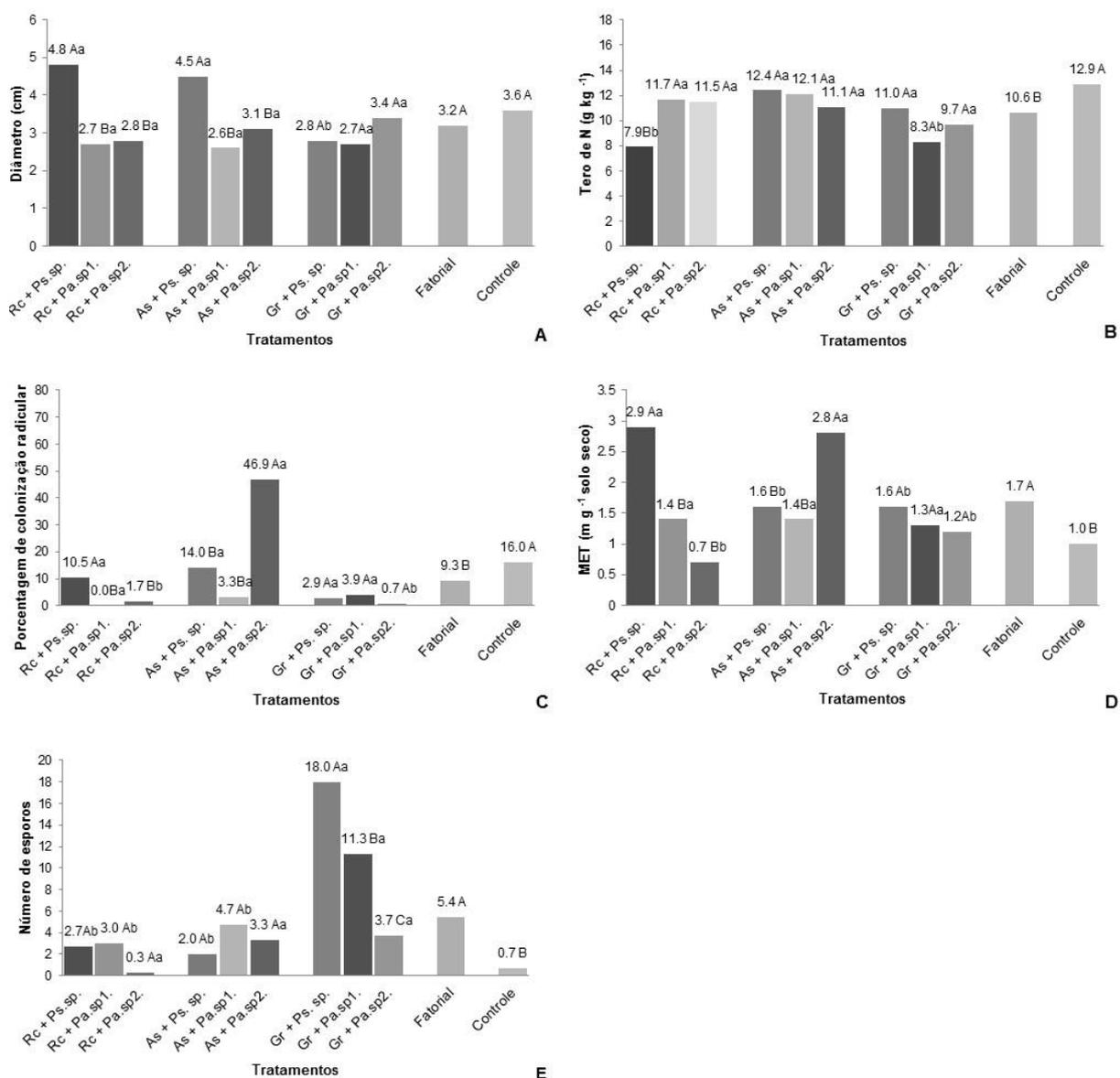


Figura 24- Efeito da interação entre FMAs e rizobactérias na cultivar de oliveira Grappolo 541, sobre: A-Diâmetro; B-Teor de N; C-Porcentagem de colonização radicular; D-MET; E-Número de esporos. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nos grupos e minúsculas entre os grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

*Rc = *Rhizophagus clarus*.; As = *Acaulospora scrobiculata*.; Gr = *Gigaspora rosea*.; Ps.sp. = *Pseudomonas* sp.; Pa.sp1. = *Paenibacillus* sp1.; Pa.sp2. = *Paenibacillus* sp2.

Esses resultados corroboram os encontrados por Cosme e Wurst (2013), que investigaram o efeito da interação do FMA *R. intraradices* com a rizobactéria *P. fluorescens* em raízes de tabaco, onde verificaram que tal combinação melhorou o estado nutricional das raízes dessa planta, o que, segundos os autores, pode ter sido em função da capacidade de *P. fluorescens* auxiliar a colonização da planta pelo FMA, dependendo dos níveis de citocinina presentes nesse hospedeiro.

O diâmetro do colo (Figura 24A) não diferiu entre o fatorial (3,2 cm) e o controle (3,6 cm). Já para coinoculação, as combinações dos FMA *R.clarus* + *Pseudomonas* sp. (4,8 cm) e *A. scrobiculata* + *Pseudomonas* sp. (4,5 cm) promoveram os maiores diâmetros e não diferiram estatisticamente entre si.

Para o teor de nitrogênio (Figura 24B), o controle apresentou maior valor (12,9 g kg⁻¹) quando comparado ao fatorial (10,6 g kg⁻¹), diferindo estatisticamente deste. Já com relação à coinoculação, as combinações do FMA *A. scrobiculata* com as rizobactérias *Pseudomonas* sp. (12,4 g kg⁻¹), *Paenibacillus* sp1. (12,1 g kg⁻¹) e *Paenibacillus* sp2. (11,1 g kg⁻¹) proporcionaram os maiores teores de nitrogênio e não diferiram estatisticamente entre si.

Com relação à porcentagem de colonização micorrízica (Figura 24C), assim como para o teor de nitrogênio, o controle (16,0%) apresentou valor superior ao fatorial (9,3%), diferindo estatisticamente deste. Quanto à coinoculação, a combinação do FMA *A.scrobiculata* + *Paenibacillus* sp2. (46,9%) proporcionou a maior porcentagem de colonização micorrízica, diferindo estatisticamente das demais combinações.

A ocorrência de estruturas fúngicas nas raízes e na rizosfera de plantas controle, sem inoculação, tem sido relatada em outros trabalhos científicos. A mesma pode ter sido resultado de uma possível contaminação por fungos sapróbios, acontecida ao longo do enraizamento das estacas, por meio do vento ou pela água utilizada para irrigação (WEBER; AMORIM, 1994), já que o solo utilizado foi esterilizado, assim como também observado por Costa et al. (2001), com mudas de aceroleira e por Tekaya et al. (2017), em plântulas de oliveira. Para as cultivares de oliveira Arbequina e Maria da Fé, essa ocorrência de maiores valores de colonização micorrízica no controle não foram observadas.

O micélio extrarradicular total (Figura 24D) diferiu entre o fatorial e o controle, com o fatorial (1,7 g m g⁻¹) maior que o controle (1,0 m g⁻¹). No que se refere à coinoculação, a combinação do FMA *R.clarus* + *Pseudomonas* sp. (2,9 m g⁻¹) e

A.scrobiculata + *Paenibacillus* sp2. ($2,8 \text{ m g}^{-1}$) promoveram os maiores comprimentos de micélio total e diferiram estatisticamente das demais combinações.

O número de esporos (Figura 24E) também diferiu entre o fatorial e o controle, em que o fatorial ($5,4 \text{ 50 mL}^{-1}$) apresentou maior valor que o controle ($0,7 \text{ 50 mL}^{-1}$). No que diz respeito à coinoculação, a combinação do FMA *G.rosea* + *Pseudomonas* sp. (18 50 mL^{-1}) promoveu o maior número de esporos, diferindo estatisticamente das demais combinações.

Não houve efeito da interação entre FMAs e rizobactérias para a variável altura, mas apenas efeito isolado para o FMA (Figura 25). O mesmo ocorreu para as variáveis número de folhas, matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de fósforo, acúmulo de nitrogênio e intensidade de colonização radicular.

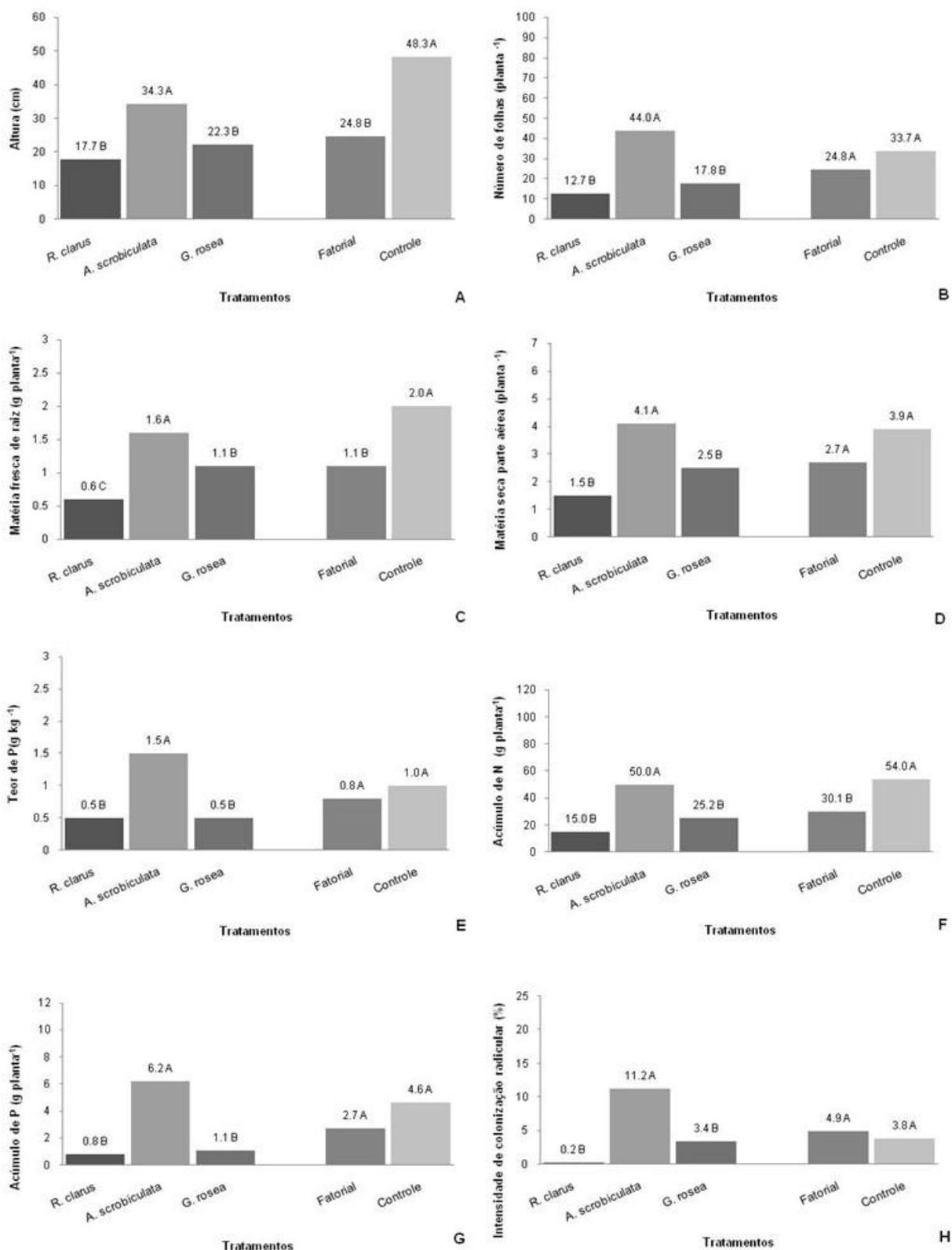


Figura 25- Efeito dos FMAs na cultivar de oliveira Grappolo 541, sobre: A-Altura; B-Número de folhas; C-Matéria fresca de raiz; D-Matéria seca parte aérea; E-Teor de P; F-Acúmulo de N; G-Acúmulo de P; H-Intensidade de colonização radicular. Médias seguidas da mesma letra nos grupos não diferem entre si pelo teste de Skott e Knott a 5% de probabilidade.

Vitorazi Filho et al. (2012) encontraram resultados semelhantes ao avaliarem os efeitos da inoculação de FMAs (*Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*) e bactérias diazotróficas (*Burkholderia* sp. + *Burkholderia silvatlantica*) no crescimento de mudas de maracujazeiro-doce com diferentes doses de fósforo. Independentemente das bactérias inoculadas, os FMAs promoveram acréscimos na altura, massa seca de parte aérea, área foliar e diâmetro do caule.

Para as variáveis altura (Figura 25A), matéria fresca de raiz (Figura 25C) e acúmulo de nitrogênio (Figura 25F), o controle apresentou maiores valores, quando comparado com o fatorial, diferindo estatisticamente deste. Para número de folhas (Figura 25B), matéria seca da parte aérea (Figura 25D), teor e acúmulo de fósforo (Figura 25E e 25G) e intensidade de colonização radicular (Figura 25H), não houve diferença estatística entre o fatorial e o controle. Por meio dessa baixa colonização micorrízica, sem diferença estatística com o controle, pode-se dizer que para essa cultivar de oliveira, diferentemente do observado para Arbequina e Maria da Fé, o papel da micorriza não ficou claro e evidente.

Quanto ao efeito isolado do FMA, para todas as variáveis altura, número de folhas, matéria fresca de raiz, matéria seca da parte aérea, teor e acúmulo de fósforo, acúmulo de nitrogênio e intensidade de colonização radicular, apesar de baixa micorrização, destacou-se a inoculação com *A. scrobiculata*, conforme também observado anteriormente para as cultivares Arbequina e Maria da Fé, independentemente da presença de rizobactérias.

Os resultados da análise de correlação de Pearson entre as variáveis para essa cultivar encontram-se na tabela 3. Houve correlação positiva significativa entre a porcentagem de colonização radicular e altura, matéria seca da parte aérea, teor de fósforo, acúmulo de nitrogênio e fósforo e intensidade de colonização radicular. Assim como salientado para as demais cultivares em estudo, a micorrização, mesmo podendo ser considerada baixa para essa cultivar de oliveira, também esteve diretamente relacionada ao crescimento da planta.

Tabela 3- Matriz de correlação de Pearson para cultivar Grappolo 541

	Altura	Diâmetro	Nfolhas	Mfr	Mspa	TeorN	TeorP	AcuN	AcuP	Icr	Pcr	MET	Nesp
Altura	1												
Diâmetro	0.140	1											
Nfolhas	0.741**	0.233	1										
Mfr	0.668**	0.236	0.658**	1									
Mspa	0.679**	0.242	0.758**	0.626	1								
TeorN	0.380*	-0.213	0.341	0.488**	0.149	1							
TeorP	0.503**	-0.066	0.581**	0.441	0.519**	0.361*	1						
AcuN	0.610**	0.087	0.814**	0.544**	0.801**	0.342	0.607**	1					
AcuP	0.414*	-0.113	0.619**	0.294	0.610**	0.205	0.853**	0.750**	1				
Icr	0.325	0.245	0.437*	0.304	0.413*	0.121	0.166	0.424*	0.329	1			
Pcr	0.365*	0.193	0.238	0.171	0.412*	-0.008	0.444*	0.375*	0.571**	0.465**	1		
MET	-0.060	0.353	-0.027	-0.250	0.031	-0.366	0.184	0.092	0.267	0.010	0.491**	1	
Nesp	-0.111	-0.254	-0.065	0.001	0.075	-0.285	-0.265	0.034	-0.093	0.020	-0.204	0.023	1

Nfolhas-número de folhas; Mfr-matéria fresca de raiz; Mspa-Matéria seca parte aérea; TeorN-Teor de nitrogênio; TeorP-Teor de fósforo; AcuN-Acúmulo de nitrogênio; AcuP-acúmulo de fósforo; Icr-Intensidade de colonização radicular; Pcr-Porcentagem de colonização radicular; MET-Micélio extrarradicular total; Nesp-Número de esporos.

Nota: Valores menores que -0,463 e maiores que 0,463 (**) e menores de -0,361 e maiores que 0,361 (*) mostram correlações negativas e positivas significativas a 1% e 5% respectivamente (TRIOLA, 2008).

6 CONCLUSÕES

A coinoculação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias promove efeito diferenciado no crescimento e desenvolvimento de mudas das cultivares de oliveira Arbequina, Maria da Fé e Grappolo 541.

A combinação do FMA *Acaulospora scrobiculata* + rizobactéria *Paenibacillus* sp2. é positiva e com potencial de uso para as cultivares, principalmente para a Arbequina, por promover maior crescimento e produção de massa seca da parte aérea das mudas. O efeito no crescimento das mudas está diretamente relacionado com a formação de micorriza, em todas as cultivares, principalmente para a espécie *Acaulospora scrobiculata*.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-MEDINA, J. F.; MORENO, J. A. E. Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annuum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, Texcoco, v. 7, n. 7, p. 1539-1550, 2016.
- ALBA, J. M. F.; FLORES, C. A.; WREGGE, M. S. **Zoneamento edafoclimático da olivicultura para o Rio Grande do Sul**. 1. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2013.92p. Disponível em:
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/116506/1/ZONEAMENTO-OLIVEIRAS-WEB-1.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2016.
- ALBIÑANA, L. I. **Guía completa del cultivo del olivo**.1.ed. Barcelona: Editorial de Vecchi, 2002. 126 p.
- ALMEIDA, D. J.; PEREIRA, W. E.; ALEXANDRE, P. S.; NUNES, J. C.; FERREIRA, W. M. Growth and nutrient accumulation in mycorrhized papaya seedlings cultivated in a phosphorus-fertilized substrate. **Revista Ceres**, Viçosa-MG, v. 63, n. 1, p. 86-94, jan./feb. 2016. [Http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201663010012](http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201663010012)
- ANDREOTE, F.D.; GUMIERE, T.; DURRER, A. Exploring interactions of plant microbiomes. **Scientia Agricola**, Piracicaba –SP, v. 71, n.6, p. 528-539, nov./dec. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0195>
- ARANDA, S.; MONTES-BORREGO, M.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; LANDA, B. B. Microbial communities associated with the root system of wild olives (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*) are good reservoirs of bacteria with antagonistic potential against *Verticillium dahliae*. **Plant and soil**, East Lansing, v. 343, n. 1-2, p. 329-345, 2011.DOI 10.1007/s11104-011-0721-2
- ARMADA, E.; PROBANZA, A.; ROLDÁN, A.; AZCÓN, R. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. **Journal of plant physiology**, Toronto, v. 192, n.1, p. 1-12, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- BALLUS, C. A.; MEINHART, A. D.; CAMPOS Jr, F. A. S.; SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; GODOY, H. T. A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. **Food Research International**, Ottawa, v. 62, n.1, p. 74-83, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.040>
- BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; STENZEL, N. M. C. Resposta da acerola à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em solo com diferentes níveis de fósforo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 166-175, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052011000100023>

- BATI, C. B.; SANTILLI, E.; LOMBARDO, L. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and on micronutrient and macronutrient uptake and allocation in olive plantlets growing under high total Mn levels. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 25, n. 2, p. 97-108, 2015. DOI 10.1007/s00572-014-0589-0
- BETHLENFALVAY, G. J.; PACOVSKY, R. S.; BROWN, M. S. Measurement of mycorrhizal infection in soybeans. **Soil Science Society of America Journal**, Madson, v. 45, n. 5, p. 871-875, 1981. doi:10.2136/sssaj1981.03615995004500050009x
- BHOWMIK, S. N.; SINGH, C. S. Mass multiplication of AM inoculum; effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of *Glomus mosseae*. **Current Science**, Bangalore, v.86, n.5, p.705-709, 2004.
- BIANCIOTTO, V.; MINERDI, D.; PEROTTO, S.; BONFANTE, P. Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. **Protoplasma**, Karlsruhe, v. 193, n. 1, p. 123-131, 1996.
- BINET, M. N.; LEMOINE, M. C.; MARTIN, C.; CHAMBON, C.; GIANINAZZI, S. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhiza to improve plantlet establishment. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Raleigh, v. 43, n. 5, p. 473-478, 2007. DOI 10.1007/s11627-007-9097-7.
- BOMBERG, M.; JURGENS, G.; SAANO, A.; SEN, R.; TIMONEN, S. Nested PCR detection of Archaea in defined compartments of pine mycorrhizospheres developed in boreal forest humus microcosms. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 163-171, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01055.x>
- BOMPADRE, M. J.; PÉRGOLA, M.; FERNÁNDEZ BIDONDO, L.; COLOMBO, R. P.; SILVANI, V. A.; PARDO, A. G.; OCAMPO, 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. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/378950>
- BONA, E.; CANTAMESSA, S.; MASSA, N.; MANASSERO, P.; MARSANO, F.; COPETTA, A.; LINGUA, G.; D'AGOSTINO, G.; GAMALERO, E.; BERTA, G. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: a field study. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 27, n. 1, p. 1-11, 2016. DOI 10.1007/s00572-016-0727-y
- BRASIL. **Projeto de Lei de 2012**. Disponível em: <http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=965690>. Acesso em: 02 jun. 2017.
- CABALLERO, J. M.; DEL RÍO, C. Propagação da Oliveira por enraizamento de estacas semilenhosas sob nebulização. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 231, p. 33-38, mar./abr. 2006.
- CABALLERO-MELLADO, J. Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. **Revista Latino americana de Microbiología**, Cidade do México, v. 48, n. 2, p. 154-161, abr./jun. 2006.

- CALVO-POLANCO, M.; SÁNCHEZ-CASTRO, I.; CANTOS, M.; GARCÍA, J. L.; AZCÓN, R.; RUIZ-LOZANO, J. M.; BEUZÓN, C. R.; AROCA, R. Effects of different arbuscular mycorrhizal fungal backgrounds and soils on olive plants growth and water relation properties under well-watered and drought conditions. **Plant, Cell & Environment**, Logan, v. 39, n. 11, p. 2498-2514, 2016. DOI: 10.1111/pce.12807
- CAMELO, M. R; VERA, S. P. M.; BONILLA, R. R. B. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. **Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, Colombia, v. 12, n. 2, p. 159-166, 2011.
- CAMPOS, D. T. S.; ANDRADE, J. A. C.; CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n.3, p. 555-562, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052010000300006>
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221p.
- CARVALHO, D. D. C.; OLIVEIRA, D. F., PASQUAL, M.; CAMPOS, V. P. Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 338-341, out./dez. 2009.
- CASTILLO, P.; NICO, A. I.; AZCÓN-AGUILAR, C.; DEL RÍO RINCÓN, C.; CALVET, C.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. Protection of olive planting stocks against parasitism of root-knot nematodes by arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant Pathology**, Hertfordshire, v. 55, n. 5, p. 705-713, 2006. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01400.x
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Balança do agronegócio**: Indicadores do Agronegócio. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/estatisticas-e-dados-basicos-de-economia-agricola/estatisticas-e-dados-basicos-de-economia-agricola-dezembro-2016/view>>. Acesso em: 13 set. 2016.
- CONSTANTINO, M.; GÓMEZ-ÁLVAREZ, R.; ÁLVAREZ-SOLÍS, J. D.; GEISSEN, V.; HUERTA, E.; BARBA, E. Effect of inoculation with rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of *Capsicum chinense* Jacquin. **Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics (JARTS)**, Witzendhausen, v. 109, n. 2, p.169-180, 2008.
- COSME, M.; WURST, S. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobacteria, soil phosphorus and plant cytokinin deficiency change the root morphology, yield and quality of tobacco. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 57, n.1, p. 436-443, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.09.024>
- COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVACALTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 36, n.6, p. 893-901, jun. 2001.
- COUTINHO, E. F. **A cultura da oliveira**. 1.ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 143 p.

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. **Cultivo de oliveira (*Olea europaea* L.)**. 1.ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 2009.125p.

COUTINHO, H. L. C.; JORGE, R. O.; HAERTER, J. A.; COSTA, V. B. **Oliveira: Aspectos técnicos e cultivo no sul do Brasil**. 1. ed. Brasília: EMBRAPA, 2015.181p. Disponível em: <<http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00084680.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2016.

DHAWI, F.; DATTA, R.; RAMAKRISHNA, W. Mycorrhiza and PGPB modulate maize biomass, nutrient uptake and metabolic pathways in maize grown in mining-impacted soil. **Plant Physiology and Biochemistry**, Bari, v. 97, n.1, p. 390-399, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.10.028>

DODD, I. C.; ZINOVKINA, N. Y.; SAFRONOVA, V. I.; BELIMOV, A.A. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. **Annals of Applied Biology**, United Kingdom, v. 157, n.3, p. 361-379, 2010. doi:10.1111/j.1744-7348.2010.00439.x

EL, S. N.; KARAKAYA, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. **Nutrition reviews**, Medford v. 67, n.11, p. 632-638, 2009. doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x

EL Taweel, A. A.; OMAR, M. N. A.; SHAHEEN, S. A. Effect of inoculation by some plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) on production of 'manzanillo' olive trees. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ORGANIC MATTER MANAGEMENT AND COMPOST USE IN HORTICULTURE, 1018. 2014, ISHS. **Anais...ISHS**, 2014, p. 245-254.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Manual de métodos de análise de solo/Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro, 1997. 212p.

ESTAÚN, V.; CAMPRUBÍ, A.; CALVET, C.; PINOCHET, J. Nursery and field response of olive trees inoculated with two arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 5, p. 767-775, 2003.

FACHINELLO, J. C. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 69-108.

FERREIRA, G. M. R. **Fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de oliveira (*Olea europaea* L.) cultivadas no sul de Minas Gerais**. 2014. 59 p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unifei.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/746/dissertacao_ferreira2_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 dez. 2017.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Experimental Designs: um pacote R para análise de experimentos. **Revista da Estatística UFOP**, Ouro Preto, v. 1, n.1, p. 1-9, 2011.

FERREIRA, G. M. R.; MELLONI, R.; SILVA, L. F. O.; MARTINS, F. B.; GONÇALVES, E.D. Fungos micorrizicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de oliveira (*Olea europaea* L.) cultivadas no sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa - MG, v. 39, n. 2, p. 361-366, 2015. DOI: 10.1590/01000683rbcscs20140082

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-MG, v. 36, n. 6, p. 1663-1679, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000600001>

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

HERNÁNDEZ-MONTIEL, L. G.; RUEDA-PUENTE, E. O.; CORDOBA-MATSON, M. V.; HOLGUÍN-PEÑA, J. R.; ZULUETA-RODRÍGUEZ, R. Mutualistic interaction of rhizobacteria with arbuscular mycorrhizal fungi and its antagonistic effect on *Fusarium oxysporum* in *Carica papaya* seedlings. **Crop Protection**, Lincoln, v. 47, n.1, p. 61-66, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2013.01.008>

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL (IOC). **Brasil: olive oil imports**. Market Newsletter, 2017. Disponível em: < <http://www.internationaloliveoil.org/news/view/686-year-2016-news/797-market-newsletter-november-2016> >. Acesso em: 13 set. 2017.

KIM, K.; YIM, W.; TRIVEDI, P.; MADHAIYAN, M.; BORUAH, H. P. D.; ISLAM, M. R.; LEE, J.; SA, T. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Cap-sicum annuum* L.). **Plant and Soil**, East Lansing, v. 327, n. 1-2, p. 429-440, 2010. DOI 10.1007/s11104-009-0072-4

KOZUSNY-ANDREANI, D. I.; AGIADO, J. C.; ANDREANI JUNIOR, R. Efeito de bactérias rizosféricas sobre o desenvolvimento da cenoura. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações-MG, v. 12, n. 1, p. 211-220, jan./jul. 2014.

KRISHNAMOORTHY, R.; KIM, K.; SUBRAMANIAN, P.; SENTHILKUMAR, M.; ANANDHAM, R.; SA, T. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated bacteria isolated from salt-affected soil enhances the tolerance of maize to salinity in coastal reclamation soil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Zurich, v. 231, n.1, p. 233-239, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.05.037>

KUMAR, M.; KAUR, A.; PACHOURI, U. C.; SINGH, J. Growth promoting characteristics of rhizobacteria and AM Fungi for biomass amelioration of *Zea mays*. **Archives of Biological Sciences**, Belgrado, v. 67, n. 3, p. 877-887, 2015. DOI:10.2298/ABS141029047K

LEVEAU, J. H.; PRESTON, G. M. Bacterial mycophagy: definition and diagnosis of a unique bacterial–fungal interaction. **New Phytologist**, Oxford, v. 177, n. 4, p. 859-876, 2008. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02325.x

LEVY, A.; MERRITT, A. J.; MAYO, M. J.; CHANG, B. J.; ABBOTT, L. K.; INGLIS, T. J.J. Association between *Burkholderia* species and arbuscular mycorrhizal fungus spores in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 41, n. 8, p. 1757-1759, 2009. doi:10.1016/j.soilbio.2009.05.004

LIMA, K. B.; MARTINS, M. A.; FREITAS, M. S. M.; OLIVARES, F. L. Fungos micorrízicos arbusculares, bactérias diazotróficas e adubação fosfatada em mudas de mamoeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical-SP, v. 33, n. 3, p. 932-940, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000300029>.

MALIK, N. S. A.; NUÑEZ, A.; MCKEEVER, L. C. Mycorrhizal Inoculation Increases Growth and Induces Changes in Specific Polyphenol Levels in Olive Saplings. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 9, n. 2, p. 1-7, 2017. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v9n2p1>

MARIOSIA, T. N. **Potencial de enraizamento de Estacas Semilenhosas de Oliveira (*Olea europaea* L.) inoculadas com Rizobactérias**. 2014. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unifei.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/306/dissertacao_mariosa_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 03 out. 2016.

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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.11.001>

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**, Toronto, v. 185, n.1, p. 40-43, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.06.015>

MEDDAD-HAMZA, A.; BEDDIAR, A.; GOLLOTTE, A.; LEMOINE, M. C.; KUSZALA, C.; GIANINAZZI, S. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. **African Journal of Biotechnology**, Kenya, v. 9, n. 8, p. 1159-1167, feb. 2010.

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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.049>

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.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 4, p. 537-548, out./dez. 2012.

MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B. N. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. II. Comparação entre diferentes espécies cítricas e endófitos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa - MG, v. 23, n. 1, p. 59-67, 1999.

MESQUITA, D. L.; OLIVEIRA, A. F.; MESQUITA, H. A. Aspectos econômicos da produção e comercialização do azeite de oliva e azeitona. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 231, p. 7-12, mar./abr. 2006.

MESQUITA, H. A.; FRÁGUAS, J. C.; PAULA, M. B. Adubação e nutrição da oliveira. **Informe Agropecuário**. Azeitona e azeite de oliva: tecnologias de produção, Belo Horizonte, v. 27, n. 231, p. 68-72, mar./abr. 2006. < <http://www.epamig.br/download-gratuito/> >. Acesso em: 25 out. 2016.

MIRANDA, E. M.; SILVA, E. M. R.; SAGGUIN JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica e adubação fosfatada na produção de mudas de Amendoim Forrageiro. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza - CE, v. 47, n. 2, p. 240-246, abr./jun. 2016.

MONTERO-CALASANZ, M. C.; SANTAMARÍA, C.; ALBAREDA, M.; DAZA, A.; DUAN, J.; GLICK, B. R.; CAMACHO, M. Alternative rooting induction of semi-hardwood olive cuttings by several auxin-producing bacteria for organic agriculture systems. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 11, n. 1, p. 146-154, 2013. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2013111-2686>

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, may. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096397>

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

MRIDHA, M. A. U.; AL-QARAWI, A. A.; AL-LOUD, S. S.; AL-BARAKAH, F. N. Status and Need of Research on Growth Improvement of Olive (*Olea europaea* L.) with Microbial Inoculants in Saudi Arabia. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, Shahjahanabad, v. 7, n. 3, p. 1861-1868, sep. 2013.

NADEEM, S. M.; AHMAD, M.; ZAHIR, Z. A.; JAVAID, A.; ASHRAF, M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. **Biotechnology advances**, Rehovot, v. 32, n. 2, p. 429-448, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.005>

NASCIMENTO, J. M. L.; MENEZES, K. M. S.; QUEIROZ, M. A. Á.; MELO, A. M. Y. Crescimento inicial e composição bromatológica de plantas de pornuncia adubadas com fósforo e inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador - BA, v. 17, n. 4, p. 561-571 out./dez., 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-99402016000400001>.

NAVARRO, C.; PARRA, M. A. Plantacion. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R. F. **El cultivo del olivo**. 6. ed. Madri: Mundi-Prensa, 2008. p. 93-125.

NAZIR, R.; WARMINK, J. A.; BOERSMA, H.; VAN ELSAS, J. D. Mechanisms that promote bacterial fitness in fungal-affected soil microhabitats. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 71, n. 2, p. 169-185, 2009. DOI:10.1111/j.1574-6941.2010.00807.x

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.

NEVES, T. S.; CARPANEZZI, A. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; MARENCO, R. A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n.12, p.1699-1705, dez. 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2006001200003>.

NUNES, J. L. S.; SOUZA, P. V. D.; MARODIN, G. A. B.; FACHINELLO, J. C. Incremento no desenvolvimento do porta-enxerto de pessegueiro 'Okinawa', promovido por fungos micorrízicos arbusculares autóctones. **Revista Ceres**, Viçosa - MG, v. 58, n. 2, p. 223-231, mar./abr. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2011000200014>.

OLIVEIRA, A. F.; ABRAHÃO, E. Botânica e morfologia da oliveira (*Olea europaea* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG, v. 27, n. 231, p. 13-17, 2006. Disponível em: <http://www.epamig.br/index.php?option=com_content&task=view&id=723>. Acesso em: 25 out. 2016.

OLIVEIRA, A. F.; CHALFUN, N. N. J.; ALVARENGA, Â. A.; VIEIRA NETO, J.; PIO, R.; OLIVEIRA, D. L. Estaquia de oliveira em diferentes épocas, substratos e doses de AIB diluído em NaOH e álcool. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras - MG, v. 33, n. 1, p. 79-85, jan./feb. 2009a. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000100011>

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; ALVARENGA, A. A.; MESQUITA, H. A.; GONÇAVES, E. D. **Propagação da oliveira por enraizamento de estacas semilenhosas**. Boletim técnico nº 90. Belo horizonte: EPAMIG, 2008. 48p. Disponível em: <<http://www.epamig.br/download-gratuito/>>. Acesso em: 14 set. 2017.

OLIVEIRA, J. R. G.; MORAES, T. A. L.; MELO, N. F.; YANO-MELO, A. M. Fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias promotoras de crescimento na aclimatização de *Zingiber spectabile*. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 687-695, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052010000300021>

OLIVEIRA, A. F.; ANTUNES, L. E. C.; SCHUCH, M. W. Caracterização morfológica de cultivares de oliveira em coleção e considerações sobre o seu cultivo no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 231, p.55-62, mar./abr. 2006.

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; GONÇALVES, E. D.; MESQUITA, H. A. Pioneirismo marca pesquisa sobre oliveira em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**. EPAMIG: 35 anos de pesquisa, Belo Horizonte, v. 30, n. 257, p. 109-117, 2009b.

OLIVEIRA, M. C.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; CARDOSO, M. G. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 47, n. 1, p. 30-35, jan. 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000100005>

PAIS, A. K. L.; SILVA, J. R.; ALENCAR, F. C.; PEIXOTO, A. R.; SOUZA, J. C.; PAZ, C. D. Seleção de rizobactérias como promotoras de crescimento em melancia. **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 12, n. 4, p. 1 - 8, 2016.doi: 10.14808/sci.plena.2016.040201

PAULA, M. A.; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Saccharum* spp.), and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.11, n. 2, p. 111-115, may. 1991. DOI: 10.1007/BF00336374

PEYVANDI, M.; FARAHANI, F.; MAZINANI, M. H.; NOORMOHAMADI, Z.; ATAIL, S.; ASGHARZADE, A. *Pseudomonas fluorescens* and its ability to promote root formation of olive microshoots. **International Journal of Plant Production**, Gorgan, v. 4, n. 1, p. 63-66, jan. 2010. DOI: 10.22069/ijpp.2012.682.

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**, Cambridge, v. 55, n. 1, p. 158IN16-161IN18, 1970. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)

PORRAS PIEDRA, A.; SORIANO MARTÍN, M. L.; PORRAS-SORIANO, A.; IZQUIERDO, G. F. Influence of arbuscular mycorrhizas on the growth rate of mist-propagated olive plantlets. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 3, n. 1, p. 98-105, 2005. DOI: 10.5424/sjar/2005031-129

PORRAS SORIANO, A.; SORIANO-MARTÍN, M. L.; PORRAS-PIEDRA, A.; AZCÓN, R. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. **Journal of Plant Physiology**, Toronto, v. 166, n. 13, p. 1350-1359, 2009. doi:10.1016/j.jplph.2009.02.010

R Core Team (2017). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RASHID, M. I.; MUJAWAR, L. H.; SHAHZAD, T.; ALMEELBI, T.; ISMAIL, I. M. I.; OVES, M. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils. **Microbiological research**, Brussels, v. 183, n.1, p. 26-41, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.007>

RODRÍGUEZ-ROMERO, A. S.; GUERRA, M. S. P.; JAIZME-VEGA, M. D. C. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria on banana growth and nutrition. **Agronomy for sustainable development**, Paris, v. 25, n. 3, p. 395-399, 2005. DOI: 10.1051/agro:2005039

SABOYA, R. C. C., CHAGAS Jr, A. F., MONTEIRO, F. P. R., SANTOS, G. R., ERASMO, E. A. L.; CHAGAS, L. F. B. Fungos micorrízicos arbusculares afetando a produção de mudas de pinhão-mansão na região Sul do Estado de Tocantins, Brasil. **Ceres**, Viçosa - MG, v. 59, n. 1, p. 142-146, jan./fev. 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100020>.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; SILVEIRA, A. P. D. Interação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasília-DF, v. 42, n. 11, p. 1593-1600, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007001100011>

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 – RS, v. 13, n. 3, p. 130-133, jul./set. 2015. <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3015>

SAXENA, J. S.; CHANDRA, S.; NAIN, L. Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. **Journal of soil science and plant nutrition**, Temuco, v. 13, n. 2, p. 511-525, 2013. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000040>

SCHILIRÒ, E.; FERRARA, M.; NIGRO, F.; MERCADO-BLANCO, J. Genetic responses induced in olive roots upon colonization by the biocontrol endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* PICF7. **Plos One**, San Francisco, v.7, n. 11, p. 1-11, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0048646

SEIFI, E.; TEYMOOR, Y. S.; ALIZADEH, M.; FERAYDOONI, H. Olive mycorrhization: Influences of genotype, mycorrhiza, and growing periods. **Scientia Horticulturae**, Columbia, v. 180, n.1, p. 214-219, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.042>

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.

SILVA, F. J.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A., SANTOS NETO, J. A.; SOUZA, M. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias associadas a materiais orgânicos no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista – BA, v. 34, n. 1, p. 59-65, jan./mar. 2016. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620160000100009>

SILVA, G. L. G.; MELLO, A. S. O desenvolvimento de tecnologias sociais em um centro de pesquisas científicas no sul de Minas. **Janus**, Lorena – SP, v. 11, n. 20, p. 80-94, jul./dez. 2014.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ALVES, T. C.; ZAMBON, C. R. Variação na qualidade do azeite em cultivares de oliveira. **Bragantia**, Campinas-SP, v. 71, n. 2, p.202-209, 2012c.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ZAMBON, C. R. Caracterização agrônômica e carpométrica de cultivares de oliveira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 350-356, jul./set. 2012a.

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; RUIZ ZAMBON, C.; OLIVEIRA, D. L. Enraizamento de estacas semilenhosas de cultivares de oliveira. **Bragantia**, Campinas-SP, v. 71, n. 4, p. 488-492, 2012b.

SILVA, T. F. **Diversidade e potencial de utilização de bactérias diazotróficas não simbióticas no enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.)**. 2011. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2011. Disponível em: <<https://saturno.unifei.edu.br/bim/0038261.pdf>>. Acesso em: 03 out. 2016.

SILVA, T. F.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P.; GONÇALVES, E. D. Bactérias diazotróficas não simbióticas e enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 61-71, jan./mar, 2017. DOI: 10.5902/1980509826447

SOARES, A. C. F.; SOUSA, C. S.; SILVA GARRIDO, M.; SOUSA LIMA, F. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza - CE, v. 43, n. 1, p. 47-54, jan./mar. 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902012000100006>.

SOUSA, C. S.; SOARES, A. N. F.; COIMBRA, J. L.; GARRIDO, M. S.; MACHADO, G. S. Fungos micorrízicos arbusculares no controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 1, p.15-20, jan./mar. 2010.

SPASSIN, A. C.; VANDRESEN, P. B.; NEVES, D.; OLIVEIRA GARCIA, F. A.; UKAN, D.; PERES, F. S. B. Promoção do crescimento e enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus dunnii* por rizobactérias e bactérias do filoplano. **Floresta**, Paraná, v. 46, n. 3, p. 387-395, jul./set. 2016. DOI: 10.5380/ff.v46i3.38586

STORCK, L.; GARCIA, D. C.; LOPES, S. J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação Vegetal**. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2016. 200 p.

SUGAI, M. A. A.; COLLIER, L. S.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Inoculação micorrízica no crescimento de mudas de angico em solo de cerrado. **Bragantia**, Campinas - SP, v. 70, n. 2, p. 416-423, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052011000200024>

TAPIA, F.; ASTORGA, H.; IBACACHE, A.; MARTINEZ, L.; SIERRA, C.; QUIROZ, C.; LARRAIN, P.; RIVEROS, F. **Manual del cultivo del olivo**. 1. ed. La Serena (Chile): INIA, 2003. 128 p. (INIA. Boletín 101).

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. DOI: 10.1007/s11099-016-0243-5

TOFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J. T.; NOGUEIRA, E. M. C. Doenças fúngicas da oliveira: sintomas, etiologia e manejo. **Biológico**, São Paulo - SP, v. 75, n. 1, p. 53-61, jan./jun, 2013. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v75_1/tofoli3.pdf>. Acesso em: 27 out. 2016.

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

VAFADAR, F.; AMOOAGHAIE, R.; OTROSHY, M. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. **Journal of Plant Interactions**, London, v. 9, n. 1, p. 128-136, 2014. DOI: 10.1080/17429145.2013.779035

VALADARES, R. B. S.; MESCOLOTTI, D. L. C.; CARDOSO, E.J.B.N. Micorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. Piracicaba: ESALQ, 2016. p. 179-196.

VALMORBIDA, J.; BOARO, C. S. F.; LESSA, A. O.; SALERNO, A. R. Enraizamento de estacas de *Trichilia catigua* A. Juss (catigua) em diferentes estações do ano. **Revista Árvore**, Viçosa - MG, v. 32, n. 3, p. 435-442, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622008000300006>.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability—a review. **Molecules**, Basel, v. 21, n. 5, p. 573, 2016. doi:10.3390/molecules21050573

VIEIRA NETO, J.; SILVA, L. F. O.; DAL'COL LÚCIO, A.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, M. C. Formulações comerciais de fertilizantes foliares na finalização de mudas de variedades de oliveira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 125-131, jan-mar, 2011b.

VIEIRA NETO, J.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, N. C.; DUARTE, H. S. S.; GONCALVES, E. D. **Aspectos técnicos da cultura da oliveira**. 1. ed. Belo Horizonte: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, 2008. 56p.

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

VITORAZI FILHO, J. Á.; LIMA, K. B.; FREITAS, M. S. M.; MARTINS, M. A.; OLIVARES, F. L. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 2, p. 442-450, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452012000200017>

VIVAS, A.; AZCÓN, R.; BIRÓ, B.; BAREA, J. M.; RUIZ-LOZANO, J. M. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted soil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. **Canadian journal of microbiology**, Ottawa, v. 49, n. 10, p. 577-588, 2003. doi: 10.1139/W03-073

WEBER, O. B.; AMORIM, A. M. C. Adubação fosfática e inoculação de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em mamoeiro "Solo". **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 18, n.2, p. 187-191, 1994.

WREGGE, 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 - SP, v.37, n.3, p. 656-666, set. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-174/14>

WREGGE, M.; COUTINHO, E.; STEINMETZ, S.; REISSER JUNIOR, C.; ALMEIDA, I. R.; MATZENAUER, R.; RADIN, B. **Zoneamento agroclimático para oliveira no estado do Rio Grande do Sul**. 1.ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 24p.

XAVIER, L. J. C.; GERMIDA, J. J. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 471-478, 2003. doi:10.1016/S0038-0717(03)00003-8