

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

**Gustavo Magno dos Reis Ferreira**

**Fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de oliveira**  
**(*Olea europaea* L.) cultivadas no sul de Minas Gerais**

Itajubá (MG)

2014

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

**Gustavo Magno dos Reis Ferreira**

**Fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de oliveira**  
**(*Olea europaea* L.) cultivadas no sul de Minas Gerais**

Dissertação submetida ao programa de Pós Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Itajubá.

Área de concentração: Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Orientador: Prof. Dr. Rogério Melloni

Itajubá (MG)

2014

## FICHA CATALOGRÁFICA

As informações são fornecidas pela Biblioteca Mauá - BIM

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

**Gustavo Magno dos Reis Ferreira**

**Fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de oliveira**  
**(*Olea europaea* L.) cultivadas no sul de Minas Gerais**

Dissertação aprovada por banca examinadora em 13 de fevereiro de 2014, conferindo ao autor o título de **Mestre em Ciências do Meio Ambiente e Recursos Hídricos**.

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Rogério Melloni (Orientador)

Prof. Dra. Fabrina Bolzan Martins

Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira (Membro externo)

Itajubá (MG)

2014

OFEREÇO:

*À minha mãe, presente na minha memória todos os dias.*

DEDICO:

*Aos meus pais Carlos Magno e Maria Goreti;*

*A minha esposa Suemis;*

*Ao meu cachorro Iron;*

*Aos meus amigos.*

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão da Bolsa de Mestrado.

Ao professor e amigo Dr. Rogério Melloni, pela orientação no trabalho.

Aos membros da banca de dissertação, Profa. Fabrina Bolzan Martins e Prof. Marco Antônio Nogueira, pelas contribuições.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pela parceria, em especial, ao pesquisador Luiz Fernando, pela contribuição na instalação dos experimentos.

À minha esposa, Suemis, pela sua paciência.

Aos meus pais, por sempre me apoiarem e acreditarem nas minhas escolhas.

Ao meu avô, João dos Reis (*in memoriam*), por me apresentar à ciência.

A Deus, por iluminar meus pensamentos.

*O conhecimento nos faz responsáveis (Ernesto Che Guevara)*

## RESUMO

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta de clima temperado, necessitando de baixas temperaturas no período que antecede a floração para ocorrência de produções satisfatórias. Embora as condições de temperatura e de incidência de chuvas observadas em microrregiões de Minas Gerais não apresentem as características do clima mediterrâneo, a região sul do estado de Minas Gerais é considerada apropriada ao cultivo desta planta. A produção de mudas de boa qualidade é fundamental na implantação do pomar e a associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode ser de fundamental importância nesse sentido. No Brasil, não há estudos relacionados à utilização de FMAs no enraizamento de estacas e produção de mudas de oliveira. Atualmente, tal processo é feito utilizando ácido indolbutírico comercial. O objetivo do presente estudo é avaliar o efeito da utilização de diferentes espécies de FMAs (*Scutellospora heterogama*, *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea*, *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus etunicatum*), combinadas, ou não, com AIB, no enraizamento de estacas e produção de mudas de cultivares de oliveira com potencial de cultivo na região (Arbequina, Grappolo (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE)). Para isso, foram conduzidos quatro experimentos na Fazenda Experimental da EPAMIG, em Maria da Fé: avaliação do potencial de enraizamento de estacas inoculadas com FMAs, em duas épocas (julho e maio); avaliação do potencial de enraizamento de estacas de cultivares inoculadas com FMAs e com doses crescentes de AIB; e desenvolvimento de mudas já enraizadas de oliveiras inoculadas com FMAs. O enraizamento das estacas de oliveira das cultivares não respondeu à inoculação dos FMAs e nem ao tratamento hormonal AIB, nas duas épocas estudadas. Apesar do baixo enraizamento, na cultivar Arbequina pode-se observar efeito positivo do fungo *G. rosea* na dose 1 g L<sup>-1</sup> de AIB, cujas estacas inoculadas proporcionaram maior formação de calos. Os FMAs estudados apresentaram maior incremento na massa seca da parte aérea e na massa seca da raiz, quando comparado ao tratamento sem fungo, principalmente de mudas das cultivares Arbequina e Grappolo (MGS GRAP 541). A cultivar Maria da Fé (MGS MARIENSE) apresentou baixa dependência micorrízica e menor produção de massa seca da parte aérea, comparada às outras cultivares.

**Palavras-chave:** Ácido Indolbutírico. Micorriza. Potencial rizogênico.

## ABSTRACT

The olive tree (*Olea europaea* L.) is a plant of temperate climate, requiring low temperatures for the period before flowering for satisfactory productions. Although the conditions of temperature and rainfall observed at the microregions of Minas Gerais not showed the same characteristics of the Mediterranean climate, the southern state of Minas Gerais is considered suitable for its cultivation. The production of good quality planting material is essential for the orchard implementation and so, the association with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can be very important. In Brazil, there are no studies related of AMF on rooting of cuttings and olive tree production. Currently, this process is done using commercial indolebutyric acid (IBA). The objective of this study is evaluate the effect of different AMF species (*Scutellospora heterogama*, *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea*, *Acaulospora scrobiculata* and *Glomus etunicatum*), combined or not with IBA on the rooting of cuttings and production of olive cultivars seedlings with potential for cultivation in that microregion (Arbequina, Grappolo (MGS GRAP541) and Maria da Fé (MGS Mariense)). For this, four experiments were conducted at the Experimental Farm of EPAMIG in Maria da Fé: evaluation of the rooting potential of olive cuttings inoculated with AMF, in two seasons (July and May); evaluation of rooting potential of olive cultivars inoculated with AMF and with increasing doses of IBA, and development of seedlings already rooted of olive trees inoculated with AMF. The rooting of olive cultivars was not affected by AMF or IBA in the two seasons. Despite the low rooting, Arbequina showed a positive effect of the fungus *G. rosea* inoculation at 1 g L<sup>-1</sup> IBA, with higher number and length of root and callus formation. AMF studied showed greater increase in dry weight of shoot and root dry weight, when compared to treatment without fungus, primarily in the olive seedlings cultivars Arbequina and Grappolo ( MGS GRAP 541 ). The cultivar Maria da Fé (MSG MARIENSE) presented low mycorrhizal dependency and lower production of dry weight of shoots, compared to the other cultivars.

**Keywords :** IBA. Mycorrhiza. Rhizogenic potential.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema das fases e experimentos instalados. ....	26
Figura 2 – Unidades experimentais do experimento 1 - enraizamento de estacas de oliveira, em julho de 2012. ....	29
Figura 3 - Unidades experimentais do experimento 2 - enraizamento de estacas de oliveira, em maio de 2013. ....	30
Figura 4 – Unidades experimentais do experimento 3 - enraizamento de estacas de oliveira inoculadas e com doses combinadas de AIB.....	31
Figura 5 – Detalhe da unidade experimental do experimento 4 - vaso de 5 L com duas mudas e oliveira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares ao centro.....	32
Figura 6 - A. Separação das raízes para coloração; B. Amostras de raízes no KOH; C. Amostras de raízes com azul de tripano; D. Amostras de raízes para determinação da intensidade de colonização micorrízica; E. Amostras de raízes em placa quadriculada para porcentagem de colonização micorrízica. ....	34
Figura 7 - A. Separação da amostra de solo para análise (50 g); B. Lavagem da amostra de solo para o peneiramento; C. Resultado do peneiramento a ser transferido para o tubo da centrífuga; D. Centrífuga com o retido do peneiramento.....	35
Figura 8 - A. Peneiras para metodologia de extração de micélio; B. Homogenização da suspensão de amostra de solo, em liquidificador; C. Retirada de alíquota de 500 mL; D. Alíquota de 11 mL após amostra peneirada contendo micélio em suspensão; E. Sistema de filtração a vácuo; F. Membrana quadriculada de triacetato de celulose após filtragem.....	36
Figura 9 – A. Vesículas de FMAs (índice de colonização). B. Hifas e vesículas. C. Hifas e Esporos de FMAs (porcentagem de colonização). Observações de estruturas fúngicas no aumento de 40x.....	46
Figura 10 – Escala de notas de intensidade de colonização radicular por FMAs, aumento de 40x. ....	47
Figura 11 - Crescimento de cultivares de oliveira quando inoculadas com os fungos: A. <i>scrobiculata</i> (A); <i>G. clarum</i> (B); <i>G. rosea</i> (C); Controle sem fungo (D). ....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características básicas das cultivares de oliveira utilizadas no presente estudo. ...	27
Tabela 2 - Características gerais dos esporos das espécies de FMAs utilizadas. ....	28
Tabela 3 - Valores médios por unidade experimental para número médio de raiz (NR), comprimento de raiz, em cm (CR), porcentagem de estacas enraizadas para o tratamento com as cultivares, e número de estacas com calos (NC). IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.....	37
Tabela 4 - Valores médios por unidade experimental para número médio de raiz (NR), comprimento de raiz, em cm (CR), porcentagem de estacas enraizadas para o tratamento com as cultivares, e número de estacas com calos (NC). IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.....	37
Tabela 5 – Número de estacas calejadas no desdobramento para os FMAs para a interação entre os tratamentos com os FMAs, cultivares e doses de AIB .....	40
Tabela 6 - Número de estacas calejadas no desdobramento das doses de AIB para a interação entre os tratamentos com os FMAs, cultivares e doses de AIB .....	41
Tabela 7 – Número de raízes para a interação entre cultivares e os FMAs.....	42
Tabela 9 - Comparação de média para as variáveis massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), índice de colonização radicular (ICR), porcentagem de colonização radicular (PCR) e micélio extraradicular total (MET) entre as cultivares de oliveira.....	43
Tabela 10 - Número total de esporos (no 50 mL <sup>-1</sup> ), nas cultivares de oliveira Arbequina, Grappolo541 (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MSG MARIENSE) .....	44
Tabela 11 - Porcentagem de dependência micorrízica (DM), nas cultivares Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MSG MARIENSE) .....	45
Tabela 12 - Análise de Variância para o número de raiz.....	50
Tabela 13 - Análise de variância para comprimento das raízes.....	50
Tabela 14 - Análise de variância para número de calos .....	50
Tabela 15 - Análise de variância para porcentagem de estacas enraizadas.....	50
Tabela 16 – Análise de variância para número de raízes na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB .....	50
Tabela 17 - Análise de variância para comprimento de raízes na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB .....	51

Tabela 18 - Análise de variância para número de calos na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB.....	51
Tabela 19 - Análise de variância massa seca da parte aérea .....	51
Tabela 20 - Análise de variância da massa seca da raiz .....	51
Tabela 21 - Análise de variância do número total de esporos. ....	52
Tabela 22 - Análise de variância porcentagem de colonização.....	52
Tabela 23 - Análise de variância intensidade de colonização. ....	52
Tabela 24 - Análise de variância para comprimento de micélio extrarradicular.....	52

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AIB – Ácido Indol Butírico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

EPAMIG – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais.

FEMF – Fazenda Experimental de Maria da Fé

FMA – Fungo Micorrízico Arbuscular

INVAM – International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mychorrhizal Fungi

MAPA – Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.2	Objetivos Específicos.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1	Olivicultura.....	18
3.2	Fungos micorrízicos arbusculares.....	21
3.2.1	Fungos micorrízicos arbusculares em oliveiras.....	22
3.2.2	Fungos micorrizicos arbusculares na produção de hormônios.....	24
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Enraizamento de microestacas de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação.....	27
4.1.1	Experimento 1.....	27
4.1.2	Experimento 2.....	29
4.2	Enraizamento de estacas de oliveira, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e acrescidas de doses de ácido indolbutírico.....	30
4.3	Crescimento de mudas de diferentes cultivares de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação.....	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1	Experimento de enraizamento de microestacas de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação.....	37
5.1.1	Experimento 1.....	37
5.1.2	Experimento 2.....	39
5.2	Experimento 3 - Enraizamento de estacas de oliveira, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e acrescidas de doses de ácido indolbutírico.....	39
5.3	Experimento 4 – Crescimento e desenvolvimento de mudas de oliveira.....	42
6	CONCLUSÕES.....	49
7	ANEXO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	53

# 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, há um grande mercado para o consumo de azeite e azeitona, movimentando cerca de 380 milhões de dólares na importação de 73 mil toneladas de azeite no ano de 2013, segundo dados do Ministério da Agricultura e Pecuária (CONAB, 2013). A importação desses produtos se deve ao fato de o território brasileiro não se destacar como produtor de oliveiras e não apresentar plantações comerciais para suprir a demanda. As regiões altas da Serra da Mantiqueira se mostram eficientes na produção e cultivo das oliveiras, mesmo não apresentando as mesmas condições climáticas dos países do mediterrâneo. Contudo, as condições apresentadas nessa região são suficientes para a diferenciação da gema florística das plantas, proporcionando, assim, uma produção eficiente de azeitona nessas localidades (SILVA et al., 2012).

A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), por meio da Fazenda Experimental de Maria da Fé (FEMF), vem pesquisando a produção de oliveiras, tornando-se uma importante referência nacional, abrangendo estudos sobre o comportamento das cultivares e desenvolvimento das plantas, desde o enraizamento até a produção do fruto.

Atualmente, as atividades de pesquisa e difusão de tecnologias relacionadas à olivicultura em território mineiro tem se concentrado na região da Serra da Mantiqueira, no sul do estado de Minas Gerais e no Rio Grande do Sul (SILVA et al., 2012). Isso se deve, em parte, à carência de eventos que proporcionem a transferência de informações além dessas fronteiras, uma vez que se trata de uma atividade ainda pouco conhecida pela população, em especial pelos agricultores.

A maioria dos estudos sobre oliveira no Brasil e no mundo tem sido direcionada à produção e manejo e poucos relacionados a microrganismos do solo (VIEIRA et al., 2011), limitando às informações sobre a implantação e, ou, manutenção da sustentabilidade da cultura.

No geral, existem poucos estudos relacionando os fungos micorrízicos arbusculares com as oliveiras (VIEIRA et al., 2011). Em alguns países como Espanha e Portugal, demonstram-se resultados significativos em questão de crescimento, absorção de nutrientes e uma maior sobrevivência após o transplante para o campo (CASTILLO et al., 2006; BINET et al., 2007; PORRAS - PIEDRA et al., 2005; SANTOS-ANTUNES, 2002).

No entanto, os primeiros estudos relacionados aos FMAs em culturas de oliveira no Brasil foram publicados em Vieira et al. (2011), os quais confirmaram a associação

micorrízica em diferentes cultivares cultivadas *in situ*. No entanto, são bem conhecidos os efeitos proporcionados pela simbiose com o hospedeiro, principalmente relacionadas à absorção de água e nutrientes, com destaque para fósforo, limitante nas condições de solos brasileiros, agregação do solo e proteção contra estresses físicos e químicos (MILLER; JASTROW, 1992). O manejo da cultura da oliveira, devido às suas características, envolve baixo revolvimento do solo e também baixo uso de mecanização, o que, aliado ao reduzido emprego de agrotóxico, podem garantir uma maior sustentabilidade ambiental (SILVEIRA; FREITAS, 2007)

Os resultados dessa pesquisa, especificamente do enraizamento de estacas e da produção de mudas de oliveira inoculadas com FMAs, visam colaborar para o crescimento e desenvolvimento regional, tendo a olivicultura como uma alternativa para pequenos agricultores e empresas agrícolas.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a influência de fungos micorrízicos arbusculares no enraizamento de estacas e desenvolvimento de cultivares de oliveira.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Comparar o efeito de FMAs com o do ácido indolbutírico (AIB), assim como o efeito combinado de ambos, no enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira.
- Analisar o efeito da inoculação de FMAs no desenvolvimento inicial de mudas de oliveira, em condições controladas.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A Fundamentação teórica está sendo apresentada em forma de itens, abordando dois principais temas: olivicultura e fungos micorrízicos arbusculares, os últimos compreendendo seus aspectos gerais e específicos para a referida cultura.

#### 3.1 Olivicultura

O Brasil ocupa o terceiro lugar como maior importador de azeitonas e o quinto em azeite de oliva, entre os países importadores do mundo (CONAB, 2012). O cultivo de oliveiras em áreas agrícolas de Minas Gerais e do Brasil é uma atividade econômica em expansão. Devido à inexistência de plantios comerciais (em produção) em território nacional, o Brasil importa cem por cento do azeite e da azeitona que consome. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (CONAB, 2013), em 2013 foram gastos 380 milhões de dólares com importações desses produtos, sendo 73 toneladas com azeite, havendo um aumento nessa importação, em comparação com o ano de 2012, onde foram importadas 63 toneladas de azeite (CONAB, 2012).

Para reverter o quadro de total dependência de importações, a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), por meio da Fazenda Experimental de Maria da Fé (FEMF), vem desenvolvendo pesquisas com a cultura de oliveira obtendo resultados promissores (SILVA et., 2012). Atualmente, em seu banco de germoplasma, há cerca de 60 genótipos de diferentes origens. Alguns, além de apresentarem produções regulares de frutos, o azeite é de excelente qualidade, sendo classificado como extra-virgem, segundo as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005). Trabalhos desenvolvidos pela EPAMIG permitiram a seleção de cultivares mais adaptadas às condições de solo e clima da região da Serra da Mantiqueira, com registro de 33 cultivares sendo 8 protegidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A oliveira (*Olea europaea* L.) pertence à família botânica *Oleaceae*, existindo cerca de 35 espécies do gênero *Olea*. São plantas de clima temperado, necessitando de baixas temperaturas no período que antecede a floração para ocorrência de produções satisfatórias. Temperaturas de inverno (médias) entre 8 e 10°C, não ultrapassando 21°C, altitudes variáveis (200-1.300 m) e regime de chuvas superior a 800 mm anuais são suficientes para produções

econômicas (NETO et al., 2008). Mesmo o Sul de Minas Gerais, não apresentando o clima característico do mediterrâneo, a ocorrência de baixas temperaturas no inverno, é eficiente para a diferenciação das gemas floríferas das oliveiras, obtendo, assim, uma produção satisfatória de azeitona. Nesse sentido, a FEMF-EPAMIG apresenta, em seu campo de pesquisa, o estudo do comportamento de diferentes cultivares e da obtenção de resultados promissores quanto ao florescimento, produções regulares de frutos, propagação vegetativa por estacas e exploração econômica do azeite e das plantas.

Foi introduzida no Brasil no início do século XIX, nas Regiões Sul e Sudeste. Ainda hoje, é uma espécie muito pouco cultivada, sendo que a maioria dos pomares existentes não é destinada à produção comercial ou industrial, na região da Serra da Mantiqueira, existem cerca de 300 mil oliveiras plantadas, sendo a cultivar Arbequina, responsável por cerca de 50% dessas plantações, seguidas das cultivares Grapoplo (MGS GRAP541), MGS Mariense e Karoneike, sendo todas utilizadas para a produção de azeite (SILVA et al., 2012). Atualmente, a oliveira tem despertado interesse por parte dos agricultores, empresários do agronegócio e da indústria alimentícia pelo grande potencial existente de agregação do valor.

Trata-se de uma espécie arbórea de tamanho médio e formato arredondado, cujo porte, densidade da copa, comprimento de entrenós e cor da madeira variam em função da cultivar e de condições de cultivo. Descrição detalhada das fases juvenil e adulta pode ser obtida em Rapoport (1998).

No entanto, o sistema radicular varia em função da origem da árvore, se originado de sementes ou de estacas e dos atributos do solo sobre o qual está sendo cultivada. A semente origina um sistema radicular caracterizado por uma raiz pivotante central (LOUSSERT; BROUSSE, 1980). Por outro lado, a partir de estacas forma-se, desde o início, um sistema radicular fasciculado. A maioria dessas raízes adventícias se comporta como raízes principais durante o desenvolvimento e crescimento da árvore (RAPOPORT, 1998). Essa densidade e configuração das raízes têm papel importante no estabelecimento e atividade de microrganismos, sendo conhecida como rizosfera ou região de forte influência aos mesmos (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

A produção de mudas de boa qualidade é fundamental na implantação do pomar e produção constante. Neste contexto, a utilização do método de propagação adequado para uma determinada espécie pode assegurar um maior rendimento, rápido crescimento na fase de viveiro e após o transplante no campo.

A propagação vegetativa mais utilizada para as oliveiras é a estaquia, mantendo, assim, características importantes como uniformidade, porte reduzido e precocidade da

produção dos descendentes, além de economia comparados a outros métodos (OLIVEIRA et al., 2008; NETO et al., 2008).

Segundo Oliveira et al. (2008), inicialmente, a formação das mudas era feita por meio de estacas lenhosas retiradas dos ramos mais velhos, de plantas adultas, com inconvenientes ligados ao fato da poda ser feita apenas uma vez ao ano, e a necessidade de muito material vegetativo. Posteriormente, foi feita por estacas semilenhosas, com tratamento hormonal para favorecer a emissão de raízes. Com a adaptação, esse método, adotado em muitos países, foi implantado e é o mais usado atualmente no Brasil. Tal sistema tem como principal vantagem a obtenção de maior número de mudas originadas da planta-mãe, garantindo melhor identificação e sanidade do material utilizado. Pode-se dizer que a propagação de oliveira consta de três fases distintas: enraizamento, aclimação e formação das mudas em viveiro. Na fase de enraizamento ocorre a emissão de raízes adventícias, com variabilidade percentual em função das cultivares, disponibilidade e tipo do material utilizado (RIO; CABALLERO, 2006).

Pio et al. (2005) demonstraram que a utilização do ácido indolbutírico (AIB) apresenta influência somente nas características pertinentes ao sistema radicular. Sendo utilizado na concentração de  $3000 \text{ mg L}^{-1}$ , mostra-se eficiente para as variáveis número e comprimento das raízes, fato esse evidenciado por outros autores (OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010). Apesar de variações em função das cultivares, a época do ano influencia diretamente no enraizamento, bem como no comprimento e número das raízes, sendo a estaquia, em abril, considerada mais eficiente do que em agosto, devido ao estado fenológico da planta (SILVA et al., 2012). Ainda é imprescindível a utilização do hormônio AIB no enraizamento de estacas, entretanto, quando utilizado em conjunto com um fertilizante orgânico rico em C, pode apresentar redução nos custos de produção da muda (OLIVEIRA et al., 2010a; 2010b). Wiesman e Leavee (1995) demonstraram que um incremento de sacarose no meio de enraizamento de estacas de oliveira pode melhorar o seu potencial rizogênico, uma vez que as estacas de oliveira apresentam dificuldades de enraizamento.

O potencial de expansão dessa atividade pode ser estimado pelo volume de importações de azeitonas e azeite de oliva observado nos últimos anos. Atualmente, para suprir o consumo interno com esses produtos, seriam necessários 20 mil hectares de oliveira, com aproximadamente 8,5 milhões de plantas (CONAB, 2012).

O sucesso dessa nova atividade depende, tanto da geração e difusão de tecnologias adequadas às condições de solo e clima das regiões de plantio, como também de políticas de

incentivo voltadas aos produtores de oliva, principalmente na fase inicial do empreendimento, dando suporte à estruturação da cadeia produtiva dessa *commodity*.

O uso da microbiologia na produção de mudas, especificamente de grupos funcionais importantes como fungos micorrízicos arbusculares, desde o enraizamento das estacas até a aceleração do crescimento das mudas, torna-se uma ferramenta biotecnológica de grande incentivo à olivicultura, o que pode auxiliar na disseminação da cultura no Estado e no país.

### **3.2 Fungos micorrízicos arbusculares**

A rizosfera, sendo a região do solo que recebe influência direta das raízes, torna possível intensa proliferação microbiana. Microrganismos rizosféricos desempenham importante papel nos sistemas naturais e agrícolas, uma vez que participam das transformações da matéria orgânica e dos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes. Várias interações ecofisiológicas ocorrem no ambiente rizosférico e o reconhecimento dessas interações, bem como o entendimento sobre como influenciam o desenvolvimento das plantas, poderá permitir sua aplicação como uma ferramenta adicional com potencial de utilização nos estudos de sustentabilidade dos agroecossistemas (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

A produtividade de culturas, como é o caso da oliveira, é sustentada por uma diversidade de fatores, como, condições climáticas e interações com microrganismos presentes no solo. Dentre esses, estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) com reconhecida habilidade em estimular o crescimento de plantas, por meio do incremento na absorção de nutrientes, P em especial, além de minimizar os efeitos de estresses bióticos e abióticos como aqueles produzidos pelo transplântio, deficiência hídrica e ataque de patógenos (BONFIM et al., 2008).

Os efeitos benéficos dos FMAs têm sido demonstrados em variadas condições e espécies vegetais, estimulando o crescimento vegetal como uma consequência de seu efeito na nutrição mineral da planta (RUSSOMANNO; KRUPPA, 2008). Silva et al. (1998) salientam, em um de seus trabalhos, que os FMAs têm se mostrado benéficos tanto na formação de mudas como no estabelecimento em campo de vários cultivos como da Aceroleira.

As espécies vegetais diferem quanto à capacidade de formar e de se beneficiar da simbiose pelo fato dos efeitos no crescimento das plantas serem predominantemente nutricionais, os quais variam em função da exigência da mesma e da fertilidade do solo (SIQUEIRA; SAGGIN-JUNIOR, 1995).

Pelos seus efeitos, essa simbiose se torna de grande importância para as plantas, em vista da não reposição artificial de nutrientes ao solo (CARDOSO, 1986; FRANCO; FARIA, 1997), atuação na agregação e estabilidade de agregados por meio da rede micelial (MILLER; JASTROW, 1992) e estabilização e sustentabilidade do ecossistema (SMITH; READ, 1997).

### **3.2.1 Fungos micorrízicos arbusculares em oliveiras**

Existem poucos estudos relacionando os FMAs com as oliveiras, conforme são apresentados nesse item. A maioria dos estudos de oliveira no Brasil e no mundo tem sido direcionada à produção e manejo e poucos relacionados a microrganismos do solo e seus processos, limitando as informações necessárias para o sucesso da implantação e, ou, manutenção da sustentabilidade da cultura.

Até recentemente, a maioria dos estudos de qualidade do solo era voltada à utilização de indicadores físicos e químicos (DORAN et al., 1994). No entanto, muitos dos atributos físicos e químicos do solo, exigidos para o máximo desenvolvimento vegetal, são afetados diretamente pelos processos bióticos (LEE, 1994), destacando-se a importância dos microrganismos e seus processos no funcionamento e equilíbrio de ecossistemas.

Há uma grande escassez de estudos relacionados a FMAs em culturas de oliveira no Brasil, salvo Vieira et al (2011). Os poucos abordados para essa cultura estão concentrados em Portugal, França, Espanha e Itália. No entanto, a presença desses microrganismos na rizosfera de plantas está diretamente relacionada à manutenção da qualidade ambiental (MEHROTRA, 1998), principalmente em ecossistemas que envolvem culturas perenes. O revolvimento do solo ou retirada da cobertura vegetal pode provocar a quebra da rede micelial (KABIR et al., 1997; MELLONI et al., 2003), a qual tem papel fundamental na agregação do solo e absorção e transporte de água e nutrientes aos hospedeiros. Portanto, a sua quantificação se torna de extrema importância, visto ainda a sua potencialidade de indicação da qualidade microbiana dos solos (MELLONI et al., 2003; MELLONI, 2007). A cultura de oliveira, pelo caráter perene, promove baixo revolvimento de solo, limitando-se à implantação

do pomar. Essa baixa mecanização, aliada ao reduzido emprego de agrotóxicos, tende a garantir maior sustentabilidade ambiental (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

Avaliando a influência de micorriza no crescimento de oliveira na Espanha, Porras - Piedra et al. (2005) mostraram que os FMAs amenizaram o estresse do transplântio para o campo, principalmente por aumentarem sua resistência às doenças, melhorarem a absorção de nutrientes e eficiência fotossintética, e, conseqüentemente, seu vigor. Da mesma forma, em Portugal, Santos-Antunes (2002), ao avaliar se a inoculação de plantas jovens de oliveira com FMAs, constatou que a mesma pode conduzir a maior desenvolvimento da planta sob a hipótese de essas plantas suportarem estresses relacionados à falta de água ou mesmo ataques de agentes patogênicos, bem como de nematóides (CASTILLO et al., 2006).

Trabalhos de levantamento de potencial de inóculo desses organismos, aliado à caracterização microbiológica de solos, são de fundamental importância para avanços biotecnológicos na produção de mudas (CARNEIRO et al., 1998) e no sucesso das culturas. Estudos conduzidos na Espanha por Calvente et al. (2004) mostraram que a diversidade natural de FMAs servem como ponto de partida para formular futuros inóculos a serem aplicados na produção de cultivares de oliveiras.

Experimentos ligados à inoculação de FMAs eficientes, em condições controladas, podem contribuir para a definição da melhor relação simbiótica entre os envolvidos, garantindo maior e melhor produção de mudas de oliveira. Segundo Carneiro et al. (1998), uma futura inoculação de espécies dependentes de micorriza poderia reduzir o uso de insumos, o que traria benefícios econômicos e ambientais.

Melhorias no vigor da cultivar de oliveira Arbequina em virtude da inoculação com FMAs foram verificadas na Espanha por Castillo et al. (2006). Na França, Binet et al. (2007) demonstraram que a inoculação de determinadas cultivares de oliveira com FMAs pode melhorar significativamente a sobrevivência, desenvolvimento e crescimento da planta, confirmando o papel fundamental desse grupo de microrganismos na sustentabilidade da cultura.

Assim, tem sido demonstrada uma relação simbiótica entre FMAs e o desenvolvimento de mudas de oliveiras. Entretanto, no processo de enraizamento de estacas, considerada etapa inicial dentro do processo de produção de mudas de oliveira, há uma grande lacuna sobre a utilização desses fungos, conforme será discutida a seguir.

### 3.2.2 Fungos micorrízicos arbusculares na produção de hormônios

Estudos que relacionam o desenvolvimento da simbiose planta-fungo têm sido direcionados ao efeito hormonal entre eles. Foo (2013) demonstrou que a auxina pode regular eventos iniciais de formação da micorriza por meio do controle do nível de strigolactona (hormônio vegetal, derivado dos carotenóides), tanto na rizosfera, quanto no processo inicial de colonização.

Martínez-Medina et al. (2011), avaliando a interação entre duas espécies de FMAs e *Trichoderma harzianum*, observaram que o perfil de hormônios vegetais na parte aérea das plantas de melão (hospedeiro vegetal) alterou-se quando da inoculação isolada dos microrganismos. Os resultados mostraram, ainda, incremento de biomassa e maior resistência contra patógenos, como *Fusarium*, causador de murcha naquela cultura.

Os microrganismos presentes no solo são capazes de alterar os níveis de reguladores hormonais das plantas. Cosme e Wurst (2013), analisando a interação multi-fatorial de FMAs, rizobactérias, doses de P e deficiência de citocinina em plantas de tabaco, apresentaram que os níveis reduzidos de citocinina, podem estar ligados a sinalização da planta para estimular o crescimento de hifas dos FMAs.

Os processos de enraizamento de estacas de plantas estão diretamente relacionadas a tratamentos hormonais. Avaliando-se uma possível ação no enraizamento pelos FMAs em estacas de laranjeira, Souza et al. (1995) demonstraram que os FMAs não apresentam essas características, sendo o ácido indolbutírico (AIB), de origem sintética, ainda necessário para o enraizamento, pois, segundo Raven et al., (2001), apresenta características de diferenciação celular para o enraizamento. Entretanto, Barea e Azcon-Aguilar (1982) demonstraram a produção de substâncias semelhantes a giberilinas e citocininas pelo fungo *Glomus mossae*, sendo esses, hormônios que apresentam características de crescimento e alongamento celular, através da indução da germinação de esporos em água, utilizando um cromatógrafo para se avaliar a produção dos hormônios.

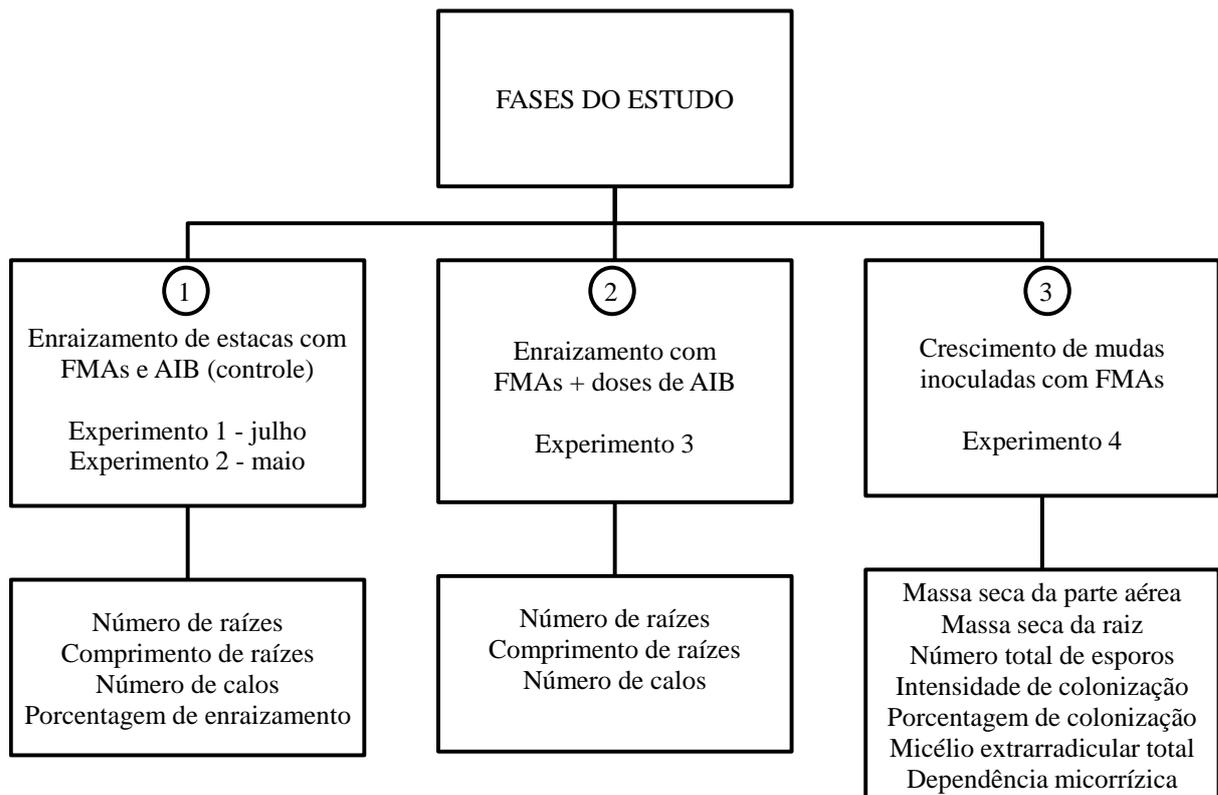
Em outro trabalho com a utilização dos FMAs no enraizamento de estacas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis*), Souza et al. (2000) evidenciaram melhorias no desenvolvimento vegetativo quando associada à aplicação do AIB, indicando que a auxina favoreceu a ocorrência e eficiência da simbiose planta – FMA. Paralelamente, a utilização do AIB em plantas não micorrizadas não se mostrou eficiente para o aumento do desenvolvimento vegetativo.

No desenvolvimento de plântulas de pessegueiro, Nunes et al. (2010), utilizando FMAs juntamente com uma dose de AIB, mostraram que as espécies *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum*, independentes da aplicação do AIB, foram eficientes no incremento e desenvolvimento vegetativo e nutricional das plantas, enquanto o fungo *Gigaspora margarita* se mostrou eficiente quando inoculado com o AIB. Os mesmos autores também confirmaram que para uma maior eficiência do processo de alongamento celular, deve-se utilizar hormônio em associação com os FMAs.

Para enraizamento de oliveira, não há estudos que relacionam o efeito de FMAs de forma isolada ou combinada com AIB. Dessa forma, o presente trabalho tem, também, o objetivo de gerar dados com esse enfoque, de forma a fornecer informações que possam contribuir para o processo de enraizamento de estacas e produção de mudas de oliveira.

## 4 METODOLOGIA

O presente trabalho foi conduzido e avaliado em três fases, cujos quatro experimentos foram instalados em casa de vegetação da FEMF – EPAMIG. Os experimentos consistiram de: (1) enraizamento das estacas de oliveira utilizando FMAs, tendo o AIB como controle, em duas épocas; (2) enraizamento de estacas de oliveira com FMAs e doses do hormônio AIB, e (3) crescimento de mudas de oliveiras, já enraizadas, utilizando FMAs e um controle sem infestação, conforme esquema da figura 1.



**Figura 1** - Esquema das fases e experimentos instalados.

As oliveiras utilizadas nesse trabalho pertencem ao Banco de Germoplasma da FEMF-EPAMIG, localizado em Maria da Fé, 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 utilizadas três cultivares de oliveira: Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE), cujas características estão demonstradas na tabela 1.

**Tabela 1** – Características básicas das cultivares de oliveira utilizadas no presente estudo.

<b>Cultivar</b>	<b>Entrada em produção</b>	<b>Vigor</b>	<b>Finalidade</b>
Arbequina	Precoce	Baixo	Azeite
Grappolo 541	Média	Alto	Azeite
Maria da Fé	Precoce	Médio	Mesa e azeite

Fonte: NETO et al. (2008), modificado.

## **4.1 Enraizamento de microestacas de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação**

Essa fase foi desenvolvida em dois experimentos, instalados em duas épocas: julho de 2012 e maio de 2013. O objetivo não foi comparar estatisticamente as duas épocas, mas avaliar o comportamento do enraizamento e a suscetibilidade ao efeito da inoculação nessas condições. Oliveira et al. (2012) salientaram haver diferenças de enraizamento, sendo a época de abril considerada mais propícia ao enraizamento.

### **4.1.1 Experimento 1**

Foi instalado, em 10 de julho de 2012, um experimento em delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 6x3, sendo cinco espécies de FMAs (Tabela 2): *Scutellospora heterogama*, *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea*, *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus etunicatum*, obtidos de vasos de multiplicação da coleção de FMAs da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ-USP, uma testemunha sem inoculação, e três cultivares de oliveira: Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE), e quatro repetições por tratamento, constituindo 72 unidades experimentais.

**Tabela 2** - Características gerais dos esporos das espécies de FMAs utilizadas.

Espécie	Coloração	formato	Tamanho
<i>Acaulospora scrobiculata</i> (Gerd. & Trappe)	Sub-hialino e amarelo pálido, com alguns esporos escuros de coloração palha.	Globoso, subgloboso e ocasionalmente irregular	80 - 160 $\mu\text{m}$ , com média 120,3 $\mu\text{m}$ .
<i>Gigaspora rosea</i> (Morton & Benny)	Palha creme podendo ser observado palha rosa em esporos novos saudáveis e palha creme a amarelo-marrom em esporos velhos	Globoso a subgloboso	160 - 280 $\mu\text{m}$ , com média 206 $\mu\text{m}$ .
<i>Scutellospora heterogama</i> (Walker & Sanders)	Laranja-marrom a vermelho marrom	Globoso	149 - 204 $\mu\text{m}$ , com média 182 $\mu\text{m}$ .
<i>Glomus clarum</i> (Nicolson & Schenck)	Branco amarelado a um amarelo marrom	globoso a subgloboso, com conteúdo de glóbulos lipídicos de tamanhos variados	100 - 202 $\mu\text{m}$ , com média 147 $\mu\text{m}$ .
<i>Glomus etunicatum</i> (Becker & Gardemann)	Laranja a um vermelho-marrom	Globoso e subgloboso	77 - 198 $\mu\text{m}$ , com média de 104 $\mu\text{m}$

Fonte: INVAM (2013), adaptado

Como tratamento testemunha, foi utilizada uma solução hidroalcoólica de ácido indolbutírico (AIB), na concentração de 3 g L<sup>-1</sup>, onde 3 cm da base da estaca foi submersa por cinco segundos, conforme metodologia aplicada por Oliveira et al. (2009) e constantemente utilizada na produção de mudas, na FEMF-EPAMIG.

Cada unidade experimental foi constituída por um copo de 300 mL, preenchido com areia de textura média, previamente lavada e autoclavada (1 h a 121 °C), sendo dispostas 4 estacas semilenhosas de, aproximadamente, 12 cm de comprimento e dois pares de folhas na região apical.

Para fins de avaliação de esporos presentes no inóculo fornecido pela ESALQ, aplicou-se método peneiramento úmido, proposto por Gerdemann e Nicolson (1963). O

substrato contendo os esporos foi aplicado nos copos com a areia antes da inserção das estacas, em quantidade suficiente para acrescentar 100 esporos por copo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação dotada de nebulização intermitente automatizada, acionada das 7 às 19 horas, em intervalos de 10 minutos, por 10 segundos, na FEMF-EPAMIG, Maria da Fé (MG). Na figura 2, podem ser observados detalhes da Unidade experimental.

O desenvolvimento das estacas foi acompanhado por um período de três meses. Após esse tempo, foram avaliadas as seguintes variáveis resposta: número de raízes formadas, comprimento total das raízes, porcentagem de estacas enraizadas e número de estacas caejadas.



**Figura 2** – Unidades experimentais do experimento 1 - enraizamento de estacas de oliveira, em julho de 2012.

#### **4.1.2 Experimento 2**

O experimento 2 foi instalado no mês de maio de 2013, em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 4x3, sendo 3 espécies de fungos: *Gigaspora rosea*, *Glomus clarum* e *Scutellospora heterogama*, mais um controle com a utilização do AIB e três cultivares de oliveira. Esse experimento foi conduzido nas mesmas condições do anterior (parcela experimental e número de repetições, conforme figura 3), em casa de vegetação da FEMF-EPAMIG. A redução de 5 para 3 espécies ocorreu em função da disponibilidade do inóculo dos fungos.

Após um período de três meses, foram avaliadas as mesmas variáveis resposta já citados anteriormente para o experimento 1.



**Figura 3** - Unidades experimentais do experimento 2 - enraizamento de estacas de oliveira, em maio de 2013.

Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov a 5 % de probabilidade para verificar o pressuposto de normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto da normalidade, foi aplicada a transformação  $\sqrt{x+0,5}$ . Posteriormente, foi realizada a análise de variância seguida de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando para tanto o *software* estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2008).

## **4.2 Enraizamento de estacas de oliveira, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e acrescidas de doses de ácido indolbutírico**

O experimento 3 foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema trifatorial 3x4x5, com 3 repetições, totalizando 180 unidades experimentais com duas estacas por parcela, totalizando 360 estacas. O experimento foi instalado em maio de 2013 utilizando estacas das três cultivares de oliveira: Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE) e inóculo separado de três espécies de FMAs: *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea* e *Acaulospora scrobiculata* em quantidade para adicionar 100 esporos por copo plástico de 300 mL mais um tratamento controle (sem fungo), combinados com 5 doses do hormônio AIB (0, 1, 2, 3, 4 g L<sup>-1</sup>). As estacas foram imersas por 5 s na solução com o

hormônio AIB, e aquelas que receberam a dose zero ficaram imersas em água destilada pelo mesmo tempo.

O inóculo contendo esporos de FMAs foi colocado nos substratos, formados por areia de textura média previamente lavada e autoclavada (1 h a 121 °C), antes da inserção das estacas.

O experimento foi instalado em casa de vegetação (Figura 4) e conduzido com nebulização intermitente automatizada, acionada das 7 às 19 horas em intervalos de 10 minutos por 10 segundos, na FEMF-EPAMIG, Maria da Fé (MG).

Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov a 5% de probabilidade para verificar o pressuposto da normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto, foi aplicado a transformação  $\sqrt{x+0,5}$  a fim de estabilizar ou reduzir a variabilidade dos dados.

Os dados qualitativos (diferentes fungos e cultivares) e quantitativos (doses de AIB) transformados foram submetidos à análise de variância utilizando o *software* estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2008), seguido de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.



**Figura 4** – Unidades experimentais do experimento 3 - enraizamento de estacas de oliveira inoculadas e com doses combinadas de AIB

### **4.3 Crescimento de mudas de diferentes cultivares de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação**

O experimento 4 foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4 com 3 repetições, constituindo 36 unidades experimentais, com duas estacas por

vaso (Figura 5), totalizando 72 estacas. O experimento foi instalado em 17 de janeiro de 2013, utilizando mudas enraizadas de três cultivares de oliveira: Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE). Foram utilizados inóculos com esporos de três espécies de FMAs: *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea* e *Acaulospora scrobiculata*, em uma proporção de 200, 100 e 200 esporos por vaso, respectivamente, devido à disponibilidade dos esporos, e aplicados ao lado das raízes, próximos ao colo das plantas, e um tratamento controle (sem fugo).



**Figura 5** – Detalhe da unidade experimental do experimento 4 - vaso de 5 L com duas mudas e oliveira inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares ao centro

As mudas enraizadas foram obtidas, após tratamento das estacas das cultivares de oliveira com solução de AIB à concentração de  $3 \text{ g L}^{-1}$ . Em seguida, essas 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 a 1 %. Foi confirmada ausência de propágulos (esporos) de FMAs no substrato onde as mudas foram produzidas, por meio da metodologia de peneiramento úmido proposto por Gerdemann e Nicolson (1963).

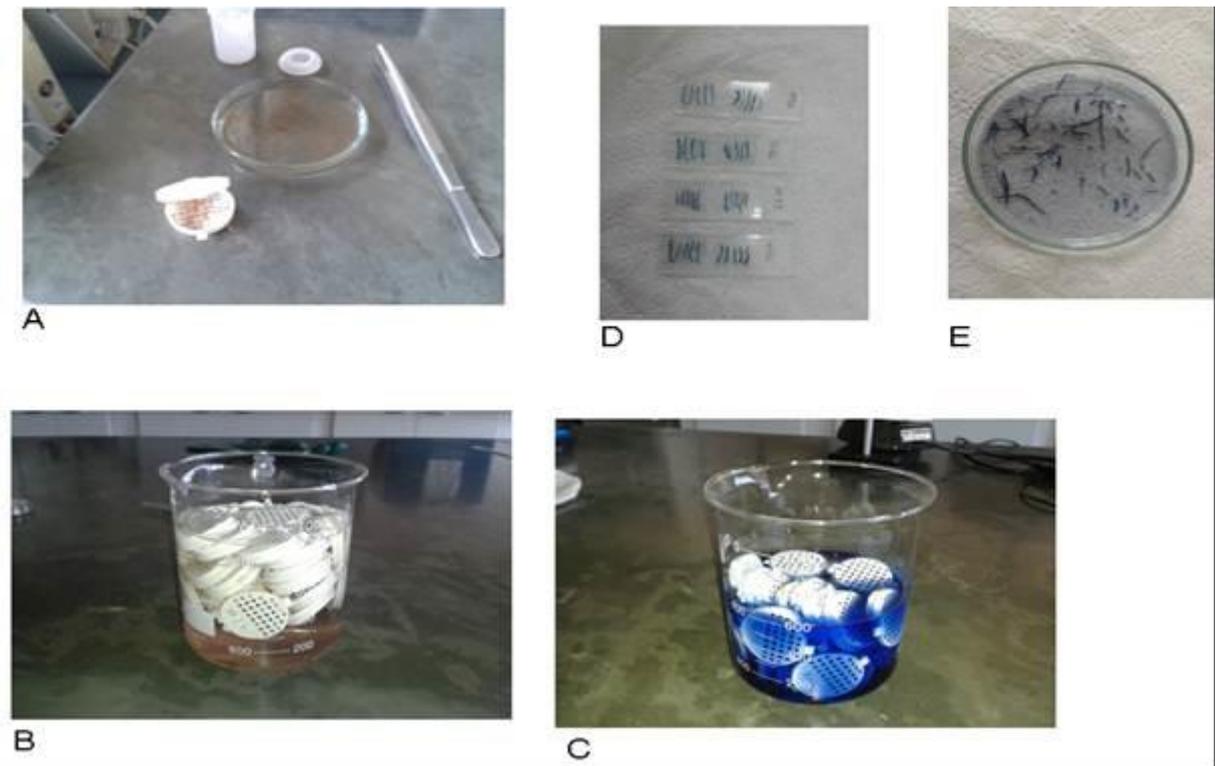
As mudas enraizadas foram transplantadas para vasos de cultivo, de 5 kg de capacidade, cujo substrato foi composto por uma parte de areia de textura média, lavada e esterilizada em autoclave (1 h a  $121^\circ\text{C}$ ) e duas partes de terra de um horizonte B (Latosolo Vermelho Amarelo, distrófico, textura média), também esterilizadas em autoclave (1 h a  $121^\circ\text{C}$ ).

As fertilizações foram feitas quinzenalmente por meio de solução Hoagland e Arnon (1950) completa, com  $1/3$  da concentração total de fósforo, utilizando um total de 50 mL por vaso em cada aplicação.

O crescimento das mudas foi acompanhado por dez meses e avaliado por meio das seguintes variáveis resposta: massa seca da parte aérea e massa seca da parte radicular, após peso constante em estufa de secagem a 60 °C. Para as variáveis massa seca da parte aérea e massa seca da raiz não houve necessidade de transformação dos dados, uma vez que, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov a 5 % de probabilidade, os dados seguiram o pressuposto da distribuição normal. Sendo assim, foi realizada a análise de variância seguida de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de significância, utilizando o *software* Sisvar (FERREIRA, 2008). Quanto às variáveis microbiológicas, foram avaliados: colonização e intensidade micorrízica, densidade de esporos de FMAs e comprimento de micélio extraradicular total. Foi avaliada também a dependência micorrízica da planta, utilizando a fórmula de Planchette et al. (1983):  $100 \times ((A - B)/A)$ , onde A representa a massa seca das plantas micorrizadas e B a massa seca das plantas não micorrizadas.

#### **Porcentagem de colonização micorrízica de espécies**

Foi utilizado o método descrito por Phillips e Haymann (1970), com modificações. Aproximadamente 1 g de amostras de raízes das espécies cultivadas foi clarificado com KOH a 10 % em banho-maria a 90 °C por 40 min, enxaguado em água e, posteriormente, clarificado com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 5 %. Após, as raízes foram lavadas em água corrente diversas vezes. As raízes foram, então, coradas com azul de tripano por meio de aquecimento em banho-maria a 90 °C, por 1 h. Por fim, utilizou-se para a remoção do corante a lactoglicerina incolor (KORMANIK et al., 1980). A porcentagem de colonização foi estimada pelo método da interseção em placa quadriculada (GIOVANETTI; MOSSE, 1980), em lupa microscópica, onde a metodologia poder ser observada na figura 6. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov a 5 % de probabilidade para verificar o pressuposto de normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto de normalidade, foi aplicada a transformação arco seno da raiz de x/100. Posteriormente, foi realizada a análise de variância, seguida de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de significância, utilizando o *software* Sisvar® (FERREIRA, 2008).



**Figura 6** - A. Separação das raízes para coloração; B. Amostras de raízes no KOH; C. Amostras de raízes com azul de tripano; D. Amostras de raízes para determinação da intensidade de colonização micorrízica; E. Amostras de raízes em placa quadriculada para porcentagem de colonização micorrízica.

### **Intensidade de colonização micorrízica de espécies**

As raízes coradas foram coradas da mesma forma já descrita acima e submetidas à determinação da intensidade de colonização radicular. Para isso, foram utilizados 10 segmentos de raízes, as quais foram dispostas em cada lâmina de microscopia (por amostra), atribuindo-se notas de 0 a 100, conforme a ocupação da área radicular pelas estruturas fúngicas (BETHLENFALVAY et al., 1981), onde a metodologia poder ser observada na figura 6. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov a 5 % de probabilidade para verificar o pressuposto de normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto de normalidade, foi aplicada a transformação arco seno da raiz de  $x/100$ . Posteriormente, foi realizada a análise de variância, seguida de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de significância, utilizando o *software* Sisvar® (FERREIRA, 2008).

### **Densidade de esporos de FMAs**

Foi utilizado o método do peneiramento úmido descrito por Gerdemann e Nicolson (1963). Para isso, um volume de 50 mL de amostra de solo úmido foi submetido a três lavagens com água de torneira em peneiras de 0,500 e 0,045 mm. O retido nessa última

peneira foi transferido para tubo de centrífuga e centrifugado a 2000 rpm por 1 min, acrescentado com duas soluções de sacarose (20 e 60 %). O sobrenadante foi, então, peneirado em malha 0,045 mm e o retido transferido para placa concêntrica para contagem do número total de esporos, em lupa microscópica, onde a metodologia pode ser observada na figura 7. Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov a 5 % de probabilidade para verificar o pressuposto de normalidade. Para os dados que não seguiram o pressuposto de normalidade, foi aplicada a transformação raiz de  $x/100$ . Posteriormente, foi realizada a análise de variância, seguida de comparação de médias pelo teste Tukey a 5 % de significância, utilizando o *software* Sisvar® (FERREIRA, 2008).

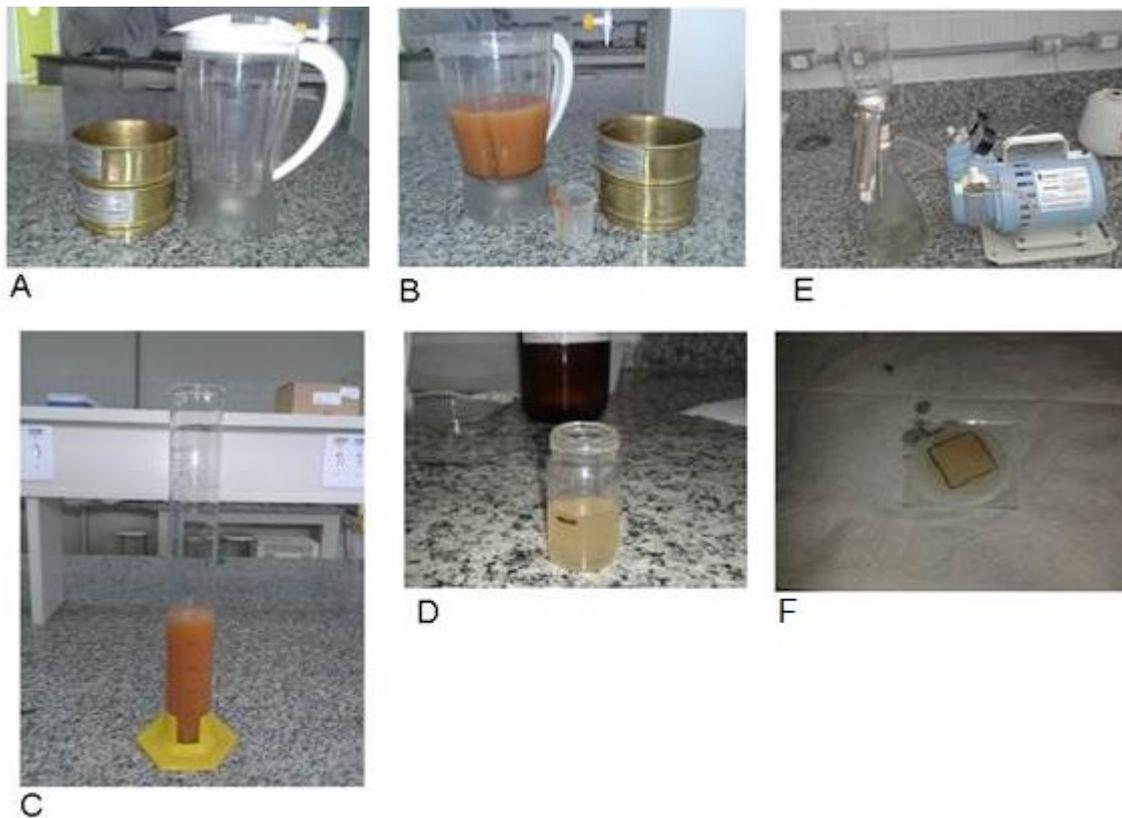


**Figura 7** - A. Separação da amostra de solo para análise (50 g); B. Lavagem da amostra de solo para o peneiramento; C. Resultado do peneiramento a ser transferido para o tubo da centrífuga; D. Centrífuga com o retido do peneiramento.

### Comprimento de micélio extrarradicular total de FMAs

Das amostras de solo rizosférico coletadas, foi determinado micélio extrarradicular total de FMAs, pelo método proposto por Melloni e Cardoso (1999). A extração de micélio extrarradicular foi feita transferindo-se 10 g de amostras de solo em 1.500 mL de água de torneira. Esta suspensão foi peneirada em malhas de 0,71 e 0,25 mm, sendo o filtrado agitado em liquidificador por 30 segundos. Após um período de dois minutos de repouso, foi feita a

retirada de uma alíquota de 500 mL e passada em peneira de malha 0,045 mm. O retido foi transferido para frasco de penicilina, utilizando-se 11 mL de água destilada. Essa suspensão contendo micélio foi encaminhada para filtração a vácuo em membrana de triacetato de celulose, quadriculada, de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. A membrana foi seca ao ar e transferida para lâmina de vidro para avaliação em microscópio óptico, em aumento total de 100 vezes, onde a metodologia poder ser observada na figura 8.



**Figura 8** - A. Peneiras para metodologia de extração de micélio; B. Homogeneização da suspensão de amostra de solo, em liquidificador; C. Retirada de alíquota de 500 mL; D. Alíquota de 11 mL após amostra peneirada contendo micélio em suspensão; E. Sistema de filtração a vácuo; F. Membrana quadriculada de triacetato de celulose após filtragem.

Após a contagem das interseções das hifas com as linhas horizontais do reticulado, empregou-se a equação  $MET = 0,21387 \times n / (10 - U)$ , em que n representa o número de interseções avaliado e U a quantidade de água presente em 10 gramas de amostra úmida, em gramas, sendo o resultado apresentado em metros de hifa por grama de solo seco (MELLONI; CARDOSO, 1999).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Experimento de enraizamento de microestacas de oliveira inoculadas com FMAs, em casa de vegetação.

#### 5.1.1 Experimento 1

O quadrado médio do erro referente aos tratamentos para cada variável resposta está apresentado nas tabelas 12 a 15 (anexo). As variáveis número de raízes, comprimento de raiz, % de enraizamento e número de estacas calejadas não apresentaram interação significativa para as fontes de variação entre as cultivares e os FMAs. As médias das variáveis para as cultivares encontram-se na tabela 3. As médias das variáveis após os tratamentos com a inoculação de FMAs e adição de AIB como testemunha encontram-se na tabela 4.

**Tabela 3** - Valores médios por unidade experimental para número médio de raiz (NR), comprimento de raiz, em cm (CR), porcentagem de estacas enraizadas para o tratamento com as cultivares, e número de estacas com calos (NC). IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

	NR	CR	% Enraizamento	NC
Arbequina	0,25	0,51	1,73	0,6 b
Maria da Fé	0,25	0,68	1,56	0,97 a
Grappolo 541	0,65	1,34	4,16	0,65 b
IV (%)	13,38	20,53	54,51	2,51

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando o valor nominal de 5% de significância.

**Tabela 4** - Valores médios por unidade experimental para número médio de raiz (NR), comprimento de raiz, em cm (CR), porcentagem de estacas enraizadas para o tratamento com as cultivares, e número de estacas com calos (NC). IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

	NR	CR	% Enraizamento	NC
AIB (3000 mg L <sup>-1</sup> )	1	2,39	5,55	0,68
<i>G. etunicatum</i>	0,29	0,52	1,73	0,63
<i>S. heterogama</i>	0,16	0,64	2,08	0,8
<i>G. rosea</i>	0,2	0,37	1,21	0,76
<i>G. clarum</i>	0,39	0,7	1,56	0,81
<i>A. scrobiculata</i>	0,27	0,42	2,77	0,76
IV (%)	13,31	20,43	54,99	3,03

Houve significância para o número de estacas calejadas, apenas na fonte de variação das cultivares, onde a cultivar Maria da Fé, apresentou mais estaca com calos (0,97), diferindo-se estatisticamente das outras cultivares pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade. A formação de calos está diretamente ligada ao enraizamento das estacas, agindo como precursor do enraizamento, uma vez que para haver o enraizamento é necessário que haja uma diferenciação celular do tecido vegetal (SILVA et al., 2012).

Foi observada também uma baixa taxa de enraizamento para as três cultivares (Tabela 3), tanto nos tratamentos controle (AIB), quanto nos tratamentos com os propágulos dos fungos micorrízicos (Tabela 4). Na cultivar Grappolo 541 (MGS GRAP541) foi obtida uma taxa de enraizamento de 4,16 %, entretanto, sem diferença estatística para as outras cultivares. O tratamento com o AIB proporcionou um valor de 5,55 % de enraizamento, independente da cultivar utilizada, entretanto, não foi um valor estatisticamente diferente dos tratamentos com os propágulos de FMAs.

Sem considerar a inoculação com FMAs, a época do ano influencia diretamente o enraizamento das plantas. Silva et al. (2012) concluíram que abril é a época mais favorável ao enraizamento, uma vez que o estado fenológico da planta influencia no potencial rizogênico das mesmas (CABALLERO, 1979). Dessa forma, a baixa taxa de enraizamento observada nas diferentes cultivares (Tabela 3) pode ter sido reflexo da época não recomendada (julho) para condução do referido experimento (OLIVEIRA, 2009), já que nem o tratamento com hormônio AIB, constantemente utilizado na produção de mudas, praticamente não diferiu daqueles relacionados à inoculação com os FMAs. Essa baixa taxa de enraizamento, formação de raízes e comprimento de raiz, corroboram os resultados obtidos por Silva et al. (2012) para a mesma época. Dessa forma, é sugerido que um novo experimento venha a ser instalado em época considerada propícia ao enraizamento, ou seja, no final do período vegetativo da planta, onde o potencial de enraizamento é maior (CABALLERO, 1981).

Ainda não há evidências suficientes sobre o efeito do enraizamento de estacas por FMAs, conforme também observado por Souza et al. (1995), em estacas de laranjeiras. No entanto, estudos indicam que os FMAs podem produzir substâncias com ação hormonal semelhante às giberelinas e citocininas (BAREA; AZCON-AGUILAR, 1982), as quais podem sim atuar no enraizamento de estacas. Estudos dessa natureza são considerados de difícil comprovação, uma vez que FMAs, por serem biotróficos obrigatórios, possuem crescimento limitado em meio de cultura, dificultando (e muito) o isolamento e identificação de substâncias produzidas.

Com base nesses dados, foi instalado o experimento 2, utilizando uma época favorável ao enraizamento e o experimento 3, utilizando diferentes doses do hormônio sintético AIB, combinando com propágulos de FMAs, afim de analisar a interação fatorial do fungo no enraizamento das estacas, juntamente com a ação do hormônio dentro de cada cultivar.

Atualmente, Oliveira et al. (2009) confirmam que a utilização do AIB continua sendo imprescindível para o efeito rizogênico das estacas de oliveira.

### **5.1.2 Experimento 2**

O experimento 2, apesar de ter sido conduzido em uma época propícia ao enraizamento (abril), não apresentou nenhuma estaca enraizada, nem formação de calos. Dessa forma, não forneceu dados suficientes para análise de variância.

O experimento foi conduzido da mesma forma que os demais. Possivelmente, a unidade experimental, por se tratar de um copo de volume restrito (300 mL), pode ter proporcionado baixa aeração no substrato (areia), o que pode ter influenciado negativamente o enraizamento das estacas. Segundo Hartmann et al. (2002), a aeração do substrato é de grande importância na formação das mudas, assim como o fornecimento de água e nutrientes, e criação de ambiente escuro para reduzir a penetração da luz na base das estacas.

Dessa forma, sugere-se a instalação de um novo experimento na mesma época, a fim de avaliar a influência dos FMAs no enraizamento das estacas de oliveira, devendo-se atentar para as condições do substrato.

Os dados obtidos no experimento 1, mesmo não apresentando diferença estatística do tratamento controle com os tratamentos com os fungos, não comprovam a influência dos FMAs no enraizamento de estacas nas diferentes cultivares de oliveira.

## **5.2 Experimento 3 - Enraizamento de estacas de oliveira, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e acrescidas de doses de ácido indolbutírico**

O quadrado médio do erro referente aos tratamentos para cada variável resposta está apresentado nas tabelas 16 a 18 (anexo). A variável número de estacas calejadas apresentou interação significativa entre os três fatores (cultivar x fungo x dose de AIB), sendo suas

médias apresentadas nas tabelas 5 e 6. A variável número de raiz apresentou interação significativa entre as fontes de variação (cultivar x fungo), sendo as médias apresentadas na tabela 7. A variável comprimento de raiz não apresentou interação entre os fatores.

**Tabela 5** – Número de estacas calejadas no desdobramento para os FMAs para a interação entre os tratamentos com os FMAs, cultivares e doses de AIB

Fungos	Arbequina	Maria da fé (MGS MARIENSE)	Grappolo 541 (MGS Grappolo 541)	AIB (g L <sup>-1</sup> )
controle	0 bA	0 bA	0 bA	0
<i>G. rosea</i>	0 bA	0 bA	0,16 bA	0
<i>G. clarum</i>	0 bA	0 bA	0 bA	0
<i>A. scrobiculata</i>	0 bA	0 bA	0 bA	0
controle	0 bB	0,33 bA	0,33 bA	1
<i>G. rosea</i>	0,83 aA	0 bB	0,16 bB	1
<i>G. clarum</i>	0 bA	0 bA	0 bA	1
<i>A. scrobiculata</i>	0 bA	0,16 bA	0 bA	1
controle	0 bA	0,16 bA	0,16 bA	2
<i>G. rosea</i>	0,33 aA	0,33 A	0 bB	2
<i>G. clarum</i>	0 bA	0 bA	0 bA	2
<i>A. scrobiculata</i>	0 bA	1 bA	0 bA	2
controle	0 bA	2 bA	0,33 bA	3
<i>G. rosea</i>	0 bA	0,33 bA	0 bA	3
<i>G. clarum</i>	0 bA	0,16 bA	0 bA	3
<i>A. scrobiculata</i>	0 bA	0,16 bA	0,16 bA	3
controle	0 bA	0 bA	0 bA	4
<i>G. rosea</i>	0 bA	0 bA	0 bA	4
<i>G. clarum</i>	0 bA	0 bA	0,16 bA	4
<i>A. scrobiculata</i>	0 bA	0 bA	0 bA	4
IV (%)	4,46			

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância. IV (índice de variação), dado por = coeficiente de variação/número de repetições, %.

Nas tabela 5 e 6 é demonstrado o número de estacas calejadas. Observa-se que na dosagem de 1 g L<sup>-1</sup> de AIB, em conjunto com o fungo *G. rosea*, houve um maior número de estacas calejadas (média de 0,83). Analisando-se a diferença entre as cultivares, observa-se que no tratamento controle para os fungos na dose 1 gL<sup>-1</sup> de AIB é apresentado um maior valor para as cultivares Grappolo 541 (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE). O fungo *G. rosea* na dosagem de 1 g L<sup>-1</sup> para a cultivar Arbequina promoveu maior calejamento em comparação as outras cultivares, sendo na dosagem de 2 g L<sup>-1</sup> também na

presença do fungo *G. rosea* proporcionando maiores valores para as cultivares Arbequina e Maria da Fé (MGS MARIENSE).

**Tabela 6** - Número de estacas calejadas no desdobramento das doses de AIB para a interação entre os tratamentos com os FMAs, cultivares e doses de AIB

AIB (g L <sup>-1</sup> )	Arbequina	Maria da fé (MGS MARIENSE)	Grappolo 541 (MGS Grappolo 541)	Fungo
0	0 b	0 b	0 b	Controle
1	0 b	0,33 b	0,33 b	Controle
2	0 b	0,16 b	0,16 b	Controle
3	0 b	0 b	0,33 b	Controle
4	0 b	0 b	0 b	Controle
0	0 b	0 b	0,16 b	<i>G. rosea</i>
1	0,83 a	0 b	0,16 b	<i>G. rosea</i>
2	0,33 b	0,33 b	0 b	<i>G. rosea</i>
3	0 b	0 b	0 b	<i>G. rosea</i>
4	0 b	0 b	0 b	<i>G. rosea</i>
0	0 b	0 b	0 b	<i>G. clarum</i>
1	0 b	0 b	0 b	<i>G. clarum</i>
2	0 b	0 b	0 b	<i>G. clarum</i>
3	0 b	0,16 b	0 b	<i>G. clarum</i>
4	0 b	0 b	0,16 b	<i>G. clarum</i>
0	0 b	0 b	0 b	<i>A. scrobiculata</i>
1	0 b	0,16 b	0 b	<i>A. scrobiculata</i>
2	0 b	0 b	0 b	<i>A. scrobiculata</i>
3	0 b	0,16 b	0 b	<i>A. scrobiculata</i>
4	0 b	0 b	0 b	<i>A. scrobiculata</i>
IV (%)	4,46			

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância. IV (índice de variação), dado por = coeficiente de variação/número de repetições, %.

Trabalhos utilizando doses de hormônios para o enraizamentos demonstram que as melhores porcentagens de enraizamento ocorrem na dosagem de 2 g L<sup>-1</sup> de AIB e maiores valores de número de raízes emitidas por estacas, bem como o comprimento médio das raízes, são alcançados utilizando a dosagem de 3 g L<sup>-1</sup> (PIO et al., 2005). Mesmo sendo apresentado por Barea e Azcon-aguilar (1982) que o fungo pode produzir um hormônio semelhante à giberilina e citocinina, com os dados desse presente trabalho não se pode afirmar a atuação do fungo para as variáveis analisadas, uma vez que a taxa de enraizamento e formação de calos foram muito baixas.

Analisando o número médio de raízes (tabela 7), têm-se que apenas a cultivar Grappolo 541 (MGS GRAP541) apresentou diferença significativa com as outras cultivares, sendo em conjunto com o tratamento controle (sem os propágulos de FMAs), que

apresentaram o melhor resultado (média de 1,23 raízes por estaca). Assim, não foi observado efeito da inoculação dos fungos no enraizamento das estacas nas condições experimentais.

**Tabela 7** – Número de raízes para a interação entre cultivares e os FMAs.

Fungos	Arbequina	Maria da fé (MGS MARIENSE)	Grappolo 541 (MGS Grappolo 541)
controle	0 aB	0 aB	1,23 aA
<i>G. rosea</i>	0,63 aA	0,1 aA	0 bA
<i>G. clarum</i>	0 aA	0,06 aA	0,06 abA
<i>A. scrobiculata</i>	0 aA	0,46 aA	0 bA
IV (%) = 2,88			

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância. IV (índice de variação), dado por = coeficiente de variação/número de repetições, %.

Assim, como nos outros experimentos, o estado fenológico e a fase de maturação das plantas influenciam no enraizamento das estacas. Apesar do experimento ter sido conduzido na época propícia ao enraizamento (maio), apresentou poucas estacas enraizadas, mesmo no tratamento controle com o AIB. Entretanto, a limitação do substrato (volume do copo de 300 mL), pode ter sido um fator que tenha influenciado nas baixas taxas de enraizamento.

### 5.3 Experimento 4 – Crescimento de mudas de oliveira

A análise de variância, para variáveis de crescimento e microbiológicas, são apresentados nas tabelas 19 a 24 (anexo). Os dados para as variáveis massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, micélio extraradicular total, intensidade e porcentagem de colonização entre as cultivares e entre os FMAs não apresentaram interação significativa entre os níveis dos tratamentos, sendo apresentados na tabela 9. Os dados para número total de esporos estão relacionados na tabela 10, pois apresentaram interação significativa entre as cultivares e os FMAs, como pode ser observado na tabela 21 (anexo).

Pode-se observar que entre as cultivares, que não houve diferença significativa para as variáveis analisadas, exceto para a cultivar Maria da Fé (MGS MARIENSE), que apresentou os menores valores para massa seca da parte aérea (1,40 g planta<sup>-1</sup>). Para os tratamentos com FMAs, os tratamentos diferiram-se apenas quando comparados com o controle.

Para a massa seca das raízes, não houve diferença entre os tratamentos com as cultivares. Para os tratamentos com FMAs, as espécies *A. scrobiculata* e *G. rosea* promoveram as maiores médias (0,69 e 0,67 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente), diferindo-se do tratamento com *G. clarum* (0,45 g planta<sup>-1</sup>) e do tratamento controle, que apresentaram a menor média (0,26 g planta<sup>-1</sup>).

**Tabela 8** - Comparação de média para as variáveis massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), índice de colonização radicular (ICR), porcentagem de colonização radicular (PCR) e micélio extraradicular total (MET) entre as cultivares de oliveira.

Fatores	MSPA (g planta <sup>-1</sup> )	MSR (g planta <sup>-1</sup> )	ICR (%)	PCR (%)	MET (m g <sup>-1</sup> )
Cultivar de oliveira					
Arbequina	1,57 ab	0,58 a	10,27 a	60,41 a	7,60 a
Maria da Fé	1,40 b	0,41 a	8,26 a	58,9 a	6,69 a
Grappolo 541	2,17 a	0,57 a	5,87 a	54,24 a	6,83 a
IV (%)	12,25	15,64	15,33	11,61	14,98
Fungo micorrízico arbuscular					
<i>A. scrobiculata</i>	2,00 a	0,69 a	12,57 a	71,53 a	8,87 a
<i>G. rosea</i>	1,89 a	0,67 ab	9,23 a	67,85 a	6,96 ab
<i>G. clarum</i>	2,00 a	0,45 bc	8,82 a	71,23 a	8,35 a
Controle	0,96 b	0,26 c	1,92 b	20,87 b	3,99 b
IV (%)	11,00	11,71	11,52	6,94	12,04

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância. IV (índice de variação) dado por: coeficiente de variação/número de repetições, %.

Com relação as variáveis intensidade e porcentagem de colonização micorrízica, não houve diferença entre as cultivares e entre os FMAs, com valores das médias ao redor de 8 % e 58 %, respectivamente. Tal resultado evidencia alta capacidade de formação micorrízica entre as cultivares estudadas corroborando os resultados encontrados por Vieira et al. (2011), que em condições de campo, apresentaram um alto índice de intensidade micorrízica nas plantas estudadas, variando de 26,3 a 32,2 %, entretanto apresentou baixa porcentagem de colonização, variando de 1,21 a 5,83 %. Em condições controladas, Piedra et al. (2005) obtiveram resposta positiva da inoculação com esporos de FMAs no crescimento de plantas jovens de oliveira, sendo apresentado 100 % de colonização micorrízica.

Para a variável comprimento de micélio extraradicular total, não foram apresentadas diferenças estatísticas entre as cultivares e entre FMAs, com valores ao redor de 7,50 m g<sup>-1</sup> de solo seco (Tabela 9). Comparativamente, Vieira et al (2011) registraram valores médios de

2,4 a 3,7 m g<sup>-1</sup> em condições de campo, portanto inferiores a esse presente trabalho, o qual foi conduzido em casa de vegetação.

Para a variável número total de esporos houve interação significativa entre os tratamentos com as cultivares e os FMAs, cujos resultados estão demonstrados na tabela 10.

Para a cultivar Arbequina, a média do número total de esporos variou de 31 a 5,33 em 50 g de solo, sem diferença significativa entre os tratamentos com FMAs, sendo diferente somente do tratamento controle, exceto para *G. clarum*. Entre as cultivares, a cultivar Grappolo541 (MGS GRAP 541), no tratamento controle, apresentou resultado diferente estatisticamente das outras cultivares, entretanto, nos tratamentos com FMAs não foram apresentadas diferenças significativas

**Tabela 9** - Número total de esporos (no 50 mL<sup>-1</sup>), nas cultivares de oliveira Arbequina, Grappolo541 (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MSG MARIENSE)

Fungo micorrízico arbuscular	Esporos (n° 50 mL <sup>-1</sup> ) nas cultivares de oliveira		
	Arbequina	Grappolo 541 (MGS GRAP 541)	Maria da Fé (MSG MARIENSE)
<i>A. scrobiculata</i>	29,66 aA	36,00 aA	8,66 aA
<i>G. rosea</i>	31,00 aA	111,00 aA	44,00 aA
<i>G. clarum</i>	5,33 abA	63,33 aA	18,00 aA
Controle	2,00 bA	0,00 bB	3,66 aA
IV (%)	10,75%		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância. IV (índice de variação), dado por = coeficiente de variação/número de repetições, %.

Pelo cálculo da dependência micorrízica, pode-se inferir quais tratamentos as plantas foram mais dependentes dos fungos quanto ao seu crescimento (Tabela 11). Na cultivar Arbequina, tem-se *A. scrobiculata*, seguido de *G. clarum* e *G. rosea*, variando entre 51,87 % a 30,41 %. Na cultivar Maria da Fé (MGS MARIENSE), tem-se *G. rosea* seguido de *G. clarum* e *A. scrobiculata*, variando entre 35,7 % a 17,23 %. Na cultivar Grappolo 541 (MGS GRAP541), tem-se *A. scrobiculata* seguido de *G. rosea* e *G. clarum*, variando entre 59,93 % a 54,45 %. Pode-se observar que as cultivares Arbequina e Grappolo 541 (MGS GRAP541) apresentaram maior dependência micorrízica para o fungo *A. scrobiculata*.

**Tabela 10** - Porcentagem de dependência micorrízica (DM), nas cultivares Arbequina, Grappolo 541 (MGS GRAP 541) e Maria da Fé (MSG MARIENSE)

Fungo micorrízico arbuscular	DM (%) nas cultivares de oliveira		
	Arbequina	Grappolo 541 (MGS GRAPP 541)	Maria da Fé (MGS MARIENSE)
<i>A. scrobiculata</i>	51,87	59,93	17,23
<i>G. rosea</i>	30,41	59,73	35,7
<i>G. clarum</i>	41,19	54,45	25,46

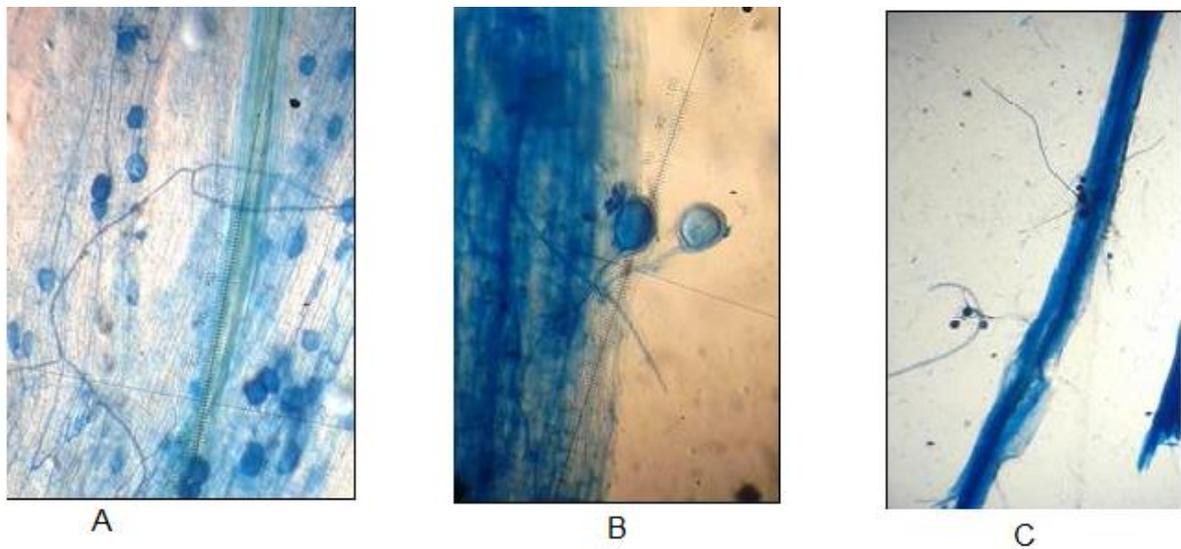
Gerdemann (1975) define dependência micorrízica como o grau de dependência da planta para atingir seu crescimento ou produtividade máxima, num determinado nível de fertilidade do solo. Apesar das diferenças entre as cultivares, pode-se observar que, do ponto de vista agrônomo, para as variáveis de crescimento (MSR e MSPA), os tratamentos individualizados com os três fungos se mostraram potencialmente eficientes no crescimento das mudas de oliveira. Resultados semelhantes foram obtidos por Meddad-Hamza et al. (2010), os quais comprovaram a relação entre colonização micorrízica e aumento nas variáveis de crescimento das diferentes cultivares de oliveira, como massa seca da parte aérea e massa seca da raiz, apresentando valores de dependência micorrízica de 73,9 e 67,3 % respectivamente para as espécies de fungos *G. mosseae* e *G. intraradices* para a cultivar Aglandau.

Espera-se, geralmente, um benefício da utilização de FMAs no crescimento e desenvolvimento de plantas quando comparadas as não micorrizadas, como pode-se observar no crescimento de plantas frutíferas tropicais como aceroleira em Costa et al. (2001), onde o tempo de produção de mudas pode ser reduzido pela metade quando inoculadas com FMAs. Foi verificado por Silva e Siqueira (1991) que, na ausência de micorriza, não houve resposta do crescimento de abacateiro e da mangueira mesmo quando utilizada a adubação fosfatada. Entretanto, quando utilizados os FMAs combinados com superfosfato simples, foi obtido um aumento no crescimento inicial das mudas. Camili et al. (2012) demonstraram uma não influência dos FMAs no crescimento de mudas de melancia, independente da dose de fosfato, porém, o período de avaliação de 30 dias pode ter sido insuficiente para demonstrar o acúmulo de massa pelas mudas em função do efeito micorrízico.

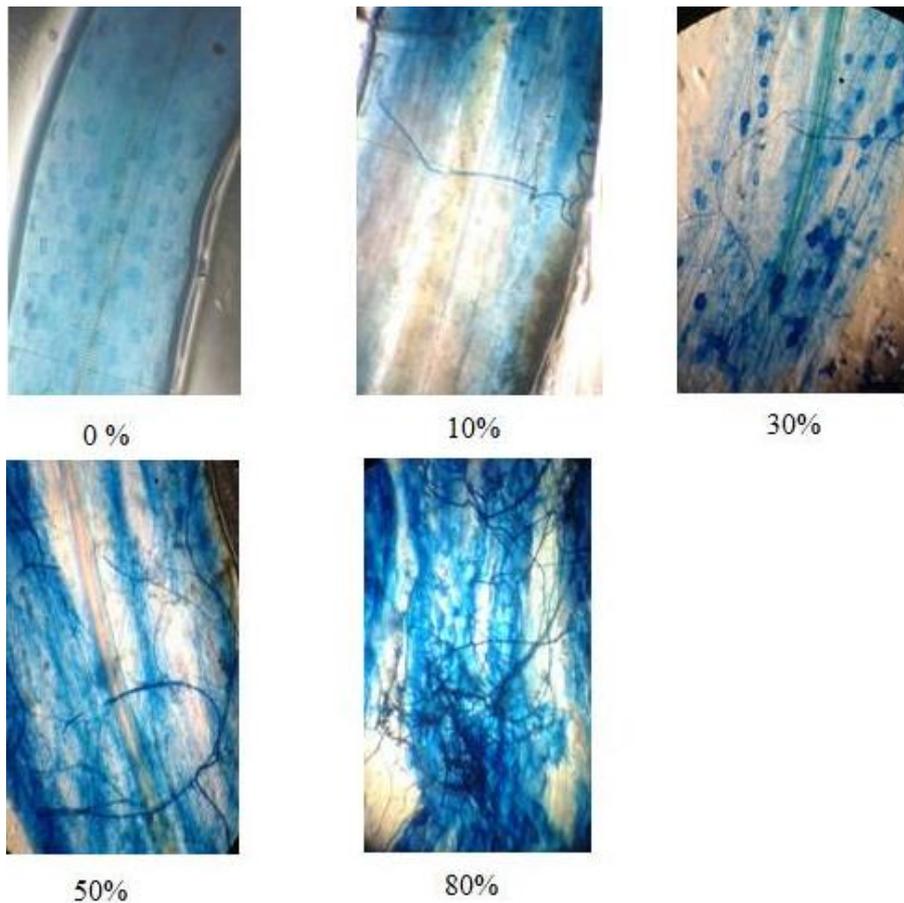
Diversos são os fatores que interferem na relação entre os fungos micorrízicos e as plantas, e uma delas é a disponibilidade de fósforo no solo. Em condições de alto teor de fósforo, pode ser apresentado um caso de competição entre a planta e o fungo pelo

carboidrato, onde o fungo pode apresentar características de drenagem de C, afetando, assim, o crescimento das plantas (PENG et al., 1993). Os níveis de fósforo também podem afetar a planta pela diminuição da colonização micorrízica (NOGUEIRA; CARDOSO, 2006) ou do micélio extraradicular ativo (MELLONI; CARDOSO, 1999). O crescimento das plantas, bem como, dos fungos na simbiose, estão relacionados às características genotípicas da planta hospedeira (SILVA et al., 2004), do fungo e das características do solo, não ficando restrito somente à intensidade da colonização das raízes (MARSCHNER; DELL, 1994).

São apresentadas, na figura 9, as estruturas fúngicas presentes nas raízes observadas das diferentes cultivares de oliveira. A figura 10 apresenta uma escala de colonização radicular, onde foram atribuídas notas de 0 – 100 %, em função da área colonizada por FMA no interior da raiz (BETHLENFALVAY et al., 1981). Não foram encontradas raízes com 100 % de colonização.



**Figura 9** – A. Vesículas de FMAs (índice de colonização). B. Hifas e vesículas. C. Hifas e Esporos de FMAs (porcentagem de colonização). Observações de estruturas fúngicas no aumento de 40x.

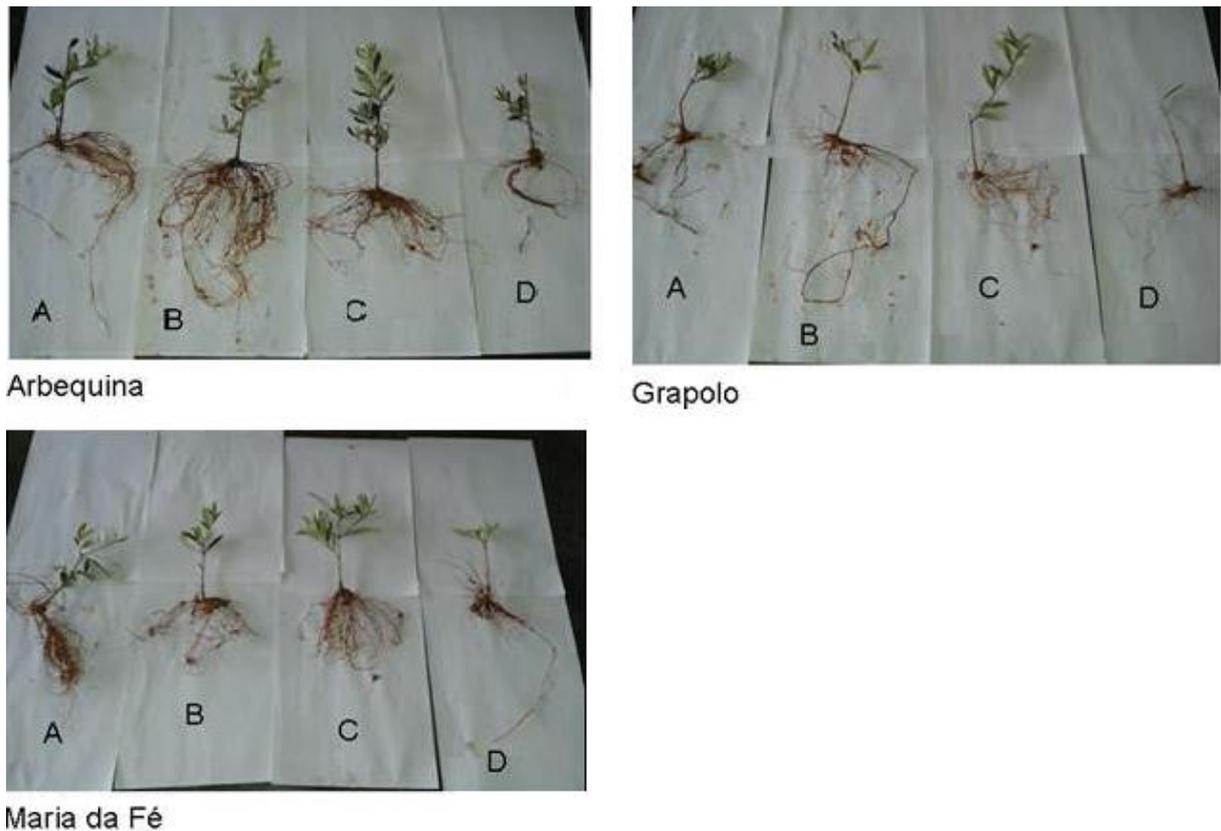


**Figura 9** – Escala de notas de intensidade de colonização radicular por FMAs, aumento de 40x.

A presença de estruturas fúngicas nas raízes e na rizosfera dos tratamentos sem inoculação também foi observada em outros trabalhos, como de Costa et al. (2001), podendo ser consequência de contaminação por fungos sapróbios, provenientes da água ou ar, uma vez que o substrato é autoclavado. Entretanto, Sylvia (1988) observa que um substrato autoclavado destrói os micélios ativos, mas permite a presença de micélio inativo ou morto no substrato, sendo praticamente impossível a distinção de micélio de fungos micorrízicos de interesse e de não micorrízicos.

Em estruturas fúngicas como micélio extraradicular total (MET), é recomendado por alguns autores que se desconte a quantidade de MET encontrada nos substratos-controle da quantidade avaliada no substrato infestado com FMAs. Entretanto, no presente trabalho não foi feito dessa maneira, uma vez que não se conhecem as interações dos mesmos em condições ambientais específicas (MELLONI; CARDOSO, 1999).

Para finalizar e facilitar a visualização, verifica-se, pela figura 11, que houve um aumento no crescimento das cultivares quando em conjunto com os diferentes FMAs.



**Figura 10** - Crescimento de cultivares de oliveira quando inoculadas com os fungos: *A. scrobiculata* (A); *G. clarum* (B); *G. rosea* (C); Controle sem fungo (D).

Nas condições experimentais, pode-se observar que há potencial de utilização de FMAs no crescimento de mudas de oliveira para as cultivares Arbequina e Grappolo 541(MGS GRAP 541). De posse dos resultados, pode-se inferir que, além do interesse agrônomo, há também interesse econômico e ambiental, uma vez que é possível reduzir o tempo de viveiro das mudas, fazendo com que as mudas inoculadas sejam comercializadas de forma antecipada àquelas cultivadas sem inoculação, além de possibilitarem maior resistência ao transplante, conforme indicado por outros pesquisadores, em culturas diversas (Costa et al., 2001; Meddad-Hamza et al, 2010).

Entretanto, propõe-se, após o presente trabalho, que um novo experimento seja conduzido, comparando a utilização dos FMAs de interesse com doses crescentes dos fertilizantes, a fim de poder inferir o real potencial de economia e crescimento das mudas nas condições comerciais, uma vez que houve fertilização homogênea dos substratos de todos os tratamentos apenas com solução de Hoagland e Arnon.

## 6 CONCLUSÕES

O enraizamento das estacas de oliveira das cultivares Arbequina, Grappolo (MGS GRAP541) e Maria da Fé (MGS MARIENSE) não respondeu à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (*Scutellospora heterogama*, *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea*, *Acaulospora scrobiculata* e *Glomus etunicatum*) e nem ao tratamento hormonal AIB, nas duas épocas estudadas (julho e maio).

O mesmo ocorre com o efeito combinado de fungos micorrízicos arbusculares com AIB. No entanto, mesmo com baixo enraizamento, na cultivar Arbequina, pode-se observar efeito positivo do fungo *G. rosea* na dose de 1 g L<sup>-1</sup> de AIB para o número de estacas calejadas. Na presença do mesmo fungo na dose 2 g L<sup>-1</sup> maior calejamento foi observado nas cultivares Arbequina e Maria da Fé (MGS MARIENSE).

As espécies de fungos micorrízicos arbusculares *Glomus clarum*, *Gigaspora rosea* e *Acaulospora scrobiculata*, nas condições experimentais, proporcionaram maior produção de massa seca da parte aérea para as cultivares Arbequina e Grappolo541 (MGS GRAP541), as quais foram mais responsivas e dependentes da inoculação do que Maria da Fé (MGS MARIENSE). Os tratamentos com os fungos *A. scrobiculata* e *G. rósea* apresentaram maior produção de massa seca das raízes, em relação à espécie *G. clarum* e à ausência de inoculação.

## 7 ANEXO

**Tabela 11** - Análise de Variância para o número de raiz.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,1493	0,2793 <sup>ns</sup>
Fungo	0,1488	0,2771 <sup>ns</sup>
Cultivar x Fungo	0,1948	0,1037 <sup>ns</sup>
Erro	0,1143	

**Tabela 12** - Análise de variância para comprimento das raízes.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,2969	0,4294 <sup>ns</sup>
Fungo	0,4716	0,2524 <sup>ns</sup>
Cultivar x Fungo	0,4881	0,2003 <sup>ns</sup>
Erro	0,3457	

**Tabela 13** - Análise de variância para número de calos

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,192	0,0*
Fungo	0,014	0,2005 <sup>ns</sup>
Cultivar x Fungo	0,03	0,1393 <sup>ns</sup>
Erro	0,013	

**Tabela 14** - Análise de variância para porcentagem de estacas enraizadas.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,029	0,1766 <sup>ns</sup>
Fungo	0,018	0,3585 <sup>ns</sup>
Cultivar x Fungo	0,029	0,0845 <sup>ns</sup>
Erro	0,016	

**Tabela 15** – Análise de variância para número de raízes na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB

fator de variação	QM	F
cultivar	0,02	0,81 <sup>ns</sup>
Fungo	0,05	0,69 <sup>ns</sup>
doses AIB	0,17	0,22 <sup>ns</sup>
cultivar x fungo	0,26	0,04*
cultivar x AIB	0,04	0,91 <sup>ns</sup>
Fungo x AIB	0,06	0,85 <sup>ns</sup>
Cultivar x fungo x AIB	0,1	0,57 <sup>ns</sup>
Erro	0,11	

**Tabela 16** - Análise de variância para comprimento de raízes na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB

Fator de variação	QM	F
cultivar	0,24	0,89 <sup>ns</sup>
Fungo	1,17	0,66 <sup>ns</sup>
doses AIB	2,91	0,27 <sup>ns</sup>
cultivar x fungo	4,48	0,06 <sup>ns</sup>
cultivar x AIB	0,97	0,89 <sup>ns</sup>
Fungo x AIB	1,45	0,79 <sup>ns</sup>
Cultivar x fungo x AIB	2,12	0,53 <sup>ns</sup>
Erro	1,23	

**Tabela 17** - Análise de variância para número de calos na interação entre os FMAs, cultivares e doses de AIB

Fator de variação	QM	F
cultivar	0,00	0,91 <sup>ns</sup>
Fungo	0,03	0,008*
doses AIB	0,03	0,002*
cultivar x fungo	0,02	0,007*
cultivar x AIB	0,00	0,62 <sup>ns</sup>
Fungo x AIB	0,01	0,02*
Cultivar x fungo x AIB	0,18	0,004*
Erro	0,008	

**Tabela 18** - Análise de variância massa seca da parte aérea

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,1028	0,0268*
Fungo	0,3736	0,0000*
Cultivar x Fungo	0,0499	0,0976 <sup>ns</sup>
Erro	0,0243	

**Tabela 19** - Análise de variância da massa seca da raiz

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	1,9565	0,0009*
Fungo	2,2535	0,0001*
Cultivar x Fungo	1,2436	0,3421 <sup>ns</sup>
Erro	0,2037	

**Tabela 20** - Análise de variância do número total de esporos.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,0921	0,0934 <sup>ns</sup>
Fungo	0,6624	0,0000*
Cultivar x Fungo	0,1305	0,0094*
Erro	0,0351	

**Tabela 21** - Análise de variância porcentagem de colonização.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,019	0,4969 <sup>ns</sup>
Fungo	0,6848	0,0000*
Cultivar x Fungo	0,0465	0,1505 <sup>ns</sup>
Erro	0,0264	

**Tabela 22** - Análise de variância intensidade de colonização.

Fator de Variação	QM	F
Cultivar	0,0266	0,0397*
Fungo	0,0893	0,0000*
Cultivar x Fungo	0,0056	0,5866 <sup>ns</sup>
Erro	0,0072	

**Tabela 23** - Análise de variância para comprimento de micélio extrarradicular total

Fonte de Variação	QM	F
Cultivar	2,85	0,68 <sup>ns</sup>
Fungo	43,11	0,003*
Cultivar x Fungo	4,3	0,73 <sup>ns</sup>
Erro	7,32	

## REFERÊNCIAS

ANVISA. Resolução RDC no 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento Técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 23 set. 2005.

BAREA, J.M., AZCÓN-AGUILAR, C. Production of plant growthregulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 43, p. 810-813, 1982.

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

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 and Developmental Biology-Plant**, v.43, p.473-478, 2007.

BONFIM, J. A.; MATSUMOTO, S. N.; FREITAS, G. B. de; SANTOS, R. H. S.; CÉSAR, F. R. C. F.; RESENDE, L. de A.; SANTOS, M. A. F.; SOUZA, A. J de J. Fungos Micorrízicos Arbusculares em cultivo de figo com adição de composto orgânico (BOKASHI) em Viçosa – MG. In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura/54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 2008, VITÓRIA. **Anais... XX Congresso Brasileiro de Fruticultura/54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, 2008.

CABALLERO, J. M. Endogenous rooting promoters and inhibitors for olive cultivars (*Olea europaea* L.): promotores e inibidores endogenos de la iniciacion radical en olivo (*Olea europaea* L.). **Anales Del Instituto Nacional de Investigaciones Agrárias**, Madrid, v. 11, p. 201-217, 1979.

CABALLERO, J. M. **Multiplicación del olivo por estaquillado semileñoso bajo nebulización**. Madrid: Comunicaciones I.N.I.A. p. 39, 1981.

CALVENTE R.; CANO C.; FERROL N.; AZCON-AGUILAR C.; BAREA J. M. Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (*Olea europaea* L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets. Agriculture,ecosystems & environment. **Applied Soil Ecology**, v.26, p. 11-19, 2004.

CAMILI, E. C.; SILVA, A. R. B.; MULLER, D. H.; FILHO, S. C.; CAMPOS, D. T. S. Fungos micorrízicos arbusculares na adubação fosfatada de melancia. **Pesquisa Aplicada e Agrotecnologia**, Guarapuava, v.5, p. 47 - 60, 2012.

CARDOSO, E.J.B.N. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha, em função do tipo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.10, p.17-23, 1986.

CARNEIRO, M. A. C. ; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; CARVALHO, D. ; BOTELHO, S. A.; SAGGIN JUNIOR, O.J. Micorriza Arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, Lavras, v.4, p. 129-145, 1998.

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

CONAB. **Balança do agronegócio**: importações do Agronegócio, Brasília, 2012.

CONAB. **Balança do agronegócio**: Indicadores do Agronegócio, Brasília, 2013.

COSME, M.; WURST, S. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi, hizobacteria, soil phosphorus and plant cytokinin deficiency change the root morphology, yield and quality of tobacco. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 57, p. 436-443, 2013.

COSTA, C. M. C.; MAIA, L. C.; CAVACALTE, U. M. T.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Influencia de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 893-901, 2001.

DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (eds.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1994.

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

FOO, E. Auxin influences strigolactones in pea mycorrhizal symbiosis, **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 523– 528, 2013.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. de. The contribution of N -fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p. 897-903, 1997.

GARDEMANN, J. W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: Torrey J. G.; CLARCKSON, D. T. (Ed.). **The development and function of roots**. London: Academic Press, p. 575-591, 1975.

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

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVER, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. 7. ed. New York: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, 1950. 347 p.

INVAM – International Culture Collection of Vesicular-arbuscular Mycorrhizal Fungy. Disponível em: HTTP: <[invam.caf.wvu.edu](http://invam.caf.wvu.edu)>. Acesso em: 06 de jan. 2014.

KABIR, Z.; O'HALLORAN, I. P.; FYLES, J. W.; HAMEL, C. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. **Plant and Soil**, The Hague, v. 192, p. 285-293, 1997.

KORMANIK, P. P.; BRYAN, W. C.; SCHULTZ, R. C. Procedures and equipment for staining large number of plant roots endomycorrhizal assay. **Canadian Journal of Microbiology**, Edmonton, v.26, p.536-538, 1980.

LEE, K.E. The functional significance of biodiversity in soils. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15. **Anais**. Acapulco: International Society of Soil Science, 1994. p. 168-182.

LOUSSERT, R.; BROUSSE, G. **El olivo**. Madrid: Mundi Prensa, 1980. 533p.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, p.89-102, 1994.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; ALBACETE, A.; PASCUAL, J. A. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, London, v. 72, p. 223–229, 2011.

MEDDAD-HANZA, A.; BEDDIAR, A.; GOLLOTE, 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, p. 1159-1167, 2010.

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

MELLONI, R. Quantificação microbiana da qualidade do solo. In: SILVEIRA, A. P.D; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas, Instituto agrônomo de Campinas, Cap. 11, p. 193–218, 2007.

MELLONI, R.; CARDOSO, E. J. B.N. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas - I: método empregado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 53- 58, 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, p. 267-276, 2003.

MILLER, R. M.; JASTROW, J. D. The application of VA Mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. In: ALLEN, M. F. (Ed.). **Mycorrhizal functioning**. New York: Chapman and Hall, p. 438-467, 1992.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Registro nacional de cultivares. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php)>. Acesso em: 06 de jan. 2014.

NETO, J. V.; OLIVEIRA, A. F. de; OLIVEIRA, N. C.; DUARTE, H. S. S.; GONCALVES, E. D. **Aspectos técnicos da cultura da oliveira**. 1. ed. Belo Horizonte: EPAMIG, v. 1. p. 10 - 14, 2008.

NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Plant growth and phosphorus uptake in mycorrhizal rangpur lime seedlings under different levels of phosphorus. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.93-99, 2006.

NUNES, J. L. S.; SOUZA, P. V. D.; MARODIN, G. A. B.; FACHINELLO, J. C. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e ácido indolbutírico sobre o desenvolvimento vegetativo de plântulas de porta-enxerto de pessegueiro “aldrighi”. **Ciências. agrotécologia**, Lavras, v. 34, p. 80-86, 2010.

OLIVEIRA, A.F. de; NETO, J.V.; ALVARENGA, A.A.; MESQUITA, H.A. de; GONÇALVES, E.D. Propagação da oliveira por enraizamento de estacas semilenhosas. **Boletim Técnico** n° 90, Belo Horizonte, EPAMIG, 2008. 48p.

OLIVEIRA, A.F.; CHALFUN, N.N.J.; ALVARENGA, A.A.; NETO, J. V.; 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, v. 33, p. 79-85, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; NETO, J. V. PIO, R.; OLIVEIRA, A. F.; RAMOS, J. D. Enraizamento de estacas de oliveira submetidas a aplicação de fertilizantes orgânicos e AIB. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 337-344, 2010a.

OLIVEIRA, M. C.; NETO, J. V.; OLIVEIRA, R. S.; PIO, R., OLIVEIRA, N. C.; RAMOS, J. D. Enraizamento de duas cultivares de oliveira submetidas a aplicação de diferentes fertilizantes. **Bragantia**, Campinas, v.69, p.99-103, 2010b.

PENG, S.; EISSENSTAT, D. M.; GRAHAM, J. H.; WILLIAMS, K.; HODGE, N. Growth Depression in Mycorrhizal Citrus at High-Phosphorus Supply. **Plant Physiologist**, Florida, v. 101, p. 1063 – 1071, 1993.

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

PIO, R.; BASTOS, D.C.; BERTI, A.J.; SCARPARE FILHO, J.A.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; ENTELMANN, F.A.; ALVES, A.S.R.; BETTIOL NETO, J. V. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) utilizando ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, p. 562-567, 2005.

PLANCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and soil**, The Hague, v. 70, p. 199- 209, 1983.

PORRAS PIEDRA, A.; SORIANO MARTÍN, M.L.; PORRAS SORIANO, A.; FERNÁNDEZ IZQUIERDO, G. Influence of arbuscular mycorrhizas on the growth rate of mistpropagated olive plantlets. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid v.3, p. 98-105, 2005.

RAPOPORT, H. F. Botánica y morfología. In: BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR, RALLO, L (Ed.). **El cultivo del olivo. rev. y amp. Servilha: Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta**. Andalucía/Madrid: Mundi-Prensa, p.35-60, 1998.

RAVEN, P.H., EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 6° Ed. 2001.

RIO, C.; CABALLERO, J. M. Caracterização de variedades de oliveira no banco mundial de germoplasma de Córdoba - Espanha. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.231, p.18-26, 2006.

RUSSOMANNO, O. M. R.; KRUPPA, P. C.; MINHONI, M. T.A. Influência de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas de alecrim e manjeriço. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, p. 37-43, 2008.

SANTOS-ANTUNES, A.F. As micorrizas e o crescimento das plantas: o caso da oliveira. Estação Nacional de Melhoramento de Plantas - Departamento de Olivicultura. **Melhoramento**, Elvas, v. 38, p. 223-230, 2002.

SILVA, E.M.R. da; SUDO, A.; ALMEIDA, D.L. de; MATOS, R.M.B.; PEREIRA, M.G.; BOVI, M.L.A.; MACHADO, C.T. de T. **Ocorrência e Efetividade de Fungos Micorrízicos em Plantas Cultivadas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Nov. 1998. 25p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 83).

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

SILVA, L.F.C.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teores de nutrientes de mudas de abacateiro, mangueira e mamoeiro sob influência de diferentes espécies de fungos micorrízicos vesículoarbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.15, p. 283-288, 1991.

SILVA, M. A.; CAVALCANTE, U. M .T.; SILVA, S. B. S.; SOARES, S. A. G.; MAIA, L. C. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (*Glomeromycota*). **Acta Botanica Brasileira**, Feira de Santana, v.18, p. 981-985, 2004.

SILVEIRA, A. P.D.; FREITAS, S.S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. Disponível em: [http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes\\_online/pdf/microbiota.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes_online/pdf/microbiota.pdf). Acesso em: 17 jun. 2013.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J. **The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL

STRESS: maize in perspective, 1995, Brasil: EMBRAPA/CIMMYT/UNDT, Brasil/México, p.240-280, 1995.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis** . 2nd. ed. London: Academic Press, 1997. 605p.

SOUZA, P. V. D.; AGUSTI, M.; ABAD, M.; ALMELA, V. Desenvolvimento vegetativo e morfologia radicular de citrange carrizo afetado por ácido indolbutírico e micorrizas arbusculares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 249-255, 2000.

SOUZA, P. V. D.; MORALES, C. F. G.; KOLLER, O. C.; BARRADAS, C. M. F.; SILVEIRA, D. F. Influência de substratos e fungos micorrízicos no enraizamento de estacas de laranjeiras (*Citrus sinensis* Osb. cv. Valência). **Pesquisa agropecuária gaucha**, Porto Alegre, v. 1, p. 37-40, 1995.

SYLVIA, D. M. Activity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam v. 20, p. 39-43, 1988.

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

WIESMAN Z.; LAVEES. Enhancement of IBA stimulatory effect on rooting of olive cultivar stem cuttings. **Scientia Horticulturae**, v.62, p.189-198, 1995.