

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE RECURSOS NATURAIS - IRN
MESTRADO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Priscila Elaine de Lima

**Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera e
potencial de utilização no enraizamento de estacas de mirtilheiro
(*Vaccinium* spp)**

Itajubá (MG)

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE RECURSOS NATURAIS - IRN
MESTRADO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Priscila Elaine de Lima

**Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera e
potencial de utilização no enraizamento de estacas de mirtilheiro
(*Vaccinium spp*)**

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.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Melloni

Itajubá (MG)

2014

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Mauá
Bibliotecária Jacqueline Rodrigues de Oliveira Balducci- CRB_6/1698

L732p

Lima, Priscila Elaine de.

Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera e potencial de utilização no enraizamento de estacas de mirtilheiro (*Vaccinium* spp). / Priscila Elaine de Lima. – Itajubá, (MG) : [s.n.], 2013.

44 p. : il.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Melloni.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá.

1. Enraizamento. 2. Mirtilheiro. 3. Micorriza. I. Melloni, Rogério, orient. II. Universidade Federal de Itajubá. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
INSTITUTO DE RECURSOS NATURAIS
MESTRADO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

Priscila Elaine de Lima

**Propágulos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera e
potencial de utilização no enraizamento de estacas de mirtilheiro
(*Vaccinium* spp)**

Dissertação aprovada por banca examinadora em
29 de janeiro de 2014, conferindo à autora o título
de **Mestre em Ciências em Meio Ambiente e
Recursos Hídricos**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rogério Melloni (Orientador)

Profa. Dra. Fabrina Bolzan Martins

Prof. Dr. Emerson Dias Gonçalves

Itajubá (MG)

2014

A meu pai, Genivaldo Carlos de Lima, que tanto me apoiou e me deu incentivos para prosseguir, depositando em mim sonhos e esperanças e, em especial, à memória de minha querida mãe, Rosangela Morato de Lima, que sempre me incentivou na busca por conhecimento, fazendo, muitas vezes, o impossível para nos garantir uma educação de qualidade.

A minha irmã, Aline Bruna de Lima, pelo auxílio e compreensão nas horas de maior dificuldade.

Ao meu namorado, pelo companheirismo e paciência.

A minha família e aos amigos, que tanto me apoiaram e me auxiliaram nesta caminhada.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Itajubá pela oportunidade de participar do programa de Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Ao professor Dr. Rogério Melloni, por me permitir ser sua orientada e partilhar de seus conhecimentos, amizade, companheirismo e compreensão que tanto me auxiliaram neste período.

A Fazenda Experimental Maria da Fé – Epamig, que me permitiu desenvolver a pesquisa em suas dependências e pelo auxílio nas questões relacionadas à cultura do mirtilo.

Ao pesquisador da Epamig, Emerson Dias Gonçalves, pela disponibilidade e pela proposição de trabalhar com a cultura do mirtilo.

Às professoras Eliane G.P. Melloni e Fabrina Bolzan Martins, pelas sugestões de melhorias no projeto durante a qualificação no mestrado.

Aos colegas do MEMARH pelas horas de estudo, apoio e diversão.

Ao técnico do Laboratório de Microbiologia, Paulo Sérgio Marques, pela companhia, por todo o conhecimento e pelas técnicas que me foram passadas, essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos graduandos em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Itajubá, Ana Cristina Brunório e Paulo Eduardo Dias Belato que tanto contribuíram para a minha pesquisa.

A toda minha família e amigos pelo apoio e incentivo.

RESUMO

O mirtilo é uma planta de alto valor comercial e com grande mercado consumidor e tem se apresentado como uma excelente fonte de renda. Por se tratar de uma espécie pouco conhecida no Brasil, existem alguns problemas relacionados à propagação de mudas e, como forma de acelerar e garantir o enraizamento e a produção de mudas, deve ser considerada a inserção de agentes microbiológicos nesse processo. O objetivo desse trabalho foi avaliar propágulos de fungos micorrízicos em amostras de solo e raízes de mirtilo (*Vaccinium spp.*), em condições de campo e em casa de vegetação, de modo a fornecer informações microbiológicas para complementar as características agrônomicas e favorecer a sua implantação e comercialização. Para atendê-lo, o trabalho foi desenvolvido em duas etapas independentes: 1) Identificação, *in situ*, de propágulos de fungos micorrízicos na rizosfera de diferentes cultivares, envolvendo a quantificação de micélio extrarradicular total, diversidade de esporos e a intensidade de colonização micorrízica; 2) Avaliação da inoculação de fungos micorrízicos no enraizamento de mirtilo em condições controladas, comparando-se com tratamento hormonal ácido indolbutírico (AIB), comercialmente utilizado. Em condições de campo, as cultivares de mirtilo promoveram alteração nos propágulos de fungos micorrízicos arbusculares em suas rizosferas, principalmente na densidade e diversidade de esporos e micélio extrarradicular total. Os cultivares de mirtilo apresentaram diferentes respostas à colonização dos FMAs, sendo *Scutellospora heterogama* a espécie mais frequente na área de estudo da primeira etapa. Houve baixa formação de micorriza em todas as cultivares de mirtilo, nas condições de campo. Estacas de mirtilo não responderam à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e nem ao tratamento hormonal AIB.

Palavras-chave: Enraizamento. Micorriza. Mirtilheiro.

ABSTRACT

The blueberry plant has a high commercial value, a large consumer market, and has emerged as a great source of income. Because it is a relatively new species in Brazil, there are some problems related to the propagation of seedlings and should be considered the inclusion of microbial agents in this process as a way to accelerate and ensure the rooting and seedling production. The aim of this study is to evaluate mycorrhizal fungi propagules in soil and roots samples of blueberry (*Vaccinium* spp.) in the field and in the greenhouse, in order to provide microbiological information to complement the agronomic characteristics and promote their deployment and marketing. To answer it, the work was carried out in two independent steps: 1) Identification, *in situ*, of mycorrhizal fungi propagules in rhizosphere of different cultivars, involving the quantification of the total extraradical mycelium, spore diversity and intensity of mycorrhizal colonization; 2) Evaluation of mycorrhizal fungi inoculation on rooting blueberry under greenhouse conditions, compared with commercially used hormonal treatment, indolbutyric acid (IBA). Under field conditions, the blueberry cultivars promote changes on mycorrhizal fungi propagules in their rhizospheres, mainly in density and diversity of spores and in the total extraradical mycelium. The blueberry cultivars showed different responses to the colonization of AMF, and *Scutellospora heterogama* was the most common species in the study area of the first step. There was low formation of mycorrhiza in all blueberry cultivars, at field conditions. Blueberry cuttings did not respond to arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and also to hormonal treatment IBA.

Keywords: Rooting. Mycorrhiza. Blueberry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01- Mirtileiros e detalhes de seus frutos.....	09
Figura 02- Grupo Highbush.....	10
Figura 03- Grupo Rabbiteye.....	11
Figura 04- Grupo Lowbush.....	12
Figura 05- Áreas de cultivo de mirtilos FEMF-EPAMIG.....	23
Figura 06- Amostra acondicionadas a 4 °C.....	23
Figura 07- Amostra de 10g de solo separadas.....	24
Figura 08- Conjuntos de peneiras e copo, antes da lavagem.....	24
Figura 09- Lavagem de amostras de solo com água de torneira.....	25
Figura 10- Retirada da alíquota de 500 mL após repousar por 2 minutos em liquidificador.....	25
Figura 11- Filtração a vácuo para separação do micélio.....	25
Figura 12- Membrana de celulose, com micélio.....	25
Figura 13- Detalhe da quantificação de micélio presente no filtro de celulose (100 vezes).....	25
Figura 14- Detalhe do volume de solo para determinação de esporos.....	25
Figura 15- Processo de peneiramento úmido.....	25
Figura 16- Tubos de centrifuga, um contendo apenas água e o outro contendo o retido com peneira de 0,053 mm.....	26
Figura 17- Alocação dos tubos da centrífuga (posição cruzada).....	26
Figura 18- Raízes coletadas e separadas das amostras de solo.....	27
Figura 19- Cassetes contendo segmentos de raízes imersas em KOH, 10 %.....	27
Figura 20- Cassetes contendo segmentos de raízes imersas em tinta.....	27
Figura 21- Lâmina com segmentos de raízes para avaliação da intensidade de colonização micorrízica.....	27
Figura 22- Detalhe dos copos plásticos de 500 mL, com 300 mL de areia esterilizada (parcelas experimentais).....	28
Figura 23- Detalhe da acomodação de cinco estacas de mirtilo por parcela.....	28
Figura 24- Detalhe das parcelas no dia do plantio.....	28
Figura 25- Detalhe das parcelas 90 dias após plantio.....	28
Figura 26- Detalhe da medição das raízes.....	29
Figura 27- Detalhe da avaliação dos mirtileiros.....	29

Figura 28- Detalhe do esporo da espécie <i>Gigaspora rosea</i>	34
Figura 29- Detalhe do esporo da espécie <i>Scutellospora heterogama</i>	34
Figura 30- Frequência relativa (%) das espécies de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera de diferentes cultivares.....	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 01- Densidade de esporos na rizosfera das cultivares (n° 50 mL ⁻¹ de solo).....	30
Quadro 02- Diversidade de esporos (H') na rizosfera dos cultivares.....	31
Quadro 03- Comprimento do micélio extrarradicular total (MET) de fungos arbusculares na rizosfera de diferentes cultivares (mg ⁻¹ de solo seco).....	31
Quadro 04- Intensidade de colonização radicular das cultivares (%).....	32
Quadro 05- Variáveis de enraizamento de estacas de mirtilo submetidas ao tratamento hormonal (AIB) e com fungos micorrízicos arbusculares.....	36

SUMÁRIO

1-	INTRODUÇÃO.....	07
2-	OBJETIVO.....	08
	2.1- Objetivo geral.....	08
	2.2- Objetivo específico.....	08
3-	REFERENCIAL TEÓRICO.....	09
	3.1- Mirtileiro.....	09
	3.1.1- Origem e característica gerais.....	09
	3.1.2- Descrição e caracterização botânica.....	10
	3.1.3- Solo.....	12
	3.1.4- Clima.....	13
	3.1.5- Propagação, produção e colheita.....	14
	3.1.6- Interesse econômico.....	16
	3.2- Microrganismos do solo.....	17
	3.2.1- Fungos micorrízicos arbusculares (FMA).....	18
	3.3- FMA em mirtileiro.....	20
4-	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
	4.1- Cultivares estudados.....	22
	4.2- Etapa 01.....	23
	4.3- Etapa 02.....	27
	4.4- Análise estatística.....	29
5-	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	30
	5.1- Etapa 01.....	30
	5.2- Etapa 02.....	36
6-	CONCLUSÕES.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

1- INTRODUÇÃO

O mirtilo é uma planta frutífera de clima temperado, de porte arbustivo com frutos tipo baga, de coloração azul escura, com muitas sementes, envolvidas em uma polpa esbranquiçada de sabor doce-ácido (HOFFMANN et al., 1995), ricos em substâncias de alto poder antioxidante preventivas de doenças degenerativas.

As características do mirtilo variam em função de três grupos principais. O grupo “*highbush*” apresenta plantas com mais de 2 m de altura, com necessidade de frio hibernal entre 650 e 850 horas anuais, melhor desempenho em solos pobres em matéria orgânica, maior resistência a patógenos, maior exigência em água e estruturação do solo. O grupo “*rabbiteye*” é o de maior valor comercial, apresentando plantas com maior vigor, longevidade, produtividade, tolerância ao calor, produzindo frutos ácidos, firmes e de longa conservação. O grupo “*lowbush*” caracterizado por plantas com menos de meio metro de altura e com menor importância comercial, por apresentarem frutos pequenos e menos doces (GALLETA; BALLINGTON, 1996).

O mirtilo surge como uma alternativa para pequenos agricultores da região, já que não necessita de grandes áreas de cultivo e possui alto valor comercial, sendo assim, uma excelente oportunidade de negócios. Devido ao seu grande potencial econômico, o mirtilo é apontado como a mais promissora cultura no Brasil, mas ainda existem algumas dificuldades na sua expansão, como a baixa disponibilidade de mudas, as dificuldades no enraizamento de estacas e a adaptação ao clima. Assim, para uma maior exploração e implantação desta espécie é necessário que se desenvolvam novas pesquisas relacionadas ao tema.

Uma das maneiras para melhorar o cultivo de mirtilo e incentivar o desenvolvimento da cultura, desde a fase de produção de mudas, seria por meio de estudos da colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares, já que esses possuem ação reconhecida no crescimento de plantas, na adaptação de mudas em campo e contribuição para redução do uso de fertilizantes e agrotóxicos (AZCON-BIETO; TALON, 2000; STARAST et al., 2006). Nesse sentido, são raros os estudos associando a presença de fungos micorrízicos arbusculares em mirtilo no Brasil (RISTOW et al., 2009; FARIAS, 2012).

Sendo o sul de Minas Gerais um local propício para o desenvolvimento da cultura de mirtilo, devido às suas condições climáticas, esse trabalho tem o objetivo de valorizar a sua contribuição no desenvolvimento da região.

2- OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a ocorrência e a utilização de fungos micorrízicos arbusculares na cultura do mirtilo.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar, em condições de campo, propágulos de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera de diferentes cultivares de mirtilo.
- Analisar a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares no enraizamento do mirtilo.

3- REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Mirtilo

3.1.1. Origem e características gerais

O mirtilo (Figura 1) é uma planta frutífera pertencente à família Ericaceae, subfamília *Vaccinoideae*, gênero *Vaccinium* e subgênero *Cyanococcus*, nativo da América do Norte, onde é denominado blueberry. Atualmente, o gênero *Vaccinium* apresenta mais de 20 espécies descritas. Em seu habitat natural cresce de maneira silvestre associado à floresta de coníferas, tendo seu cultivo comercial iniciado no século XX (CABALLERO, 2009).



Figura 1 – Mirtilheiros e detalhes de seus frutos (Fonte:

<http://portaldoparaísodomirtilo.blogspot.com.br/2013/02/mirtilo-e-fruta-da-longevidade.html>)

As folhas são simples, de forma oval a lanceolada e caduca, adquirindo uma tonalidade roxa no outono. O sistema radicular é superficial, sendo as raízes muito finas e sem pelos radiculares, apresentando porte arbustivo com frutos tipo baga, coloração azul escura e muitas sementes envolvidas por uma polpa esbranquiçada de sabor doce-ácido (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

Segundo Coletti (2009), as flores apresentam a corola com pétalas brancas ou rosa, de forma tubular ou em forma de sino. Cerca de 8 a 10 estames estão inseridos na base da corola, ao redor de um longo pistilo. Os membros do gênero *Vaccinium* formam flores, geralmente, na posição axilar. As anteras têm a forma de tubos ocos, alongados, com um poro na extremidade, por onde sai o pólen. Em geral, o estigma é indiferenciado, sobre um estilete filiforme.

O mirtilo é rico em substâncias antioxidantes, que previnem doenças degenerativas, favorecem a visão, oferecem benefícios à pele, aos vasos sanguíneos,

problemas circulatórios, transtornos cardíacos, feridas externas e internas, edemas, artrites e artroses. É rico em vitaminas A, B, C e PP, possuindo ainda sais minerais, magnésio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, açúcares, pectina, tanino, ácido cítrico, málico e tartárico (SERRADO et al., 2008).

Desenvolvido por Cluter e Cao (2004) no National Institute on Aging em Baltimore, o teste ORAC (oxygen radical absorbance capacity) é um método que determina a atividade de eliminação dos radicais livres (BANK; SCHAUSS, 2004). Esse teste, ao ser aplicado no mirtilo, o classificou com elevado nível de capacidade antioxidante. As onze antocianinas presentes no mirtilo correspondem a 56,3% do valor total da capacidade medida pelo teste ORAC, sendo possível observar que os polifenóis encontrados no mirtilo podem diminuir perdas de sinais neurais, déficits nos sistemas motor e cognitivo e prevenir doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, o mal de Parkinson e a esclerose lateral (RAMIREZ et al., 2005).

3.1.2. Descrição e caracterização botânica

Segundo Galleta e Balington (1996) os mirtilos podem ser divididos em cinco grupos principais.

Highbush (arbusto alto): plantas com mais de 2 m de altura, com necessidade de frio hibernal entre 650 e 850 horas anuais (Figura 2). Não se adaptam bem ao Brasil por necessitarem de muitas horas de frio, ou seja, invernos rigorosos.

Highbush

Vaccinium corymbosum

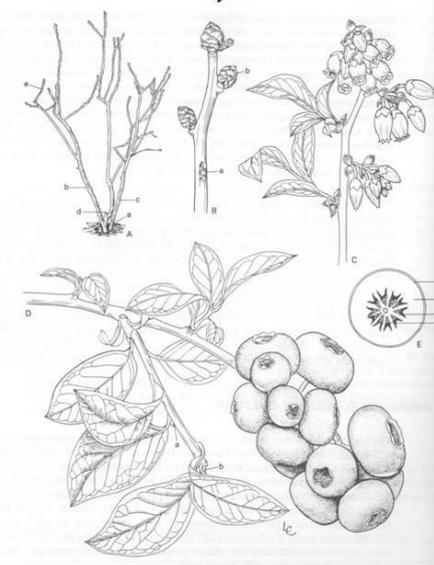


Figura 02 - Grupo highbush. Fonte: Pio (2010) (Fonte:

<http://frutastemperadas.blogspot.com.br/2010/12/conheca-os-grupos-dos-mirtileiros-e.html>).

Half-high (arbusto médio): possuem características parecidas com o grupo Highbush, mas com menor necessidade de frio hibernal. O porte dos arbustos varia de 0,5 a 1 metro.

Southern highbush (arbusto alto do sul): apresentam características semelhantes as do grupo Highbush, mas dentre as plantas de maior porte (highbush, halfhigh e southern highbush) é a que apresenta menor necessidade de frio hibernal. Apresentam melhor desempenho nos planaltos e adaptam-se a solos pobres em matéria orgânica, mas são mais exigentes que o grupo Rabbiteye com a estruturação do solo, drenagem e disponibilidade de água.

Rabbiteye (olho de coelho): recebem esta denominação devido a cor avermelhada que seus frutos adquirem próximo à maturação, lembrando olho de coelho (Figura 3). É o grupo de maior valor comercial no Brasil, cujas plantas podem alcançar de 2 a 4 metros de alturas. Apresentam plantas vigorosas, longevas, alta produtividade e tolerância ao calor. Seus frutos são ácidos, firmes, de longa conservação, de tamanho médio e sabor doce. A planta é semiereta e de baixa necessidade em frio (cerca de 400 horas), são mais tolerantes a uma variação maior de pH do solo e a fungos, e resistentes à seca. Através de melhoramento genético foram corrigidos problemas de maturação precoce e autoesterilidade.

Rabbiteye
Vaccinium ashei



Figura 03 - Grupo Rabbiteye. Fonte: Pio (2010) (Fonte:

<http://frutastemperadas.blogspot.com.br/2010/12/conheca-os-grupos-dos-mirtileiros-e.html>)

Lowbush (arbusto baixo): caracterizado por plantas com menos de meio metro de altura e apresentam frutos pequenos (Figura 4) e menos doces, de uso doméstico são originárias do Canadá e altamente exigentes em horas de frio (temperaturas menores ou iguais a 7,2°C e cerca de 1000 horas de frio hibernal).

Lowbush
Vaccinium myrtilloides



Figura 04: Grupo lowbush. Fonte: Pio (2010) (Fonte: <http://frutastemperadas.blogspot.com.br/2010/12/conheca-os-grupos-dos-mirtileiros-e.html>).

Essa classificação pode ser simplificada em três grandes classes: highbush, lowbush e rabbiteye. Assim, o grupo *highbush* compreenderia todas as plantas do grupo highbush, Southern highbush e halfhigh. As cultivares desse grupo foram desenvolvidas em programas de melhoramento genético principalmente a partir de duas espécies, *V. corymbosum* L. e *V. australe* Small. São encontrados naturalmente na costa leste da América do Norte, estendendo-se até o norte da Flórida e sudeste do Alabama. O tipo *lowbush* é o de maior importância comercial nos Estados Unidos devido a sua grande quantidade e abundância nos campos do Canadá. O grupo *rabbiteye* estende-se do norte da Flórida até o sul do Alabama e Geórgia. Esse grupo oferece as variedades com maior possibilidade de melhorias genéticas por serem mais resistentes a variação de pH do solo, altas temperaturas, falta de água e baixa necessidade de frio (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

3.1.3. Solo

Para que o mirtilo apresente bom crescimento e produção, alguns atributos de solo devem ser considerados.

O pH ideal do solo deve estar entre 4,2 e 5,5. Entretanto, se os valores de pH forem superiores a 5,5, pode ser realizada a correção com enxofre um ano antes do plantio, mas se estiverem próximas a 6 o mirtilo só terá bom desenvolvimento se o solo for rico em matéria orgânica. Também é importante que o solo seja aerado, leve, solto, pouco profundo e não sujeito à saturação por água (RISTOW et al., 2009).

Por apresentar sistema radicular superficial, com raízes muito finas e sem pelos radiculares, é muito sensível à compactação do solo, não sendo recomendado o plantio em solos de textura argilosa, dando preferência a solos arenosos ou franco arenosos, não muito profundos e de baixa fertilidade. Devido à grande exigência do mirtilo em água e oxigenação, o solo deve ser bem drenado, poroso e ainda que consiga reter água. É uma das poucas frutíferas que retira água dos frutos, quando esta não está disponível no solo, podendo afetar negativamente o crescimento vegetativo. O encharcamento do solo, mesmo que em pequenos períodos, causa danos à planta, como pequeno crescimento, pouca produção de frutos, ramos secos e a morte das plantas (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

Como o mirtilo apresenta uma alta suscetibilidade à toxidez nutricional por fertilizantes, as doses precisam ser fracionadas em pelo menos duas parcelas ao ano e o fertilizante nitrogenado deve ser distribuído ao redor das plantas, formando uma coroa de 40 cm de distância do tronco.

3.1.4. Clima

O mirtilo é uma espécie caducifólia que precisa de um período de acumulação de horas de frio para conseguir brotação abundante e se reproduzir. As horas de frio variam entre 200 e 1000 horas, dependendo da espécie e da variedade (VEGARA, 2008). Contudo, o desenvolvimento do mirtilheiro pode-se dar em climas diversificados, como zonas úmidas ou secas, muito frias ou quentes, desde que se conheça o cultivar adequado e adaptável as condições climáticas locais. As plantas podem tolerar temperaturas muito baixas, de até -32° C, e por pequenos períodos, temperaturas de até 50° C (COLETTI, 2009).

Os fatores climáticos atuam diferentemente segundo a fase de desenvolvimento, determinando o potencial de produção. Durante a fase de repouso, o frio é o fator mais importante e durante a fase vegetativa, a temperatura, a precipitação e a radiação solar são os mais importantes. O mirtilheiro apresenta hábito de crescimento basitônico, ou seja, a brotação ocorre nas gemas basais, definindo o porte da planta. A falta de frio

causa brotação e floração deficiente e, por consequência, produção deficiente (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

Na fase vegetativa, temperaturas elevadas e falta de água são mais danosas as cultivares devido à baixa capacidade do sistema radicular em absorver a água para atender a demanda da transpiração da parte aérea. Na fase de desenvolvimento do fruto, a temperatura influencia diretamente no período de 50 a 90 dias após a floração. Na fase de maturação os frutos de melhor qualidade são aqueles em que o fotoperíodo é longo e as temperaturas noturnas amenas. Quando há pouca luminosidade, o número de gemas florais é reduzido e, conseqüentemente, o potencial de produção para o ciclo seguinte é comprometido (ANTUNES et al., 2012).

As gemas florais se formam no outono com temperaturas próximas a 24° C, os ventos fortes prejudicam o crescimento e polinização e recomenda-se a instalação de cortinas florestais. Temperaturas negativas geram danos às flores e temperaturas superiores a 32° C diminuem o crescimento da planta e alteram o sabor e o tamanho do fruto (COLETTI, 2009).

Segundo Antunes et al. (2012) as cultivares também apresentam comportamento diferenciado quanto à resistência a geadas, sendo a fase mais frágil a de floração, já que se a temperatura permanecer baixa por muito tempo, causará necrose no pistilo e no ovário.

3.1.5. Propagação, produção e colheita

A propagação do mirtilheiro pode ser feita por meio de sementes (reprodução sexuada) ou por estaquia (reprodução assexuada), sendo mais utilizada a propagação por estaquia. A propagação por sementes não é comercialmente utilizada, mesmo com o grande número por fruto, pois devido à segregação genética, são originados descendentes com características distintas as da planta mãe, fator que não ocorre ao propagar mirtilo por estaca. No entanto, a propagação por estaquia tem apresentado alguns problemas, como a pouca produção de ramos para a confecção das estacas e à dificuldade de enraizamento de algumas cultivares (RASEIRA et al., 2008).

Segundo Antunes et al. (2012) o grupo *highbush* é usualmente propagado por estacas lenhosas que são retiradas durante o período de repouso de hibernar. Geralmente as estacas variam de 10 a 15 cm de comprimento, podendo ser conservadas em câmara fria, posteriormente preparadas e dispostas em canteiros com substratos a temperatura de 18° a 21°C.

Para o grupo *rabbiteye* os melhores resultados vêm da propagação por estacas herbáceas, que são retiradas da planta em estado mais tenro, mas para seu enraizamento é necessário o controle de temperatura e da umidade. Elas podem ser retiradas durante todo o ciclo vegetativo, mas os resultados são melhores quando as estacas são retiradas na primavera. A planta mãe precisa apresentar bom estado fitossanitário para produzir material vegetal de boa qualidade. As estacas devem ter de 10 a 15 cm de comprimento e elas devem ser mantidas com a base em água para se manter hidratada. Também devem ser mantidas de 2 a 3 folhas superiores, que serão uma das fontes reguladoras de crescimento (auxinas) e facilitarão a formação das raízes, e eliminar as folhas basais. O substrato deve ser facilmente drenado e a parte superior das estacas deve ser umedecida através de nebulização. Após 90 dias é necessário fazer o transplante para o substrato apropriado (ANTUNES et al, 2008).

Ao serem transplantadas para o campo, as mudas devem passar por processos de aclimatização, pois os ventos e o sol podem queimar as plantas. As mudas devem estar vigorosas e enraizadas e devem ser levadas para covas de 30x30x30 cm. O pomar deve ser implantando em camalhões dispostos em curvas com declividades entre 0,6 e 0,8% ou em linhas retas se o terreno for plano, evitando-se áreas com incidência de ventos. Nos dois primeiros anos é formada a estrutura produtiva da planta. A fase juvenil do mirtilheiro é curta e ele apresenta frutos e flores desde a fase de muda, mas toda flor ou fruta deve ser eliminada para estimular as brotações e fortalecer os ramos em formação. As plantas do grupo *rabbiteye* necessitam de menos poda do que as do grupo *highbush*, pois suportam maiores cargas de frutas. Após os dois primeiros anos, inicia-se a fase de produção comercial dos frutos e as podas são realizadas no inverno, onde se eliminam ramos secos e galhos mal localizados, e no verão, após a colheita, eliminando os ramos que produziram, pois eles tendem a secar (ANTUNES et al., 2012).

As épocas de floração e maturação dos frutos variam de acordo com as condições edafoclimáticas locais. Portanto, deve-se escolher uma cultivar que se adapte às características locais para uma maior produção (ANTUNES et al., 2008)

Após a colheita, o fruto é selecionado, descartam-se aqueles de má qualidade, pequenos, verdes, podres ou danificados. O mirtilo pode ser comercializado *in natura* ou processado como polpa para iogurtes, doces, sorvetes, geleias e vinhos.

3.1.6. Interesse econômico

As primeiras experiências com mirtilo no Brasil foram realizadas pela Embrapa Clima Temperado de Pelotas - RS em 1983, com plantas cedidas pela Universidade da Flórida - Estados Unidos, com objetivo de avaliar o comportamento desta espécie em solos brasileiros, sendo algumas cultivares perfeitamente adaptáveis às condições de clima do Sul e de algumas regiões do Sudeste brasileiro.

O plantio comercial iniciou-se em 1990 na cidade de Vacaria - RS e o quadro produtivo atual do país está estimado em cerca de 60 toneladas, dependendo do nível de manejo adotado, concentradas nas cidades de Vacaria e Caxias do Sul no Rio Grande do Sul, Barbacena em Minas Gerais, e Campos do Jordão, em São Paulo, totalizando uma área de aproximadamente 35 ha (DAMIANI; SCHUCH, 2009).

Dados registrados pela Organização Mundial de Agricultura e Alimentação das Nações Unidas (FAO) indicam que nos últimos 40 anos a produção mundial de mirtilo aumentou sete vezes e sua área de cultivo quinze vezes. Nos últimos onze anos, esses números praticamente duplicaram, passando de 105 mil toneladas em 1992 para 207 mil toneladas em 2002. O crescente interesse dos consumidores norte americanos, europeus e asiáticos tem pressionado os tradicionais produtores mundiais a aumentarem sua oferta, somados a novos empreendedores (Chile, Argentina e mais recentemente o Brasil). Os Estados Unidos detêm 50% da produção mundial do fruto, seguidos pelo Canadá, com 33%, e pelo continente europeu com 16%, cabendo ao restante do mundo apenas 1% de participação no volume produzido em 2002. É também nos Estados Unidos onde se encontram os maiores índices de consumo. Os norte-americanos importam cerca de 80% da produção do restante do mundo, embora seja o maior produtor de mirtilo o país não é autossuficiente (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

Devido às suas propriedades medicinais e, principalmente, pelas oportunidades de negócio que a fruta apresenta, já que abastece o mercado externo do hemisfério norte na sua entressafra, tem despertado a atenção de técnicos e produtores de frutas do Brasil, sendo apontada como a mais promissora cultura no país.

Por se tratar de uma cultura ainda em estudo no país, existem algumas dificuldades na sua expansão, como a baixa disponibilidade de mudas e as dificuldades no enraizamento. O mirtilo, normalmente, é propagado por estaquia, uma vez que a propagação por sementes a nível comercial não é utilizada mesmo com o grande número de sementes por fruto (HOFFMANN et al. 1995). Segundo Camargo et al. (2010) a propagação por estaquia tem apresentado alguns problemas, especialmente no

que se refere à baixa produção de ramos para a confecção de estacas e à dificuldade de enraizamento de alguns cultivares. Assim, para uma maior exploração dessa espécie é necessário que se desenvolvam novas técnicas de produção de mudas com parte aérea e sistema radicular vigoroso, a fim de possibilitar um estaqueamento mais eficiente e em grandes quantidades. Contudo, tem-se obtido resultados positivos na utilização de indutores de enraizamento e crescimento na Colômbia (CASTRILLÓN et al., 2008).

Desenvolver um método que permita otimizar a propagação do mirtilo com alta qualidade, em menor tempo e de maneira simples, pode favorecer o cultivo (CABALLERO, 2009). Uma maneira de melhorar a produção de mudas pode ser por meio de inoculação de microrganismos específicos do solo, já que esses podem acelerar o desenvolvimento das mesmas, contribuir para melhor adaptação em campo e reduzir o uso de fertilizantes e reguladores de crescimento (STARAST et al., 2006).

3.2 Microrganismos do solo

A Microbiologia estuda os microrganismos e suas atividades, bem como sua forma, estrutura, reprodução, fisiologia, metabolismo e identificação dos microrganismos, além da distribuição natural, as relações intra e interespecíficas e seus efeitos benéficos e prejudiciais no meio ambiente.

No solo, a ação microbiana está condicionada à temperatura, aeração, umidade, elementos nutritivos e competição e antagonismo entre os grupos de microrganismos. Esses microrganismos contribuem para a decomposição da matéria orgânica, produção de húmus, alteração de atributos do solo, produção de metabólitos, decomposição de xenobióticos, nutrição vegetal e controle biológico de patógenos. Os microrganismos presentes no solo são responsáveis por inúmeras reações bioquímicas relacionadas à transformação da matéria orgânica e do intemperismo das rochas, auxiliando na gênese do solo e atuando como reguladores de nutrientes por meio da decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes, sendo, fonte e dreno de nutrientes para o desenvolvimento de plantas (ANDREOLA; FERNANDES, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Dentre os microrganismos, os fungos são organismos quimiorganotróficos que se reproduzem naturalmente por meio de esporos, sendo que pequenas partes podem gerar novos indivíduos, não possuem clorofila, são normalmente filamentosos e comumente ramificados, em sua maioria imóvel, embora possam demonstrar células vegetativas móveis, chamadas hifas. O conjunto de hifas é chamado micélio, que pode

formar um tecido frouxo ou um tecido compacto. Além disso, os micélios podem ser vegetativos ou de reprodução, os vegetativos buscam nutrientes por meio da penetração no solo, enquanto os micélios de reprodução são, em geral, aéreos.

Os fungos crescem melhor em ambientes úmidos, escuros, com disponibilidade de matéria orgânica, pH entre 5 e 6, temperatura entre 22° e 30° C e são menos sensíveis à pressão osmótica do que as bactérias (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os microrganismos vivem no solo na forma de culturas complexas com uma grande diversidade de interações. A região onde há maior ocorrência das interações entre organismos e plantas é a rizosfera (DANTAS et al., 2009). Trata-se de um ambiente dinâmico e sua composição e estrutura dependem do ciclo vegetativo das plantas, sendo o seu tamanho determinado pelo tipo de composição e umidade do solo, variando de 1 a 3 mm. Pela liberação de exsudatos e pequenos fragmentos de raízes a plantas é capaz de modificar as características químicas do solo próximas às raízes, fazendo com ela se torne mais rica em compostos orgânicos que variam desde compostos simples e solúveis a complexos e insolúveis.

A alta estabilidade das características físico-químicas da rizosfera é o principal condicionante da elevada diversidade, número e atividade dos microrganismos, sendo o número de microrganismos maior do que no solo livre de raízes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

São comumente encontrados na rizosfera aminoácidos de ocorrência natural, ácidos orgânicos, carboidratos derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, enzimas e alguns outros compostos como as auxinas, glutaminas, glicosídeos, ácidos cianídricos, peptídeos, saponinas, ácidos fenólicos, etc. Assim, esta região se torna extremamente atraente aos microrganismos.

A rizosfera influencia direta ou indiretamente quase todos os microrganismos, sendo algumas espécies mais favorecidas do que outras, resultando na sua predominância no habitat. Não há influência da mesma sobre o número de propágulos de fungos, mas como estes estão em contato direto com as raízes, influenciam no desenvolvimento filamentosos em fenômenos de quimiotaxia e quimiotrofia positiva, garantindo a rápida colonização da região (CARDOSO; FREITAS, 1992).

3.2.1. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

Dentre as possíveis interações entre as plantas e os microrganismos, a de maior importância nutricional e ocorrência no solo é conhecida como micorriza, sendo

observada em mais de 80% das espécies e essenciais na busca da compreensão da ecologia e evolução das plantas, suas comunidades e ecossistemas (AZCON-BIETO; TALON, 2000). Segundo Berbara et al. (2006), essa associação pode ocorrer em todos os ecossistemas terrestres, além de algumas evidências fósseis indicarem que as primeiras plantas da terra já apresentavam esta interação, com formação de micélios e esporos semelhantes aos de hoje. Atualmente, em solos tropicais, os FMA são responsáveis por cerca de 50 % da biomassa microbiana.

A associação entre o FMA e a planta é considerada simbiótica e mutualística. Simbiótica porque os organismos habitam o mesmo ambiente e mutualística porque ambos se beneficiam com interação. O fungo coloniza a planta, consome produtos da fotossíntese e os utiliza para seu crescimento e a planta tem sua capacidade de absorver água e nutrientes aumentadas, devido à formação de hifas que aumentam a área de abrangência da raiz a áreas que as plantas sozinhas não teriam acesso (HERRERA, 2003). Segundo Berbara et al. (2006) o comprimento das hifas depende das características do solo e da raiz e são expressas através da massa ou do volume do solo ou por unidade de raiz colonizada.

A ocorrência da simbiose micorrízica arbuscular depende das interações entre as hifas fúngicas e as células das raízes, resultando na simbiose funcional e mutualística, sendo as principais interações os estímulos químicos para germinação e crescimento das hifas no solo, formação de apressório na superfície das raízes, regulação funcional para a colonização do córtex radicular e formação de estruturas fúngicas específicas como arbúsculo, vesículas e esporos. Todos esses passos são regulados pelo ambiente, particularmente pela disponibilidade de nutrientes no solo, assim, ocorre uma perfeita integração morfológica, fisiológica, bioquímica e funcional resultado da evolução conjunta dos genomas da planta e do fungo, havendo uma dependência essencial do fungo pela planta (biotrofismo obrigatório) e uma dependência em diferentes graus da planta pelo fungo (dependência micorrízica). Existe, ainda, a afinidade entre a planta e o FMA, sendo que a planta pode responder desde forma negativa até extremamente positiva à colonização. Em solos ricos em nutrientes, as plantas não necessitam de FMA, mas quanto maior for o estresse a que a planta está submetida, maior a sua dependência à associação, já que as hifas são mais eficientes que as raízes na absorção de nutrientes e água. No entanto, se houver uma inversão nas condições nutricionais do solo, a associação simbiótica mutualística fungo planta pode evoluir para parasitismo.

Além da melhoria das condições nutricionais da planta, a rede micelial contribui para estruturação de comunidades vegetais, pois frequentemente os micélios conectam sistemas radiculares de plantas vizinhas, funcionando como importante elemento na sucessão vegetal, além de contribuir para estruturação e estabilidade dos agregados do solo, melhorando a mobilidade dos nutrientes, a disponibilidade de água, a penetração radicular e diminuindo a erodibilidade (BERBARA et al., 2006).

As alterações metabólicas conferem às plantas maior resistência aos efeitos provocados por estresses de natureza biótica ou abiótica. A micorrização possibilita melhor utilização e conservação dos nutrientes disponíveis no sistema solo-planta, por auxiliar as plantas na adaptação ao ecossistema e melhorar a capacidade de adaptação de mudas transplantadas. Muitas espécies vegetais não crescem sem a ajuda da micorriza, principalmente em solos pobres ou condições exóticas (AZCON-BIETO; TALON, 2000).

A inoculação de fungos micorrízicos ou o incentivo a sua colonização radicular vem como uma alternativa para melhorar a absorção de nutrientes e o crescimento vegetativo. Por isso, são necessários estudos que avaliem e selecionem diferentes espécies de FMAs para se chegar à melhor combinação fungo/hospedeira/meio ambiente que incremente a produtividade agrícola e diminua a utilização de fertilizantes e agrotóxicos (CARDOSO, 1986).

3.3 FMA em mirtilo

Como já discutido, o mirtilo é uma planta exótica e de recente cultivo no Brasil e, para sua melhor adaptação, as associações com FMAs devem ser incentivadas, pois como comprovam a maioria dos estudos, tal associação é benéfica e fortalece a planta, deixando-a mais resistente a patógenos e mais tolerante aos estresses ambientais. Existem no Brasil, poucos estudos que comprovem a eficácia dessa associação, sendo necessária a existência de novas pesquisas nesta área, a fim de esclarecer e desenvolver novas técnicas para a popularização do cultivo do mirtilo.

Segundo Muñoz (1998), o fungo mais comumente associado ao mirtilo cultivado, no Chile, é o *Hymenoscyphus ericae* (*Pezizella ericae*), mas isso não é confirmado no Brasil, onde podem ser encontradas outras relações com outras espécies fúngicas.

De acordo com Camargo et al. (2010), um dos poucos estudos realizados no Brasil, o uso de agentes biológicos compostos por bactérias *Pseudomonas spp.*,

Pseudomonas fluorescens, *Pseudomonas borealis* e *Bacillus subtilis* e fungos *Glomus caledonium*, *Glomus intraradices*, *Glomus coronatum*, *Tricoderma atroviridae* e *Tricoderma harzianum* proporcionaram maior peso da massa seca do sistema radicular de plantas micropropagadas de mirtilo da cultivar Bluebelle.

Segundo Farias (2012) as espécies de FMA se adaptam em diferentes graus, sendo esta adaptação relativa às características químicas e físicas do solo, as áreas de cultivo e a idade das plantas, sendo os pomares mais antigos os de maior diversidade. Ainda assim se desconhece a resposta de mirtilo a diferentes inóculos de FMAs, sob condições ambientais e condições controladas, sendo esta avaliação de grande importância na busca da produção de mudas de melhor qualidade e de aceleração do crescimento destas plantas em condições de campo.

4- MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em duas etapas independentes, desenvolvidas nas dependências da Empresa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) - Fazenda Experimental de Maria da Fé (FEMF) e na Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI).

4.1- Cultivares estudadas

Algumas cultivares foram estudadas, cujas principais características estão discriminadas a seguir (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

Bluebelle: originária de Tifon, Geórgia, é resultado do cruzamento entre “Callaway” e “Ethel” em 1946. É autofértil, produz frutos firmes, de tamanho médio, sabor doce ácido e presença moderada de pruína na superfície e de forte pigmentação. Pertence ao grupo *rabbiteye*.

Climax: originária de Tifon, Geórgia, foi desenvolvida pela Coastal Plain Experimental Station e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. Produz frutos de tamanho médio, de coloração azul escura e polpa saborosa. Amadurece de maneira uniforme e apresenta bastante pruína na superfície. Pertence ao grupo *rabbiteye* e sua necessidade de frio está entre 400 e 500 horas de frio em temperaturas menores que 7,2° C.

Delite: tem origem na Coastal Plain Experimental Station, gerada a partir do cruzamento de duas seleções, T14 e T15. Produz frutos grandes, de sabor doce e ácido, coloração escura e pouca pruína. Essa variedade pertence ao grupo *rabbiteye*.

Misty: originária da Flórida, ainda não é patenteada e é amplamente plantada na Argentina e no Uruguai. Resultou do cruzamento da variedade Avonblue e da seleção Fl 67-1. Produz frutos grandes, azuis claros, firmes e de sabor doce. Desenvolve muitas gemas florais e geralmente necessita de poda de inverno para maior produção. Está inserida no grupo Southern *highbush*.

O’neal: originária da Carolina do Norte é resultado do cruzamento entre “Wolcott” e Fla 4-15, pertence ao grupo Southern *highbush*. É de maturação precoce, com frutos firmes, boa coloração e sabor.

Georgiagem: originária da Geórgia é resultado do cruzamento entre as seleções Gl 32, Us 76 e “V. darrowi”. Produz frutos de coloração forte, boa qualidade, firmes e de maturação precoce. As plantas são medianas, vigorosas, de produtividade média e com crescimento semi-vertical. Faz parte do grupo Southern *highbush* e necessita de 350 a 500 horas de frio.

4.2. Etapa 01

Esta etapa foi realizada nas dependências da FEMF – EPAMIG, no município de Maria da Fé, microrregião da Serra da Mantiqueira, sul de Minas Gerais (22° 18' de latitude Sul e 45° 23' de longitude Oeste, altitude média de 1.276 m), que possui classificação climática de Köppen tipo Cwb. Foram retiradas 18 amostras da rizosfera dos cultivares de mirtilo conduzidos sob condição de campo, sendo 04 amostras da cultivar Delite, 04 amostras da cultivar O'neal, 04 amostras da cultivar Misty, 03 amostras da cultivar Geórgia e 03 amostras da cultivar Clímax, abrangendo todas as plantas presentes e cultivadas *in situ* (Figura 5). O local de cultivo possui Argissolo Vermelho Amarelo e as plantas já estavam no campo há um ano sob manejo convencional e sem a utilização de herbicidas e controle de ervas daninhas. O instrumento de coleta (enxada) foi desinfestado com álcool etílico 70 %, a cada amostragem.

As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia da Unifei, onde foram mantidas a 4° C (Figuras 6) até a avaliação dos atributos microbiológicos: quantificação de micélio extrarradicular total (MET), número total de esporos, diversidade de esporos, riqueza de espécies, frequência relativa de espécies de FMA e intensidade de colonização micorrízica.



Figura 5: Área de cultivo de mirtilo da FEMF-EPAMIG



Figura 6: Amostras acondicionadas a 4° C

A quantificação de micélio extrarradicular total foi feita segundo o método da fluorescência induzida com diacetato de fluoresceína (MELLONI; CARDOSO, 1999).

A extração de micélio extrarradiclar foi feita transferindo-se 10 g de amostras para 1500 mL em água de torneira, peneirando simultaneamente em malhas de 0,5 e 0,25 mm (Figuras 7, 8 e 9). O filtrado foi agitado em liquidificador por 30 segundos na velocidade mínima. Dois minutos foram aguardados até a retirada de uma parcela de 500 mL e passagem em peneira de 0,45 mm (Figura 10). O retido foi transferido para frasco de penicilina, utilizando-se 11 mL de água destilada, tomando-se o cuidado de não despejar na peneira os resíduos que decantaram, pois os mesmos continham muita matéria orgânica, que dificultariam a visualização do micélio. Em seguida foi feita uma filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose quadriculada (Figura 11). A membrana foi seca ao ar e posteriormente transferida para uma lâmina de vidro, onde foi delimitada uma área de 64 quadrados (Figura 12). O micélio extrarradiclar é facilmente observado ao microscópio, utilizando-se aumento de 100 vezes (Figura 13).

O número total de esporos foi determinado após separação dos mesmos por peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963). Adicionaram-se 1500 mL de água de torneira em 50 g de amostras de solo (Figura 14). Agitou-se a suspensão com um bastão de vidro por um minuto, e em seguida, despejou-se o conteúdo do recipiente sobre duas peneiras (a primeira com malha de 0,71 mm e a segunda com malha de 0,053 mm), processos estes repetidos cinco vezes por amostra (Figura 15). Transpôs-se o retido na peneira de 0,053 mm para o tubo da centrífuga, centrifugando-se por 3 min a 3000 rpm (Figura 16). Descartou-se o sobrenadante da suspensão e adicionou-se solução de sacarose 70 %, antes de nova centrifugação por 2 min a 200 rpm (Figura 17). O sobrenadante foi, então, coletado com uma seringa e disposto sobre uma placa concêntrica para avaliação dos esporos sob lupa microscópica.



Figura 7: Amostras de 10 g de solo separadas



Figura 8: Conjunto peneiras e copo, antes da lavagem



Figura 9: Lavagem de amostras do solo com água de torneira



Figura 10: Retirada da alíquota de 500 mL, após repousar por dois minutos em liquidificador



Figura 11: Filtração a vácuo para separação do micélio



Figura 12: Membrana de celulose, com micélio.

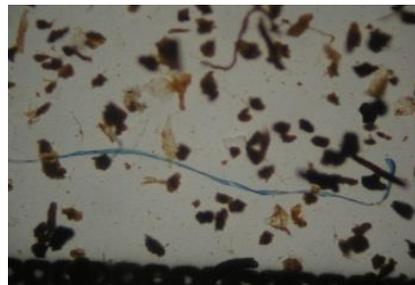


Figura 13: Detalhe de quantificação de micélio presente no filtro de celulose (aumento de 100 vezes).



Figura 14: Detalhe do volume de solo para determinação de esporos



Figura 15: Processo de peneiramento úmido



Figura 16: Tubos de centrífuga, um contendo apenas água e o outro contendo o retido em peneira de 0,053 mm



Figura 17: Alocação dos tubos na centrífuga (posição cruzada)

A diversidade de esporos foi feita segundo Shannon-Weaver (1949), de acordo com as características fenotípicas dos esporos por meio da equação:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Em que: s representa o número de esporos de FMAs por morfotipo, p_i a abundância relativa dos esporos em cada morfotipo e ln o logaritmo neperiano.

A riqueza de espécies foi expresso pelo número de esporos presentes em 50 g de solo.

A frequência relativa foi calculada a partir da frequência de ocorrência de cada espécie, por meio da equação $FR = (P_i/P) \times 100$, onde P_i representa o número de esporos em que uma determinada espécie ocorre e P o número total de amostras.

A intensidade de colonização radicular foi determinada pelo método proposto por Giovannetti e Mosse (1980).

As amostras de raízes foram colocadas em cassetes (Figuras 18 e 19), os quais foram imersos em solução de KOH 10 %, mantido em banho-maria (90° C) por aproximadamente 40 minutos. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente, e, clareadas com peróxido de oxigênio 3 %. Após acrescentou-se ao recipiente tinta preta de caneta (50 mL de tinta Parker em 1000 mL de ácido acético a 5 %) por aproximadamente 15 minutos (Figura 20). Foi adicionado, então, o glicerol a fim de se remover o excesso de tinta. Os cassetes foram então abertos, selecionaram-se segmentos de cerca de 1 cm para disposição e observação de 10 segmentos pro lâmina de microscopia (Figura 21) por cultivar. Para a categorização quanto à colonização, as cultivares foram classificadas em: baixa, média, alta e sem colonização, quando

apresentavam grau de colonização 1 a 19 %, 20 a 49 %, > 50 % de colonização e ausência de colonização, respectivamente.



Figura 18: Raízes coletadas e separadas das amostras de solo.



Figura 19: Cassetes contendo segmentos de raízes imersas em KOH 10%



Figura 20: Cassetes contendo segmentos de raízes imersas em tinta



Figura 21: Lâmina com segmentos de raízes para avaliação da intensidade de colonização micorrízica

4.3. Etapa 02

Essa etapa foi realizada em casa de vegetação da Universidade Federal de Itajubá, no município de Itajubá, sul de Minas Gerais.

Na segunda quinzena de junho de 2011, a partir da poda de inverno da cultivar Bluebelle, já formada em Gonçalves – MG (Latitude: 16° 53' 45" Sul Longitude: 42° 35' 59" Oeste), foram confeccionadas as estacas de 10 a 15 cm, ausentes de brotação, utilizados neste experimento. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, sendo definidos 7 tratamentos com 5 repetições, totalizando 35 unidades experimentais.

Cada unidade experimental foi composta por copo plástico de 500 mL, com 300 mL de areia esterilizada e 5 estacas semilenhosas de 10 a 15 cm de comprimento com

dois pares de folhas na região apical (Figuras 22 e 23). Os substratos foram infestados com inóculo de fungos micorrízicos arbusculares, conforme os tratamentos: *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea*, *Glomus etunicatum*, *Scutellospora heterogama* e *Acaulospora scrobiculata*, além do tratamento controle, sem inoculação, e outro com fertilização completa com hormônio enraizador AIB (Figura 24).

O inóculo contendo os esporos foi aplicado nos copos com a areia esterilizada antes da inserção das estacas, em quantidade suficiente para acrescentar aproximadamente 100 esporos por copo.

O experimento foi conduzido por noventa dias, período recomendado por Antunes et al. (2004) para garantir o enraizamento do mirtilo (Figura 25).

Para avaliação do enraizamento (Figuras 26 e 27), foram mensuradas as seguintes variáveis resposta: comprimento das raízes (cm), porcentagem de enraizamento e formação de calos. Porções de raízes foram retiradas para determinação da intensidade de colonização micorrízica, segundo metodologia de Giovannetti e Mosse (1980), já descrita anteriormente na etapa 01.



Figura 22: Detalhe dos copos plásticos de 500 mL, com 300 mL de areia esterilizada (parcelas experimentais)



Figura 23: Detalhe da acomodação de cinco estacas de mirtilo por parcela



Figura 24: Detalhe das parcelas no dia do plantio



Figura 25: Detalhe das parcelas aos 90 dias após plantio



Figura 26: Detalhe da medição das raízes



Figura 27: Detalhe das avaliações dos mirtileiros

4.4. Análise estatística

Com o auxílio do programa Microsoft Excel®, para análise estatística da etapa 01 foram realizados cálculos de média, variância, desvio padrão e amplitude.

Por meio do programa estatístico ASSISTAT 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2009), foram realizados testes para verificar a normalidade dos dados obtidos nas etapas 01 e 02, através do método Shapiro Wilk (1965). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, com comparação de médias por Duncan, a 5 % de significância. Antes de serem analisados, os dados de porcentagem obtidos para intensidade de colonização micorrízica foram transformados por meio de arco seno $(x/100)^{1/2}$ e os obtidos para densidade e diversidade de esporos, comprimentos e números de calos, por $x^{1/2}$.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ETAPA 01

Os resultados das estatísticas descritivas referentes às variáveis resposta densidade de esporos, diversidade de esporos, micélio extrarradicular e intensidade de colonização radicular encontram-se, respectivamente, nos quadros 1, 2, 3 e 4.

Quadro 1 - Densidade de esporos na rizosfera das cultivares (n° 50 mL⁻¹ de solo)

Amostras	Total	Média	Desvio Padrão	Variância	Amplitude
Georgia 01	71	71,0 c	5	25	10
Georgia 02	76				
Georgia 03	66				
Climax 01	54	58,3 d	4,5	20,3	9
Climax 02	58				
Climax 03	63				
Misty 01	156	148,5 a	5,1	25,7	11
Misty 02	145				
Misty 03	147				
Misty 04	146				
O'neal 01	103	103,5 b	1,3	1,7	3
O'neal 02	104				
O'neal 03	102				
O'neal 04	105				
Delite 01	62	64,25 cd	5,2	26,9	11
Delite 02	72				
Delite 03	61				
Delite 04	62				
IV (%)		4,81			

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Quadro 2 - Diversidade de esporos (H') na rizosfera das cultivares

Amostras	Total (H')	Média	Desvio Padrão	Variância
Georgia 01	1,01	1,02 a	0,012	0,0001
Georgia 02	1,03			
Georgia 03	1,01			
Climax 01	0,57	0,56 b	0,046	0,002
Climax 02	0,51			
Climax 03	0,6			
Misty 01	0,71	0,87 a	0,132	0,017
Misty 02	0,97			
Misty 03	0,99			
Misty 04	0,82			
O'neal 01	0,83	0,86 a	0,059	0,004
O'neal 02	0,91			
O'neal 03	0,92			
O'neal 04	0,8			
Delite 01	0,59	0,59 b	0,017	0,0003
Delite 02	0,6			
Delite 03	0,61			
Delite 04	0,57			
IV (%)		9,29		

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a nível de 5 % de probabilidade. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Quadro 3 - Comprimento de micélio extrarradicular total (MET) de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera das cultivares ($m\ g^{-1}$ de solo seco)

Cultivar	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio Padrão	Variância	Amplitude
Clímax	4,80	4,13	5,63	4,85 a	0,75	0,56	1,50
Delite	10,70	7,00	4,11	7,27 a	3,30	10,91	6,59
O'neal	4,47	4,27	4,19	4,31 a	0,14	0,02	0,28
Geórgia	4,39	4,24	3,27	3,97 a	0,61	0,37	1,12
Misty	5,58	7,63	6,38	6,53 a	1,03	1,07	2,05
IV (%)				13,53			

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a nível de 5 % de probabilidade. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Quadro 4 - Intensidade de colonização radicular das cultivares (%)

Cultivar	Média	Desvio Padrão	Variância	Amplitude	Interpretação
Clímax	2,8 a	2,05	4,2	4	Baixa
Delite	12,4 a	11,57	133,8	23	Baixa
O'neal	6,4 a	4,98	24,8	13	Baixa
Geórgia	3,0 a	1,87	3,5	4	Baixa
Misty	4,8 a	3,27	10,7	8	Baixa
IV (%)	45,42				

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a nível de 5 % de probabilidade. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Os maiores valores de densidade de esporos (Quadro 1) foram obtidos na rizosfera das cultivares Misty e O'neal, 149,67 e 104,00 esporos por 50 gramas de solo seco, respectivamente, seguidos pelas cultivares Georgia, Delite e Climax.

Para diversidade de esporos (Quadro 2), com base nas características do morfotipo, os maiores valores foram obtidos nas rizosferas de Georgia, Misty e O'neal e os menores nas rizosferas de Delite e Climax.

Dessa forma, as cultivares Misty e O'neal estimularam maior esporulação na rizosfera, com aumento da diversidade de espécies de FMAs, quando comparadas as demais. Segundo Angelini et al. (2012) esse efeito diferenciado de hospedeiro na esporulação (quantidade e diversidade) é dependente do tipo de manejo e adubação adotado, além da compatibilidade entre a idade da planta e a densidade de suas raízes. Plantas com sistema radicular vigoroso, crescimento rápido, que favorecem a associação e fornecem fotossintatos e bioativos ao fungo, tendem a maior taxa de esporulação.

Em geral, áreas onde são adotadas técnicas convencionais de plantio e condução da cultura apresentam menor diversidade de esporos, já que essas podem romper as redes miceliais e reduzir o potencial de inóculo, além de expor os propágulos à oxidação, altas temperaturas e predadores (MEHROTRA, 1998; MELLONI et al., 2003). As coberturas vegetais, além de melhorar as propriedades biológicas, influenciando positivamente a multiplicação de esporos de fungos, assim como áreas de cultivo onde se utiliza pouco agrotóxico, onde há rotação de culturas e cobertura vegetal, a comunidade de FMA tende a ser mais numerosa (ANGELINI et al., 2012). No presente estudo, o fato das plantas de mirtilo serem conduzidas naturalmente nas áreas, sem nenhum controle de plantas daninhas, pode ter colaborado para a baixa colonização micorrízica e uniformização dos dados relativos aos propágulos nas diferentes rizosferas das cultivares.

Com relação ao comprimento de micélio extrarradicular total de FMAs na rizosfera das cultivares, não se observaram diferenças significativas entre as rizosferas, apesar dos valores variarem de 3,97 a 7,27 m de hifas por grama de solo seco (Quadro 3). Apesar de não haver diferença significativa, a cultivar Misty, em condições de campo, atuou como estimuladora de formação de importantes propágulos (esporos e micélio) de FMAs, responsáveis pela multiplicação e dispersão no solo. Tais propágulos são importantes, pois funcionam como uma extensão radicular, proporcionando à planta maior capacidade de absorver nutrientes e água do solo, além de integrar e interligar habitats, tornando-os sensíveis as mudanças do ambiente (STAMETS, 2005).

Os propágulos avaliados anteriormente, esporos e micélio, estão na rizosfera das cultivares e são responsáveis pela colonização desse ambiente, como resultado da necessidade de aumento do inóculo dos FMAs, como demanda ambiental e da absorção e transporte de nutrientes e água do solo ao hospedeiro. No entanto, como resultado da colonização radicular, conforme quadro 4, os valores de intensidade de colonização radicular não diferiram entre as cultivares, apesar do valor para Delite ser superior (12,4 %) aos das demais (abaixo de 6,4 %). Para condições de campo, esses valores são considerados normais, em função da micorrização estar ligada ao grau de micotrofismo e das condições edafoclimáticas. No entanto, podem ser considerados baixos em manejo onde se busca evidenciar a melhor resposta fungo-hospedeiro perante o desenvolvimento vegetativo e, posterior, produção.

Nesse sentido, no campo, pode-se dizer que houve efeito das diferentes cultivares na estimulação de formação de propágulos na rizosfera, com variações de resposta (Quadro 1 a 4). Pode-se dizer que a cultivar Clímax pouco estimulou a formação dos propágulos e foi aquela que revelou menor valor de intensidade de colonização, apesar de ausência de diferença significativa para essa variável (Quadro 4).

As cultivares Misty e O'neal pertencem ao grupo Southern highbush. Segundo Galleta e Ballington (1996), é o grupo que menos se adequa às condições edafoclimáticas do Brasil, devido às suas características genéticas ligadas à necessidade de muitas horas de frio. O fato dessas cultivares (Misty e O'neal) estimularem maior formação de propágulos de FMAs pode estar relacionado à necessidade desses hospedeiros estabelecerem uma rizosfera suficientemente propícia para a formação de micorriza e, por conseguinte, atuar ou favorecer a sua adaptação às condições desfavoráveis no Brasil. Tal fato também pode estar associado a alguma particularidade não identificada da cultivar, mesmo que nenhum estudo tenha comprovado tal

comportamento.

Das pertencentes ao grupo Rabbiteye, a cultivar Delite foi a que se destacou em propágulos formados (MET) e intensidade de colonização radicular, conforme já comentado, possivelmente, como reflexo de sua maior tolerância a variações edafoclimáticas e adaptação às condições da área estudada (GALLETA; BALLINGTON, 1996).

Das 18 amostras da rizosfera coletadas, no total foram extraídos 1653 esporos e identificados 8 morfotipos de FMAs, distribuídos em 3 gêneros: *Scutellospora*, *Glomus* e *Gigaspora*, sendo possível identificar 3 espécies, *Scutellospora heterogama*, *Glomus* sp. e *Gigaspora rosea* (Figura 28 e 29).



Figura 28: Detalhe do esporo da espécie *Gigaspora rosea*



Figura 29: Detalhe dos esporos da espécie *Scutellospora heterogama*

Nas condições de campo, a identificação de espécies de FMAs se torna muito difícil em decorrência da grande influência dos fatores bióticos e abióticos e do manejo adotado, que podem comprometer as características necessárias para a identificação da espécie. Assim, tornar-se-ia necessário multiplicar esses esporos em vasos com plantas-iscas, de forma a obter esporos jovens e com boas características de identificação (STURMER; SIQUEIRA, 2006). Em condições de campo, a maioria dos esporos se encontra parasitado ou com a estrutura comprometida, o que dificulta sua identificação devido às alterações nas principais características que permitem reconhecer a sua espécie (MORTON, 1993). Em culturas armadilhas, o resultado é muito diferente do observado em campo. Quando a diversidade de esporos é elevada e todas as espécies buscam a associação, a colonização é baixa. A maioria dos fungos indígenas esporula após dois ou três ciclos de propagação sucessivos, cerca de 4 meses, mas quando há muita competição, apenas a espécie dominante vai alcançar esses valores. As culturas armadilhas se mostram mais eficientes para a propagação de esporos quando as plantas apresentam micorriza, mas o número de esporos é baixo ou quando a competição é alta,

ou quando o solo fértil (INVAM, 2013).

A frequência relativa das espécies de FMAs na rizosfera das cultivares é apresentada na figura 30. A espécie mais comumente observada foi *Scutellospora heterogama*, estando presente em 52 a 75 % das amostras rizosféricas, seguido da espécie *Gigaspora rosea*, de 16 a 39 %, e de *Glomus sp.* de 14 a 20 %.

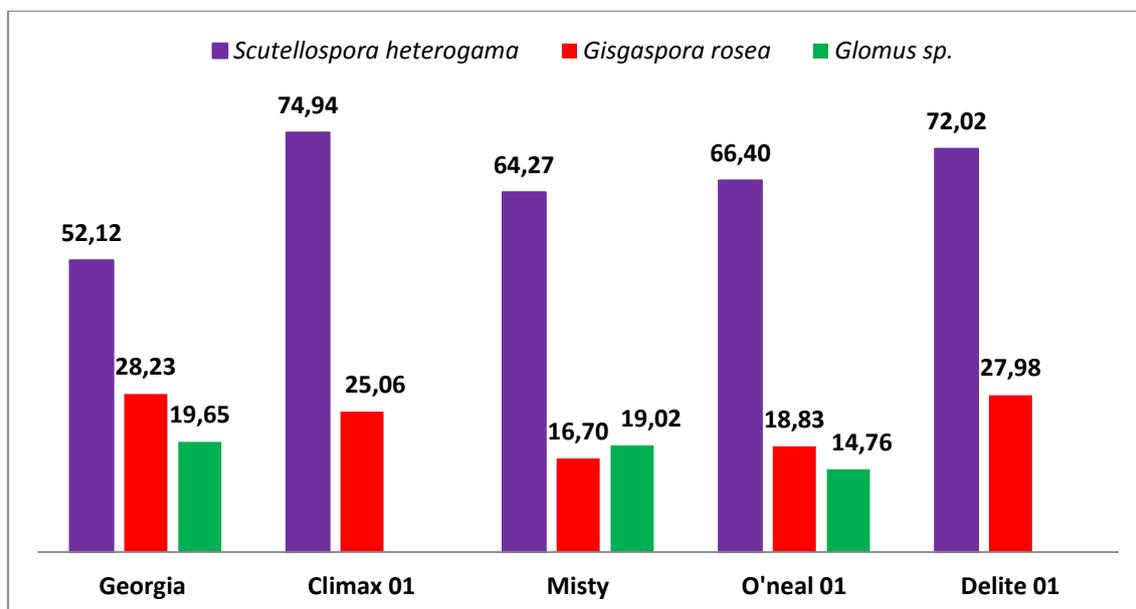


Figura 30 - Frequência relativa (%) das espécies de fungos micorrízicos arbusculares na rizosfera das diferentes cultivares

A maior frequência de algumas espécies de FMAs pode ocorrer pelos altos níveis de esporulação e, portanto, pela melhor adaptação às condições edafoclimáticas proporcionadas pelo mirtilo, solo e ambiente (FARIAS, 2012). A ocorrência da espécie *Glomus sp.* está condicionada à alcalinidade do solo, sendo sua faixa de pH ideal de 6,0 a 8,0. Os esporos desse gênero formam-se intercalados ou no fim de uma hifa fértil cilíndrica ou alongada (NICOLSON; SCHENCK, 1979). Já os esporos de *Scutellospora heterogama* se desenvolvem, principalmente, nas células do bulbo formadas ao final de um hifa fértil ligada à raiz. Sua ocorrência é maior em solos ácidos, com pH entre 4,0 e 6,0 (KORSKE; WALKER, 1985). A região de estudo do presente trabalho está sob Argissolo Vermelho Amarelo e possui pH entre 5,5 e 6,0 (VIEIRA et al., 2011), fator que beneficia a ocorrência do gênero *Scutellospora*. O gênero *Gigaspora* apresenta características adaptativas e reprodutivas semelhantes às do gênero *Scutellospora*, mas difere em cor e tamanho, já que apresenta coloração amarela brilhante e maiores tamanhos (GEDERMANN; NICOLSON, 1963).

As espécies encontradas são comuns em solos tropicais, sendo frequente sua identificação em solos brasileiros (MIRANDA; MIRANDA, 1997). As espécies *Scutellopora heterogama* e *Gigaspora rosea* estavam presentes na rizosfera de todas as cultivares, enquanto a espécie *Glomus* sp. foi menos frequente. Segundo Melloni et al. (2003), tal fato pode ser explicado pelas especificidades do habitat ou pelas características genéticas da cultivar. Resultados semelhantes foram obtidos por Vieira et al. (2011), ao estudarem o comportamento dos FMAs em cultivares de oliveira em outra área da FEMF-EPAMIG.

5.2. Etapa 02

Os valores médios relativos às variáveis-resposta do enraizamento de estacas de mirtilo inoculado com diferentes espécies de FMAs, sob condições controladas, encontram-se no quadro 5.

Quadro 5 - Variáveis de enraizamento de estacas de mirtilo submetidas ao tratamento hormonal (AIB) e fungos micorrízicos arbusculares

Tratamentos	Média do comprimento das raízes por tratamento (cm)	Média de número de calos formados por tratamento	Média de plantas enraizadas (%) por tratamento
AIB	2,47 a	1,99 a	72
Controle	2,21 a	1,42 a	52
<i>Glomus clarum</i>	3,85 a	1,89 a	72
<i>Gigaspora rosea</i>	2,25 a	1,89 a	64
<i>Glomus etunicatum</i>	1,83 a	1,69 a	48
<i>Scutellopora heterogama</i>	3,08 a	1,99 a	60
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	2,09 a	1,74 a	64
IV%	37,63	24,24	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5 % de probabilidade. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos para comprimento das raízes e formação de calos. O tempo experimental foi de 90 dias, definido e recomendado por Antunes et al. (2008) para que ocorresse o enraizamento de estacas de mirtilo (figura 31, 32 e 33). No entanto, observou-se baixa formação de calos e enraizamento, possivelmente em virtude da época ou do tipo de estaca utilizadas na condução experimental (HOFFMAN, et al., 1995), ou ainda, das características genéticas da espécie, já que nem o tratamento hormonal promoveu o enraizamento (SOUZA, 2000; SOUZA et al., 2000).

Segundo Souza (2000), a utilização do hormônio AIB é importante para a planta durante o desenvolvimento inicial da raiz, se tornando menos efetivo para o crescimento radicular. Paralelamente, os FMAs ampliam a absorção dos nutrientes pelas raízes já formadas. Assim, algumas espécies de plantas necessitam da interação entre esses tratamentos para que se obtenha resultados positivos, como os observados em murici (COSTA, 2013), pêssego (NUNES, et al., 2010) e citrange (SOUZA, 2000; SOUZA et al., 2000).

Segundo Hoffmann et al. (1995), o melhor enraizamento de mirtilo é obtido quando os ramos são coletados logo após seu primeiro fluxo de crescimento na primavera, mas a época de coleta também pode ser afetada pela fenologia, grau de lignificação e equilíbrio hormonal. Os ramos devem apresentar alta atividade fisiológica na região de câmbio e com muitas folhas jovens, as quais são grandes produtoras de auxinas, carboidratos e cofatores de enraizamento. A coleta não deve ser feita no período de diferenciação das gemas florais ou durante o período de dormência, onde as células do câmbio estão em baixa atividade. Para garantir o enraizamento, as estacas devem ser semilenhosas, mas quando coletadas durante o inverno, as estacas geralmente são lenhosas e seu enraizamento é baixo, mesmo sendo o método mais utilizado comercialmente, por aproveitar as sobras das podas de inverno. Em contrapartida, Antunes et al. (2008) defende que as estacas promoverão maiores taxas de enraizamento, quando coletadas a partir das podas de inverno, método que utilizado no presente trabalho. Sendo assim, as taxas de enraizamento irão variar de acordo com a época de coleta das estacas e das características climáticas do local em que se desenvolverá a cultura, uma vez que, Hoffman et al. (1995) e Antunes et al. (2008) desenvolveram suas pesquisas em áreas diferentes.

Quando propagado por estacas, o mirtilo apresenta taxas de enraizamento de 60 a 80 %, dependendo da cultivar. As estacas devem ter de 6 a 7 mm, sendo as menores de maior enraizamento, apesar de crescimento lento (HOFFMANN, et al., 1995). Dessa forma, entre os tratamentos com fungos micorrízicos, as espécies *Glomus clarum* e *S. heterogama* apresentaram maior tendência a efeitos positivos no enraizamento de estacas de mirtilo, com 72 e 80 % de enraizamento de estacas, em relação ao AIB (52 %) e controle (40 %).

A espécie *Glomus clarum* é capaz de colonizar um grande número de espécies, estabelece-se no solo com maior facilidade, sendo altamente recomendada sua utilização em áreas degradadas e reflorestamento (POUYU-ROJAS; SIQUEIRA;

SANTOS, 2006). Segundo Pessoa et al. (1997), o fungo *Glomus clarum* também se mostra eficiente quando associado a fungos nativos ou quando o habitat for alterado por adubação e calagem. A utilização do fungo *Glomus clarum* tem sido utilizada no enraizamento das mais variadas plantas (CALDEIRA et al., 1999; FREITAS et al., 2004; POUYU-ROJAS et al., 2006; CARNEIRO et al., 2007). Conforme já discutido, na etapa 01, em condições de campo, o gênero *Glomus* foi o menos frequente em relação aos demais observados (Figura 30).

A espécie *Scutellospora heterogama*, a mais frequente na área de campo do presente estudo (Figura 30) promoveu maiores rendimentos de matérias secas, absorção de fósforo e nitrogênio quando associada a braquiárias (COSTA, 2005). Essa espécie, quando inoculada diretamente na planta, apresenta maior capacidade de multiplicação em comparação a fungos nativos e mais resistentes a patógenos, quando já estabelecidas em associação micorrízica (ANJOS et al., 2010). Quando associado ao abacateiro, *Scutellospora heterogama* promoveu maior desenvolvimento vegetativo, desde a formação da muda até o seu transplante para o campo (SILVEIRA, 2002).

No entanto, sugere-se que novos estudos sejam realizados com este propósito, aumentando-se o número de repetições por tratamento ou o número de estacas por parcela, já que o mirtilo apresenta baixa resposta de enraizamento também ao tratamento hormonal com AIB (Quadro 5).

6- CONCLUSÕES

- Em condições de campo encontradas na FEMF-EPAMIG, as cultivares de mirtilo estudadas promoveram alteração nos propágulos de fungos micorrízicos arbusculares em suas rizosferas, principalmente na densidade e diversidade de esporos e micélio extrarradicular total, com maior frequência da espécie *Scutellospora heterogama*.
- Nas condições em que foram conduzidos os experimentos, as cultivares Delite, O'neal, Misty, Georgia e Climax, apresentaram baixa formação de micorriza.
- Estacas da cultivar Blue Belle, nas condições experimentais utilizadas, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares, nem ao tratamento hormonal AIB.

REFERÊNCIAS

ANGELINE, G.A.R.; LOSS, A.; PEREIRA, M.G.; TORRES, J.L.R.; SAGGIN JR., O.J. Colonização micorrízica, densidade de fungos micorrízicos arbusculares em solo de cerrado sob plantio direto e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n. 01, p. 115-130, jan.-mar., 2012.

ANJOS, E.C.T.; CAVALCANTE, U.M.T.; GONÇALVES, D.M.C.; PEDROSA, E.M.R.; SANTOS, V.F.; MAIA, L.C. Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus (*Scutellospora heterogama*) and the root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.35, n.4, 2010.

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. Cultivo de mirtilo (*Vaccinium* spp). **Embrapa**. Pelotas – RS, 2006.

ANTUNES, L. E. C.; PAGOT, E.; PEREIRA, J. F. M.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E. D. Aspectos técnicos da cultura do mirtilheiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 33, n. 268, maio-jun., p.38. 2012.

ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; RISTOW, N.C.; CARPENEDO, S.; TREVISAN, R. Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 1011-1015, ago. 2008.

AZCON-BIETO, J.; TALÓN, M. Fundamentos de fisiologia celular. **Barcelona, Ediciones Universitarias**. Cap. 15, p. 522, 2000.

ANDREOLA, F.; FERNANDES, S.A.P. A Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas. In: SILVEIRA A.P.D.; FREITAS, S.S., **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Editora IAC, 2007, 317 p.

BANK, G.; SCHAUSS, A. Teste de antioxidantes: as últimas novidades sobre o ORAC. **Nutraceuticals World**, v.7, n. 3, p. 68-71, mar. 2004.

BERBARA R.L.L.; SOUZA, F.A.; FONSECA, H.M.A.C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M.S. **Nutrição mineral das plantas**. Viçosa: SBCS, 2006. 435 p.

CALDEIRA, M.V.W.; SILVA, E.M.R.; FRANCO, A.A.; ZANON, M.L.B. Comportamento de mudas leguminosas arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.9, n. 1, p. 135-142, 1999.

CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, S.S. A rizosfera. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. Cap.4, p.36-57.

CABALERRO, A.J.S. **Influencia del tamaño de estaca, auxinas, hongos micorrizogenos y substrato en la propagacion de arándano (*Vaccinium* sp.) var. Biloxi**, 88 p. Universidade Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, dez. 2009.

CAMARGO, S. S.; PELIZZA, T. R.; SOUZA, A. L. K.; AFFONSO, L. B.; SCHUCH, M. W. Agentes biológicos inseridos durante etapa de aclimatização de plantas micropropagadas de mirtilheiro bluebelle. In: XII ENPOS, II MOSTRA CIENTÍFICA, 2010, Pelotas, **Anais...** Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/ca.htm>>. Acesso em: 01 nov. 2013.

CARDOSO, E.J.B.N. Efeito de micorriza versículo arbusculares e fosfato na simbiose soja-*Rhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.10, p.17-23, 1986.

CARNEIRO, R.F.V.; MARTINS, M.A.; FREITAS, M.S.M.; DETMANN, E.; VÁSQUEZ, H.M. Inoculação micorrízica arbusculares e doses de fosforo na produção do capim-andropogon, em substrato não estéril. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 2, p.212-218, jul-set, 2007.

CASTRILLÓN, J.C.; CARVAJAL, E.; LIGARRETO, G.; MAGNITISKIY, S. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes substratos. **Agronomia Colombiana**, Colômbia, v. 26, n. 1, p. 16-22, 2008.

COLETTI, R. **Fenologia, produção e superação da dormência do mirtilo em ambiente protegido**. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo – Faculdade de agronomia e medicina veterinária. 2009.

COSTA, N.L. Tecnologias agropecuárias para Rondônia – Fertilidade do solo. **Embrapa**, 2005.

COSTA, R.Q.; BARBOSA, G.M.; COCOZZA, F.M.; REIS, T.C.; NASCIMENTO, R.S.M. Desenvolvimento de estacas caulinares de *Byrsonima verbascifolia* tratadas com ácido indulbúlico. **Enciclopédia Biosfera**, Goiania, v.9, n.16, p.689-696, 2013.

DAMIANI, C.R.; SCHUCH, M.W.; Enraizamento *in vitro* de mirtilo em condições fotoautotróficas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.1012-1017, jul, 2009.

DANTAS, J.S.; SOUZA, A.P.; FARIAS, M.F.; NOGUEIRA, V.F.B. Interações entre grupos de microrganismos com a rizosfera. **Pesquisa aplicada e tecnologia**, Paraná, v.2, n.2, maio-ago. 2009.

FARIAS, D.H. **Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em pomares em crescimento ou mudas micropropagadas de mirtilo**. 74 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas. 2012.

FREITAS, M.S.M.; MARTINS, M.A.; VIEIRA, I.J.C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 887-894, 2004.

GALLETTA, G.J.; BALLINGTON, J.R. Blueberry, cranberries, and lingonberries In: JANICK, J.; MOORE, J.N. (Ed.). **Fruit Breeding**. New York: John Wiley & Sons, p.1-108, 1996.

INVAM - International Culture Collection of (Vesicular) Mycorrhizal Fungi. Methods - **Trap cultures**. Morgantown: West Virginia Agriculture and Forestry Experimental Station, 2013. Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/methods/cultures/trap-culture>>. Acesso em: 17 jan. 2014.

KORSKE, R.E.; WALKER, C. Species of Gigaspora (Endogenaceae) with roughened outer walls. **Mycologia**, EUA, v.77. n.1, p.702-720, 1985.

GEDERMANN, J. W.; NICOLSON, T. H.; Spores mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decant. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.46, n. 02, p. 235-244, jun. 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B.; An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Oxford, v. 84, n.03, p.489-500, mar. 1980.

HERRERA, C. Efecto de la micorrización en plantas de vivero de palto y cítricos bajo diferentes dosis de fertilización. Taller de Licenciatura. **Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía**, Quillota, Chile, 64 p. 2003.

HOFFMANN, A; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. Enraizamento de estacas de duas cultivares ashei Reade em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.01, n. 01, p. 07-11, jan-abr. 1995.

MEHROTRA, V. S. Arbuscular mycorrhizal associations of plants colonizing coal mine spoil in India. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, Inglaterra, v. 130, n. 2, p. 125-133, Mar. 1998.

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**, Campinas, v.23, p. 59-67, 1999.

MELLONI, R.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 267-276, fev, 2003.

MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N. Contribuição da micorriza para produtividade e sustentabilidade nos sistemas de produção com plantio direto no cerrado. **Comunicado Técnico**, Embrapa Cerrado, Planaltina, p.134, 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006.

MORTON, J.B. Problems and solutions for the integration of glomaleon taxonomy, systematic biology and the study of endomycorrhizal phenomena. **Mycorrhiza**, v.2, p.97-109, 1993.

MUÑOZ, C. Arándano: Antecedentes generales. Instituto de investigações agropecuarias Carrillanca. In: SEMINARIO: EL CULTIVO DEL ARÁNDANO. Temuco, 1998. **Anais...** El cultivo del arándano. Temuco, 1998, p. 5-16.

NICOLSON, T.H.; SCHENCK, N.C. *Glomus clarum*. **Mycologia**, EUA, v.77, n.1, p.182,1979.

NUNES, J.L.S.; SOUZA, P.V.D.; MARODIN, G.A.B.; FACHINELLO, J.C. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e ácido indolbutílico sobre desenvolvimento vegetativo de plântulas do porta-enxerto de Pessegueiro “Aldrighi”. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.34, n. 1, p. 80-86, jan-fev, 2010.

RAMIREZ, M.R.; IZQUIERDO I.; RASEIRA, M.do C.B.; ZUANAZZI, J.A.; BARROS, D.; HENRIQUES, A.T. Effect of lyophilised vaccinium Berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. **Pharmacological Research**. Amsterdam, v. 52 , p. 457-462. 2005.

PESSOA, A.C.S; ANTONIOLLI, Z.I.; DELLA-JUSTINA, M.E.; FIGUEIREDO, L.G.B. Fungos micorrízicos nativos e *Glomus clarum* no rendimento de trevo vesiculoso cultivado em condições naturais e modificadas pela calagem e aplicação de fósforo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.01, jan-mar, 1997.

POUYU-ROJAS, E; SIQUEIRA, J.O.; SANTOS, J.G.D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, maio-jun, 2006.

RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C. A cultura do mirtilo. Pelotas- RS: **Embrapa**, 2004.

RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C.; VIZZOTO, M. Mirtilo (ou blueberry): a fruta da longevidade. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, n. 669, p. 18-22, dez. 2008.

RISTOW, N.C.; ANTUNES, L.E.C.; SCHUCH, M.W.; TREVISAN, R.; CARPENEDO. S. Crescimento de plantas de mirtilo a partir de mudas micropropagadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 210-215, 2009.

SERRADO, F.; PEREIRA, M.; FREITAS, S.MARTINS, S.; DIAS, T. **Mirtilo: guia de boas práticas para produção, promoção e comercialização**. ADRIMAG. Portugal. Jun. 2008, 80 p.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. World Congress on Computers in Agriculture, 7. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**. Reno-NV-USA. 2009.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, p.393-396. 2006.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n.1, p71-78, 2002.

SILVA, F. de A. S. e. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun. **Anais...** Cancun: American Society of Agricultural Engineers, p.294-298.1996.

SILVEIRA, S.V.; SOUZA, P.V.D.; KOLLER, O.C. Influencia de fungos micorrízicos arbusculares sobre desenvolvimento vegetativo de porta-enxerto de abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, p.303-309, mar, 2002.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Urbana: University of Illinois, 1949.

STAMETS, PAUL. The mycelium as the internet of nature. In: STAMETS, PAUL. **Mycelium running: how mushrooms can help save the world**, E.U.A: Ten speed press, 2005. Cap. 01. 339 p.

SOUZA, P.V.D. Interação entre micorrizas arbusculares e ácido giberélico no desenvolvimento vegetativo de plantas de Citrange Carrizo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n.5, p.783-787, 2000.

SOUZA, P.V.D.; AUGUST, M.; ABAD, M.; ALMELA, V. Desenvolvimento vegetativa e morfologia radicular de Citrange Carrizo afetado por ácido indubulítico e micorriza arbusculares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n. 2, p.249-255, 2000.

STARAST, M; KOLJALG, U.; KARP, K.; VOOL, E.; NOORMETS, M.; PAAL, T. Mycorrhizal colonization of half high blueberry cultivars influenced by cultural practices. **Acta Horticulturae**, Sevilla, v.715, p. 449-454, 2006.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Brazilian Ecosystems. In: MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Eds.) **Soil Biodiversity in Amazonian and Other Brazilian Ecosystems**. CABI Publishing, London, p. 206-236, 2006.

VEGARA, M. F. B. **Efecto de la aplicación de cianamida hidrogenada sobre el periodo de floración y cosecha de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad O'neal**. Taller de Licenciatura - Pontifica Universidad Católica de Valparaíso, Quillota, Chile, 2008.

VIEIRA, V.CS.; MELLONI, R.; NETO, J.V. Avaliação da interação micorrízica em cultivares de Oliveira (*Olea europea* L). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.35, n. 6, p. 1885-1892, nov-dez, 2011.