

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**INOCULAÇÃO MICORRÍZICA: CONSEQUÊNCIAS NO
METABOLISMO E INTERFERÊNCIA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DE FRUTOS DE MORANGUEIRO NO
CULTIVO SEM SOLO NO BRASIL E NA ESPANHA**

ANA PAULA CECATTO

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, dezembro de 2014

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**INOCULAÇÃO MICORRÍZICA: CONSEQUÊNCIAS NO
METABOLISMO E INTERFERÊNCIA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DE FRUTOS DE MORANGUEIRO NO
CULTIVO SEM SOLO NO BRASIL E NA ESPANHA**

ANA PAULA CECATTO

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Oliveira Calvete - Brasil

Coorientadora: Profa. Dra. Fátima Martínez Ruiz - Espanha

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, dezembro de 2014



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

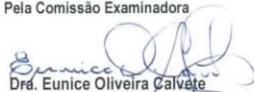
"Inoculação micorrizica: consequências no metabolismo e interferência na produção e qualidade de frutos de morangueiro no cultivo sem solo no Brasil e na Espanha"

Elaborada por

ANA PAULA CECATTO

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
"Doutora em Agronomia – Área de Produção Vegetal"

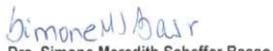
Aprovada em: 15/12/2014
Pela Comissão Examinadora


Dra. Eunice Oliveira Calvate
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora


Dr. Flávio Henrique Reginatto
UFSC


Dra. Fátima Martínez Ruiz
Universidad de Huelva - Espanha


Dr. Pedro Alexandre Varella Esposteguy
FAMV/UPF


Dra. Simone Meredith Scheffer Basso
Coordenadora PPGAgro


Dr. Hélio Carlos Rocha
Diretor FAMV


Dr. Pedro Palencia García
Universidad de Oviedo - Espanha

CIP – Catalogação na Publicação

C387i Cecatto, Ana Paula

Inoculação micorrízica: consequências no metabolismo e interferência na produção e qualidade de frutos de morangueiro no cultivo sem solo no Brasil e na Espanha / Ana Paula Cecatto. – Passo Fundo, 2014.

155 f. : il. ; 30 cm.

“Orientadora: Prof^ª Dr^ª Eunice Oliveira Calvete - Brasil”.

“Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Fátima Martínez Ruiz – Espanha”

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2014.

Inclui bibliografia e apêndice.

1. Morangos – Cultivo sem solo. 2. Morangueiro – Qualidade. 3. Morangos – Produtividade. 4. Fungos micorrízicos. I. Calvete, Eunice Oliveira, orientadora. II. Ruiz, Fátima Martínez, coorientadora. III. Título.

CDU 634.75

Catalogação: Rosimere Teresinha Marx Griebler – CRB 10/1425

"Não desista enquanto você ainda for
capaz de fazer um esforço a mais. É
nesse algo a mais que está a sua vitória."

Roberto Shinyashiki

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar sempre olhando por mim, iluminando meus caminhos e acima de tudo por me permitir terminar mais essa etapa importantíssima da minha vida profissional com saúde.

À minha família, pai Olivo, mãe Lori, irmãs Fabiane e Cristiane e aos cunhados Marcelo e Lucas que sempre me apoiaram e incentivaram. As minhas afilhadas Helena e Beatriz que tantas vezes me fizeram rir quando me sentia desanimada.

Ao meu namorado Fábio que foi o maior incentivador, dando força sempre e que com muita paciência continuou ao meu lado. Aos meus sogros Atílio e Beatriz que muitas vezes foram pais para mim, me aconselhando e encorajando a atingir minhas metas e sonhos.

À minha orientadora, professora Doutora Eunice Calvete que me recebeu de braços e coração abertos desde o mestrado, e que não mediu esforços em repassar todo seu conhecimento. Foi um prazer enorme conhece-la e um privilégio ter podido trabalhar com você, uma profissional excelente, e acima de tudo amiga.

Ao comitê de orientação, professores Doutores Pedro Alexandre Varella Escosteguy e Flávio Henrique Reginatto, pelos conselhos, ensinamentos e por sempre estarem a disposição quando foi preciso.

Aos colegas do laboratório de ecofisiologia vegetal e aos demais colegas da pós-graduação pela convivência, troca de ideias e experiências vividas.

A todos os professores e funcionários do programa de Pós-Graduação em Agronomia da UPF.

A FAPERGS e a CAPES pela concessão das bolsas de manutenção e doutorado sanduíche realizado na Espanha.

Quiero decir también, mis muchas gracias al pueblo español. Las muchas personas en todos los sitios que yo estuve y que de alguna manera permanecerán en mi memoria para siempre. Es una gente maravillosa, alegre y muy simpática.

Muchas Gracias a profesora Doctora Fátima Martínez, por todo el conocimiento que repartió conmigo y amistad. Fue mi madre en España. Al profesor Doctor Pedro Palencia por todo conocimiento, amistad y claro por toda paciencia con la chica brasileña.

A Jesús Martínez, por todos los días que fue a tomar un “cafelito” conmigo, las muchas horas de charlas, risas, cine y también de trabajo. La familia de Jesús, que me dio la bienvenida y me hizo sentir parte de su familia. Así como, al cura Juan. Muchas Gracias por todo.

La familia del Colegio Mayor Universitario San Pablo: Domingo Javier Carvajal Gomez, Lucía Fernández Carrasco, Paco, Manuel Ventura Corchero y todos los demás. Deseo mucho éxito a todos y que Dios esté siempre con vosotros!

También agradezco a profesora Doctora Maria del Carmen por la oportunidad de visitar la Universidad de Almería y aprender nuevas técnicas de análisis. El amigo malagueño, Luis, gracias por sus palabras de aliento y la compañía en Almería.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	1
ABSTRACT	3
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Atributos de qualidade dos frutos.....	11
2.1.1 Características físico-químicas.....	12
2.1.2 Características funcionais.....	14
2.2 Atributos fisiológicos e enzimáticos	16
2.2.1 Teor relativo de clorofila.....	16
2.2.2 Celulases.....	17
2.2.3 Lacases	18
2.3 Fungos micorrízicos arbusculares	19
2.3.1 Fungos micorrízicos arbusculares no cultivo do morangueiro..	20
CAPÍTULO I	23
RESUMO	23
ABSTRACT	24
1 INTRODUÇÃO	25
2 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Materiais, local e condições de cultivo	29
2.2 Delineamento experimental.....	31
2.3 Avaliações	32
2.3.1 Percentagem de colonização radicial e dependência micorrízica	32
2.3.2 Rendimento de frutos	34
2.3.3 Características físico-químicas.....	34
2.3.4 Antocianinas e compostos fenólicos	35
2.3.5 Determinações do crescimento.....	36
2.4 Análise estatística	37
3 RESULTADOS	37
3.1 Percentagem de colonização radicial e dependência micorrízica.	37
3.2 Rendimento de frutos	41
3.3 Características físico-químicas.....	44
3.4 Antocianinas e compostos fenólicos	47
3.5 Determinações de crescimento.....	52
4 DISCUSSÃO	56

5 CONCLUSÕES	60
CAPÍTULO II.....	61
RESUMO	61
ABSTRACT	62
1 INTRODUÇÃO	63
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	66
2.1 Local e condições de cultivo	66
2.2 Delineamento experimental.....	69
2.3 Avaliações	69
2.3.1 Porcentagem de colonização e dependência micorrízica em morangueiro.....	69
2.3.2 Determinações do crescimento das plantas	70
2.3.3 Atributos fisiológicos e enzimáticos	71
2.3.4 Rendimento	73
2.3.5 Características físico-químicas.....	74
2.3.6 Conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos	75
2.3.7 Avaliações pós-colheita.....	76
2.4 Análise estatística	77
3 RESULTADOS.....	77
3.1 Colonização e dependência micorrízica	77
3.2 Determinações de crescimento	80
3.3 Atributos fisiológicos e enzimáticos	81
3.4 Rendimento	85
3.5 Características físico-químicas.....	87
3.6 Conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos	91
3.7 Avaliações pós-colheita.....	95
4 DISCUSSÃO	99
5 CONCLUSÕES	110
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	111
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
APÊNDICES	133

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I: Isolados micorrízicos aumentam os teores de antocianinas e compostos fenólicos em frutos de morangueiro no cultivo em substrato no Brasil

Tabela		Página
1	Análise química básica do substrato Mec Plant Horta 2 [®] , realizada pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Passo Fundo, FAMV/ UPF, 2013.	30
2	Análise de micronutrientes mais enxofre do substrato Mec Plant Horta 2 [®] , realizada pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	30
3	Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média ± desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	53
4	Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média ± desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	54
5	Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média ± desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	55

CAPITULO II: Influência da época de inoculação micorrízica no desenvolvimento, produção, características físico-químicas de frutos e bioquímicas de plantas de morangueiro no cultivo fora do solo na Espanha

Tabela		Página
1	Especificações técnicas do substrato fibra de coco.	67

	Huelva, Univ. de Huelva, 2014.	
2	Colonização micorrízica em plantas de morangueiro em cultivo sem solo ao final do ciclo produtivo. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.	79
3	Determinação do crescimento em três cultivares de morangueiro na presença e ausência de FMAs no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.	82
4	Massas frescas e secas de plantas de três cultivares de morangueiro na presença e ausência de FMAs no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.	83
5	Teor relativo de clorofila (TRC), índice de área foliar (IAF), e enzimas celulase e lacase em plantas de morangueiro na presença e ausência de FMAs no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.	84
6	Número de frutos, massa fresca de frutos por planta e peso médio de frutos de morangueiro em cultivo sem solo com inoculação micorrízica. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.	86
7	Diâmetro, firmeza e pH em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculados com fungos micorrízicos em duas épocas. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.	89
8	Acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), relação SST/ATT e vitamin C em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculados com fungos micorrízicos em duas épocas. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.	90
9	Relação entre as características físico-químicas, baseado nos coeficientes de correlação (r), e épocas de inoculação micorrízica em morangueiro no cultivo fora do solo. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.	94
10	Conteúdo de antocianinas* em frutos durante a colheita e pós-colheita em três cultivares de	97

	morangueiro com inoculação micorrízica e na ausência desta, produzidas no cultivo fora do solo. Huelva,Univer. de Huelva,2014	
11	Conteúdo de fenólicos totais* em frutos durante a colheita e pós-colheita em três cultivares de morangueiro com inoculação micorrízica e na ausência desta, produzidas no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.	98

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I: Isolados micorrízicos aumentam os teores de antocianinas e compostos fenólicos em frutos de morangueiro no cultivo em substrato no Brasil

Figura		Página
1	Colonização inicial, final e dependência micorrízica das cultivares Albion (Ensaio I) e Aromas (Ensaio II) em cultivo em substrato. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	38
2	Estruturas micorrízicas em raízes de morangueiro da cultivar Albion (Ensaio I) ao final do ciclo. (Al ₁) controle, (Al ₂) Rhizanova [®] , (Al ₃) <i>A. morrowiae</i> , (Al ₄) <i>C. etunicatus</i> , (Al ₅) <i>R. clarus</i> , (Al ₆) <i>S. heterogama</i> . H = hifas, V = vesículas, Ar = arbúsculos. Passo Fundo, FAMV/UPF.	39
3	Estruturas micorrízicas em raízes de morangueiro da cultivar Aromas (Ensaio II) ao final do ciclo. (Ar ₁) controle, (Ar ₂) Rhizanova [®] , (Ar ₃) <i>A. morrowiae</i> , (Ar ₄) <i>C. etunicatus</i> , (Ar ₅) <i>R. clarus</i> , (Ar ₆) <i>S. heterogama</i> . H = hifas, V = vesículas, Ar = arbúsculos. Passo Fundo, FAMV/UPF.	40
4	Número de frutos totais (NFT) (A), massa fresca de frutos (MFF) (B), número de frutos comerciais (NFC) (C), massa fresca de frutos comerciais (MFFC) (D), número de frutos deformados (E), massa fresca de frutos deformados (F), massa fresca média de frutos totais (MFMFT) (G) e massa fresca média de frutos comerciais (MFMFC) (H), em dois experimentos ao longo do ciclo de duas cultivares de morangueiro produzidas em substrato. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	42
5	Número de frutos comerciais (NFC) (A) e massa fresca média de frutos totais (MFMFT) (B) de plantas de morangueiro da cultivar Albion cultivadas em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média ± desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	43

6	Diâmetro (A), sólidos solúveis totais (SST) (B), relação SST/ATT (C), acidez total titulável (ATT) (D) e pH (E) durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	45
7	Acidez total titulável (ATT) em frutos de morango inoculados com fungos micorrízicos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	46
8	Conteúdo de antocianinas durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	48
9	Conteúdo de antocianinas em frutos de morangueiro, de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	49
10	Conteúdo de fenólicos totais durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	50
11	Conteúdo de fenólicos totais em frutos de morangueiro, de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.	51

CAPITULO II: Influência da época de inoculação micorrízica no desenvolvimento, produção, características físico-químicas de frutos e bioquímicas de plantas de morangueiro no cultivo fora do solo na Espanha

Figura		Página
1	Visualização microscópica radicial da cultivar Fortuna ao final do ciclo de produção. (A) Planta controle; (B) Planta inoculada no transplante; (C) Planta inoculada 30 DAT. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.	78
2	Dependência micorrízica em morangueiro no	80

- 3 cultivo sem solo ao final do ciclo produtivo. Média \pm desvio padrão. Huelva, Univ. de Huelva, 2014.
Comportamento produtivo de três cultivares de morangueiro em sistema de cultivo sem solo inoculadas com fungos micorrízicos. Huelva, Univer. de Huelva, 2014. 87
- 4 Médias \pm desvio padrão de antocianinas e compostos fenólicos em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculado com fungos micorrízicos em diferentes épocas. (A) Conteúdo de antocianinas. * expresso em cianidina-3-glicosídeo. (B) Conteúdo de fenólicos totais. ** expresso em ácido gálico. Médias com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre tratamentos. Médias com letra maiúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre cultivares. Huelva, Univer. de Huelva, 2014. 92

**INOCULAÇÃO MICORRÍZICA: CONSEQUÊNCIAS NO
METABOLISMO E INTERFERÊNCIA NA PRODUÇÃO E
QUALIDADE DE FRUTOS DE MORANGUEIRO NO
CULTIVO SEM SOLO NO BRASIL E NA ESPANHA**

ANA PAULA CECATTO¹

RESUMO – O cultivo sem solo e em ambiente protegido do morangueiro permite menores aplicações de fungicidas e inseticidas, permite elevar a produtividade e qualidade dos frutos, especialmente pelo maior número de plantas e pela proteção que o ambiente proporciona ao cultivo. O uso de fungos micorrízicos arbusculares é uma tecnologia auxiliar, proporcionando melhor absorção de nutrientes e estimulando o sistema de defesa das plantas. Estimula ainda, maior síntese de compostos fenólicos. Empregando o uso de micorrizas em cultivo sem solo em ambiente protegido, diminui os custos de produção e torna o sistema de cultivo ainda mais sustentável e comprometido com o meio ambiente. O capítulo I foi originado de experimentos realizados na Universidade de Passo Fundo. O capítulo II é oriundo de experimento realizado na Universidade de Huelva localizada na Espanha. Os experimentos no Brasil consistiram em identificar o inóculo micorrízico que atua positivamente na cultura do morangueiro em substrato e verificar se há a influência dos meses de cultivo sobre a efetividade do fungo. O experimento realizado na

¹ Química Industrial de Alimentos, doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Área de Concentração em Produção Vegetal.

Espanha consistiu em determinar a melhor época para a inoculação micorrízica e verificar se a época influencia no desenvolvimento, produção, características físico-químicas e fitoquímicas dos frutos e nas características bioquímicas das plantas de morangueiro quando cultivado em fibra de coco. Para tal empregou-se como meio de cultivo o substrato comercial MecPlant Horta 2 (Brasil) e fibra de coco (Espanha), acondicionados em sacos de polietileno, suspensos por bancadas. As variáveis analisadas nos experimentos realizados no Brasil foram: percentagem de colonização e dependência micorrízica, rendimento de frutos, características físico-químicas, antocianinas, compostos fenólicos e determinações do crescimento das plantas. NO experimento realizado na Espanha, as variáveis analisadas foram: teor relativo de clorofila (SPAD), vitamina C, compostos fenólicos e atividade enzimática, através da determinação de celulase e lacase. Determinou-se também o comportamento dos frutos pós-colheita e avaliaram-se as variáveis relacionadas com o crescimento do cultivo. O isolado de *Rhizophagus clarus* atua positivamente na cultura do morangueiro, influenciando na maior produção de frutos comerciais, maior produção de ácido cítrico nos frutos oriundos da cultivar Albion e maior teor de compostos fenólicos nos frutos de Albion e Aromas, quando cultivada no Brasil. Os isolados *Acaulospora morrowiae* e *Scutelospora heterogama* e o produto comercial aumentam os conteúdos de antocianinas nos frutos das cultivares Albion e Aromas, produzidas no Brasil. A época de inoculação de fungos micorrízicos não influencia no desenvolvimento, rendimento e produção de enzimas em plantas de morangueiro cultivadas fora do solo na Espanha. Somente interfere nos teores de antocianinas e compostos

fenólicos dos frutos na colheita e na pós-colheita. Dentre as cultivares utilizadas na Espanha, a cultivar Fortuna possui dependência micorrízica e estabelece associações simbióticas com o inoculante comercial, refletindo em rendimento.

Palavras-chave: *Fragaria x ananassa* Duch., *Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglobus etunicatus* e *Rhizophagus clarum*, rendimento, SPAD, nitrogênio peciolar, celulase, lacase, fenólicos, antocianinas, colheita, pós-colheita.

**MYCORRHIZAL INOCULATION: CONSEQUENCES IN
METABOLISM AND INTERFERENCE IN
STRAWBERRY FRUIT PRODUCTION AND QUALITY IN
SOILLESS CULTURE IN BRAZIL AND SPAIN**

ABSTRACT: The soilless cultivation and in a protected environment to strawberry plant allows lower application of fungicides and insecticides, it allows productivity and quality to fruits, mainly by a bigger number of plants and by the protection given by the environment. Arbuscular mycorrhizal fungi use is an auxiliary technology that provides a better nutrient absorption and stimulates the plant defense system. It also stimulates a bigger synthesis of phenolic composite. Using mycorrhiza in a soilless cultivation and in a protected environment, production costs decrease and the cultivation system is better sustainable and committed to the environment. Chapter I is from Passo Fundo University experiments. Chapter II is from Huelva University experiments in Spain. Experiments in Brazil

were to identify mycorrhizal inoculum that acts positively in growing of strawberry in substrate and verify if there is influence of the month of cultivation by the fungi effect. The experiment in Spain was to determine the best period to mycorrhizal inoculation and to verify if this period makes influence in the development, production, physical and chemical characteristics and phytochemical of fruit and in the biochemical characteristics of strawberry plants when they cultivated in coconut fiber. To do that, it was used how a cultivation form the commercial substrate MecPlant Horta 2[®] (Brazil) and coconut fiber (Spain), in polyethylene bags, suspended in countertops. The analyzed assumptions in experiments in Brazil were: colonization percentage, mycorrhizal dependence, incoming of fruits, physical and chemical characteristics, anthocyanin, phenolic composites and determination in plant growing. In the experiment in Spain, analyzed assumptions were: relative content of chlorophyll (SPDA), vitamin C, phenolic composites and enzymatic activity, by the determination of cellulose and laccase. It also determined the behavior of postharvest fruits and considered the assumptions related to cultivation growing. The isolation of *Rhizophagus clarus* acts positively in strawberry plant, making influence in a bigger production of commercial fruit, a bigger production in Albion plants, and in a bigger content of phenolic in Albion and Aroma fruits, when they are produced in Brazil. The isolation of *Acaulospora morrowiae* and *Scutellospora heterogama* and commercial product increase the anthocyanin in Albion and Aroma fruits produced in Brazil. The period of inoculation of mycorrhizal fungi doesn't change the development, incoming and production of enzymes in strawberry plants soilless cultivated in

Spain. It just interferes in anthocyanin contents and in phenolic composites in fruit during the harvest and after that. Among the hybrid variety used in Spain, Fortuna has mycorrhizal dependence and makes symbiotic association to commercial inoculant showing incoming.

Key words: *Fragaria x ananassa* Duch, *Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglosum etunicatus* and *Rhizophagus clarum*, yield, SPAD, petiole nitrogen, cellulase, laccase, phenolics, anthocyanins, harvest and postharvest.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do morangueiro iniciou no século XIV, na Europa, como uma planta de uso ornamental e medicinal. Porém no século XVIII, com a hibridização natural das espécies *Fragaria virginiana* e *Fragaria chiloensis*, surgiu a espécie cultivada denominada *Fragaria x ananassa* Duch. cujo cultivo estendeu-se por quase toda a Europa e Américas (PASSOS, 1999).

A partir daí, o morango atualmente cultivado (*Fragaria x ananassa* Duch.), tornou-se uma das frutomas apreciadas e valorizadas no mundo. Hoje, além de ser amplamente utilizado na indústria alimentícia, é matéria-prima também na indústria de cosméticos, aromas e fragrâncias, sendo assim considerada como uma cultura com grandes aplicações industriais.

Na safra 2012-2013, a produção mundial de morangos atingiu valores superiores a 4 milhões de toneladas em aproximadamente 241 mil hectares (FAOSTAT, 2014). As Américas,

a Europa e Ásia são responsáveis pela produção de 90,4% da totalidade dos frutos (FAOSTAT, 2014). Ainda segundo esses dados, a produção de morangos nas Américas atingiu, na safra em questão, quase 2 milhões de toneladas. A Europa, segundo maior produtor mundial, foi responsável pela produção de pouco mais de 1 milhão de toneladas enquanto que a Ásia, produziu 800 mil toneladas.

Dentre os principais países produtores estão os Estados Unidos, com 1,3 milhões de toneladas e a Espanha com 289 mil toneladas do fruto. Atualmente, a Espanha é a líder europeia na produção de morangos e a quarta maior produtora em nível mundial, atrás dos Estados Unidos, México e Turquia. A região Andaluza é a principal produtora de frutose hortaliças da Europa e a província de Huelva, a principal produtora de morangos da Espanha. A província de Huelva possui atualmente cerca de 7.330 hectares do fruto, concentrando praticamente a totalidade da produção regional (99,4%) (CONSEJERÍA de AGRICULTURA, 2014), o que nos dá a dimensão da importância econômica desse cultivo para a província onubense.

Nas Américas, mais precisamente na América do Sul, estima-se que o cultivo do morangueiro ocupe uma área superior a 11 mil hectares e que a produção esteja próxima a 319 mil toneladas (ANTUNES & PERES, 2013). Contudo, neste cenário, a produção brasileira encontra-se muito abaixo dos principais países produtores. Atualmente a produção nacional de frutos gira em torno de 3 mil toneladas, porém observa-se um crescente avanço, devido às condições naturais favoráveis para o cultivo e pela produção em quase todos os meses do ano (ANTUNES & REISSER JÚNIOR, 2007a). Os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul são

responsáveis por 40, 25 e 15%, respectivamente, de toda a fruta produzida no Brasil (REISSER-JÚNIOR et al., 2010). No Rio Grande do Sul, terceiro Estado maior produtor nacional, a cultura do morangueiro experimentou significativos avanços na produtividade, em função dos avanços tecnológicos, como o cultivo fora do solo e cultivares mais adaptadas. A introdução de novas e melhores tecnologias de cultivo podem elevar a produção em até 70 t ha⁻¹ (COSTA et al., 2011).

A escolha da cultivar é de extrema importância para uma maior produtividade e qualidade de frutos. Características como florescimento, início da frutificação, arquitetura de planta, resistência a pragas e doenças, frutos grandes com boa aparência e doçura (SANTOS & RIOS, 1999), altos teores de vitaminas e frutos resistentes a podridões são características consideradas pelos produtores na escolha da cultivar (CASTRO, 2002).

Na Espanha, as cultivares de morangueiro predominantes na província de Huelva até 2012 foram Candonga e Camarosa, ambas de Dias Curtos. No entanto, observou-se que houve uma troca nas cultivares, aumentando a procura por genótipos mais precoces, como é o caso de Fortuna, Sabrina e Splendor, também cultivares de Dias Curtos. Na safra 2012/2013, as três cultivares citadas ocuparam 69,4% da superfície cultivada (CONSEJERÍA de AGRICULTURA, 2013).

No Brasil, as principais cultivares utilizadas são Oso grande (50%), Camarosa (30%), Albion (6%) e Aromas (4%) que estão distribuídas em campo aberto e em cultivo sem solo (ANTUNES & PERES, 2013). As mudas utilizadas pelos produtores no Rio

Grande do Sul são oriundas 90% do Chile e Argentina (OLIVEIRA & SCIVITTARO, 2009).

Há muitos anos o cultivo convencional do morangueiro no solo vem enfrentando problemas, principalmente ergonômicos e sanitários. Ergonômicos devido as frequentes colheitas junto ao solo e sanitários em função do controle de patógenos com produtos químicos altamente contaminantes, principalmente nos Estados Unidos e Europa, (GIMÉNEZ et al., 2008), como o brometo de metila, 1,3 dicloropropeno e o metan sódio (BENÍTEZ et al., 2012). No entanto, com a proibição do uso de brometo em 2005 iniciou-se uma busca por alternativas mais sustentáveis (GARCÍA-RUIZ et al., 2013). Algumas abordagens incluíram a criação e/ou mudança das práticas culturais empregadas e, nos últimos anos, devido ao grande apelo agroecológico, estudos sobre o controle biológico de pragas e doenças voltou a ser o foco de pesquisas (NORMAN & HOOKER, 2000).

O cultivo sem solo e em ambiente protegido sobre bancadas é uma das alternativas apontadas para superar essas dificuldades. Esse sistema permite ainda aumentar a densidade de plantas e a produtividade, diminuindo os custos da lavoura (CALVETE et al., 2007). Além disso, a utilização de microrganismos com potencial para o controle biológico, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), estão sendo pesquisados como mais uma alternativa para o sistema produtivo do morangueiro, uma vez que a colonização micorrízica estimularia o sistema de defesa primário da planta aumentando sua tolerância a estresses bióticos e abióticos (Vos et al., 2012). Ademais, os FMAs estimulam o crescimento e

rendimento de inúmeras espécies de plantas (FOLLI-PEREIRA et al., 2012; LÓPEZ-RÁEZ et al., 2010).

Algumas influências dos FMAs na cultura do morangueiro já foram relatadas na bibliografia, como sua influência no crescimento das plantas (VESTBERG et al. 2004), aumento do número de estolões (NIEMI & VESTBERG, 1992), aumento da tolerância contra patógenos (MATSUBARA et al., 2009; VOS et al., 2012) e estresse hídrico (BOROWICZ, 2010), aumento na produção de compostos fenólicos e melhora da qualidade dos frutos (LINGUA et al., 2013; CASTELLANOS-MORALES et al., 2010) além do aumento da produção (DOUDS et al., 2008). No entanto, estudos com inoculação dos FMAs, realizada em cultivo sem solo são incipientes, sendo na maioria dos casos estudos de aclimatização de plantas micropropagadas (ALARCÓN et al., 2001; TAYLOR & HARRIER, 2001; CASSELLS et al., 1996; VESTBERG, 1992; CHÁVEZ & FERRERA-CERRATO, 1990; HRSELOVÁ et al., 1988).

Para elucidar algumas perguntas, foram realizados experimentos Brasil e na Espanha para observar o desempenho da cultura do morangueiro em sistema de cultivo sem solo com a inoculação de isolados de FMAs, bem como de produtos comerciais a base desses fungos.

Para tal, procurou-se atingir e responder aos seguintes objetivos:

- 1) identificar o inóculo micorrízico que atua positivamente na cultura do morangueiro em substrato
- 2) verificar se há a influência dos meses de cultivo sobre a efetividade do fungo

- 3) determinar a melhor época para a inoculação micorrízica
- 4) verificar se a época de inoculação influencia no desenvolvimento, produção, características físico-químicas e fitoquímicas dos frutos e nas características bioquímicas das plantas de morangueiro quando cultivado em fibra de coco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Atributos de qualidade dos frutos

A qualidade dos morangos, hoje, representa um elemento extremamente importante e cada vez mais é protagonista em programas de melhoramento genético. Assim, frutos mais firmes, mais resistentes a manipulação e a podridões conferem maior vida útil atendendo dessa forma as expectativas comerciais. Por outro lado, frutos maiores, de coloração mais avermelhada e plantas com elevada produção e tolerância às doenças atendem a qualidade esperada pelos produtores. Em contrapartida, para os consumidores, o tamanho, cor e aparência são os fatores que mais influenciam na aceitação num primeiro momento, depois a doçura, acidez e o aroma tornam-se aspectos levado em consideração na escolha pelos melhores frutos.

Com relação à qualidade nutricional e funcional do morango, Rocha et al (2008) destacaram sua ação antioxidante, a capacidade de reduzir a suscetibilidade a infecções, o seu efeito diurético e sua atividade anti-inflamatória em reumatismo e gota. Dentre as substâncias benéficas estão o ácido ascórbico, presente na polpa e os compostos fenólicos.

Dessa forma, a caracterização físico-química, nutricional e funcional dos frutos é de grande importância quando se investiga o comportamento de cultivares em uma determinada região, pois ela permite obter informações sobre a qualidade do produto final (COSTA, 2012). Além disso, devido ao fato dos frutos serem classificados como não climatéricos e altamente perecível por

possuírem alta intensidade respiratória e de transpiração (FLORES-CANTILLANO, 2003), ações para se manter a qualidade do fruto, até atingir o consumidor, devem ser tomados já na pré-colheita e mantidos na pós-colheita. O acondicionamento é uma dessas ações que merecem especial atenção, principalmente visando um período de comercialização mais prolongado (FLORES-CANTILLANO et al., 2008).

2.1.1 Características físico-químicas

O sabor é condicionado principalmente pela relação de ácidos orgânicos e teor de açúcares. Uma relação entre o teor de açúcar e ácidos alta indica que há um maior equilíbrio entre o doce e o ácido, o que proporciona frutos de sabor mais agradável. Os ácidos são responsáveis pela regulação do pH celular, influenciando diretamente na formação dos pigmentos, entre eles as antocianinas, responsáveis pela coloração vermelho-intenso dos frutos (LIMA, 1999). Nos frutos maduros há maior concentração de ácido cítrico (0,64 – 1,15%), apesar de ter-se identificado quantidades significativas também de ácido málico (PINELI et al., 2011). A tendência é que a acidez diminua com o amadurecimento dos frutos devido a sua utilização no ciclo de Krebs ou seu emprego na transformação de açúcares no processo respiratório (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O teor de açúcares dos frutos é formado 99% por uma mistura de dois açúcares simples, frutose e glicose (CHITARRA & CHITARRA, 2005) sendo influenciado principalmente pela

intensidade de luz incidente na planta (SANTOS & RIOS, 1999). Além disso, varia em função da cultivar, estágio de maturação e clima (FLORES-CANTILLANO, 2006) e de maneira oposta a acidez, seus teores aumentam com o avanço da maturação.

A cor é o atributo sensorial mais importante para a aceitação do produto. Geralmente, num primeiro momento, é através deste atributo que as frutose hortaliças são julgadas quanto a sua qualidade. É o principal parâmetro utilizado na determinação do ponto de colheita. Segundo Flores-Cantillano (2006) os frutos do morangueiro devem apresentar entre 50% a 75% de sua superfície de cor vermelho-brilhante no ato da colheita.

Com relação à firmeza, esta é determinada pela estrutura das substâncias pécicas, também chamadas de cimento celular. Também é um importante aspecto de qualidade por estar relacionado com a capacidade de armazenamento e vida útil. Com o avanço da maturação, os frutos vão diminuindo a firmeza e com isso amolecendo os tecidos devido a solubilização das substâncias pécicas (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

O morango apresenta altas concentrações de substâncias antioxidantes, como o ácido ascórbico (vitamina C) e o ácido elágico (ATKINSON et al., 2006). Em morangos a vitamina C encontra-se em concentrações de 39 a 89 mg 100 g⁻¹ (VIZZOTTO, 2012), sendo determinadas principalmente pelo genótipo, condições de cultivo e forma de armazenamento (LEE & KADER, 2000). É a mais instável das vitaminas, por ser sensível aos agentes físico-químicos, como luz, oxigênio e calor, altas temperaturas e longos períodos de armazenamento aceleram sua perda (BRACKMANN et al., 2011).

Ainda participa na formação do colágeno, síntese de epinefrina, corticoesteróis e ácidos biliares. É cofator enzimático, participando de processos de óxido-redução, aumentando a absorção de ferro e na inativação de radicais livres (ARANHA et al., 2000).

2.1.2 Características funcionais

Uma característica típica das plantas é a capacidade de produzir uma ampla gama de metabólitos secundários, compostos presentes em células especializadas que não são essenciais à fotossíntese ou metabolismo respiratório, mas são necessários para a sobrevivência e/ou adaptabilidade das plantas no meio ambiente. Os compostos fenólicos são os metabólitos secundários mais comuns dos morangos (CHEYNIER et al., 2013) e agem como compostos bioativos por apresentarem funções fisiológicas e bioquímicas à saúde do homem. Também, são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos. Embora a vitamina C seja considerada como o maior contribuinte na atividade antioxidante, Sun et al. (2002) demonstraram que a contribuição da vitamina C na determinação da atividade antioxidante de onze frutíferas (morango, uva, maçã, abacaxi, pêssego, entre outras) é baixa e, afirmaram que a maior contribuição para a atividade antioxidante total de frutos se deve à composição de compostos fitoquímicos, principalmente aos pigmentos antocianínicos.

As antocianinas, do grego *anthos* (flor) e *kyanos* (azul), são os pigmentos mais importantes de plantas vasculares. Compõem um importante grupo de pigmentos vegetais solúveis em água, sendo

responsáveis pela maioria das cores azul, violeta, alaranjada, rosa e vermelha que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes. Acumulam-se nos vacúolos das plantas em que estão presentes, e sua estabilidade e cor dependem de condições intravasculares, como pH, copigmentação, coexistência de flavonóides incolores e formação de complexos com íons metálicos (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

Tratando-se de antocianinas, o morango possui um perfil simples com poucos pigmentos principais (LINGUA et al., 2013). A concentração total de antocianinas em frutos maduros de morango pode variar entre 200 e 600 mg kg⁻¹ (FAZEELAT et al., 2007). No entanto, concentrações mais baixas também já foram relatadas (DA SILVA et al., 2007; TULIPANI et al., 2008). Logo, o que se pode observar é que variações qualitativas e quantitativas sobre o perfil das antocianinas ocorrem entre as cultivares ou mesmo dentro das mesmas de acordo com o grau de maturação, pós-colheita, armazenamento e fatores climáticos (TULIPANI et al., 2008). Podendo também variar de acordo com a metodologia de análise empregada.

Com base na literatura citamos alguns valores obtidos para compostos fenólicos, antocianinas e flavonóides.

Aaby et al. (2012) caracterizaram e quantificaram por HPLC os compostos fenólicos em frutos de 27 cultivares de morango oriundos da Noruega. Segundo os autores, o conteúdo de fenólicos totais variaram entre as cultivares de 57 a 133 mg 100 g⁻¹ de peso fresco. Já a concentração de antocianinas variou de 8,5 a 65,9 mg 100 g⁻¹ de peso fresco, sendo afetado pela maturação e pelas condições de crescimento das plantas.

Carvalho et al. (2012) avaliaram cinco cultivares de morango em relação ao conteúdo de flavonóides e antocianinas totais e observaram que as cultivares Camarosa e Aromas apresentaram os maiores conteúdos de flavonóides (149,1 e 129,4 mg rutina 100 g⁻¹ fruto fresco); e de antocianinas (92,8 e 84,4 mg cianidina-3-glucosídeo 100 g⁻¹ fruto fresco) respectivamente.

Os compostos fenólicos tem grande influência na qualidade dos frutos, contribuindo nos atributos sensoriais, organolépticos e no seu valor nutricional (AABY et al., 2012; TULIPANI et al., 2008). O fruto se destaca pelo conteúdo de ácido elágico e antocianinas (HANNUN, 2004; VIZZOTTO, 2012). Derivados do ácido elágico correspondem a mais de 50% dos compostos fenólicos da fruta sendo por tanto a principal fonte deste ácido na dieta (HAKKINEN et al., 2000). Seu conteúdo em frutos varia em função da cultivar, apresentando em média 1,6 mg 100 g⁻¹ de massa fresca, na forma livre (VIZZOTTO, 2012).

2.2 Atributos fisiológicos e enzimáticos

2.2.1 Teor relativo de clorofila

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura da luz usada na fotossíntese, dessa forma são essenciais na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (TAIZ & ZEIGER, 2004). Assim, as clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente com seu

crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes (JESUS & MARENCO, 2008).

Para a determinação do teor de clorofila em folhas é necessário que esta seja totalmente destruída, o que impossibilita futuros estudos e acompanhamentos, além de ser bastante demorada e onerosa. Com o desenvolvimento de equipamentos portáteis, denominados SPAD, a análise foi popularizada, permitindo medições de forma rápida e prática, ainda em campo e a baixo custo.

O valor obtido de SPAD, é proporcional à quantidade de clorofila presente na folha e atualmente vem sendo utilizado para estabelecer o melhor momento para aplicação de nitrogênio (JESUS & MARENCO, 2008), apesar de sofrer influência de fatores edafoclimáticos, da cultivar, de variações anuais e locais (BULLOCK & ANDERSON, 1999). Apesar disso, estudos utilizando o SPAD têm demonstrado que o aparelho pode ser útil para avaliar o estado de N da planta (CAMPANELLI et al., 2014; JESUS & MARENCO, 2008; MARTINEZ et al., 2013; SILVA et al., 2009; WU et al., 2007).

2.2.2 Celulases

A parede celular dos vegetais varia quanto a sua composição e organização, mas são basicamente constituídas de celulose e hemicelulose. A celulose é um homopolissacarídeo composto por unidades de glicose ligadas entre si através de ligações β -1,4, formando microfibras. Estas microfibras se entrelaçam, formando finos filamentos, denominados macrofibrilas (TAIZ & ZEIGER, 2004). As celulases, por sua vez, são enzimas produzidas

por fungos, bactérias, protozoários, plantas e animais que hidrolisam as ligações β -1,4 das cadeias de celulose (ZHANG & ZHANG, 2013), e por isso, responsáveis, pelo amolecimento da parede celular. Dessa forma, podem permitir a invasão de microrganismos patogênicos na planta.

Estudos da quantificação de celulasas de origem vegetal e não fungica são escassos. Há estudos que demonstraram que a atividade da celulase aumenta em contato com etileno durante a abscisão das folhas (FERRARESE et al., 1995) e no amadurecimento de frutos (ABELES & TAKEDA, 1990).

2.2.3 Lacases

As lacases são polifenol oxidases extracelulares pertencente ao grupo das proteínas azuis (BALDRIAN, 2006; CLAUS, 2003). Foram inicialmente estudada no Japão na seiva da árvore da laca japonesa *Rhus vernicifera* (GIARDINA et al., 2010) e foram caracterizadas como uma oxidase contendo cofatores inorgânicos metálicos (MAYER & STAPLES, 2002).

São enzimas amplamente distribuídas entre os organismos, produzidas principalmente por plantas e fungos, sendo estes utilizados como fontes de lacase para aplicação biotecnológica (MAYER & STAPLES, 2002). Possuem diversos papéis biológicos, como a degradação da lignina, oxidação de estruturas aromáticas, reações de polimerização e formação de pigmentos em células microbianas ou esporos (MIKOLASCH & SCHAUER, 2009). Principalmente pela ação na oxidação de substratos aromáticos e na capacidade de oxidar

compostos fenólicos é que estudos intensivos desta enzima estão sendo realizados (GIARDINA et al., 2010).

Em plantas, as lacases estão envolvidas na formação da parede celular e, juntas com as peroxidases, na lignificação (MAYER & STAPLES, 2002).

2.3 Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), são organismos biotróficos obrigatórios, que se associam com raízes de plantas vasculares terrestres, epífitas, aquáticas e também com rizoides e talos de briófitas além de outros vegetais basais, colonizando seus tecidos e assim estabelecendo associação mutualísticas com as plantas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; SOUZA et al., 2010). Pertencem ao Filo *Glomeromycota* e a Classe *Glomeromycetes* (glomeromicetos) sendo os mais comuns nos ecossistemas terrestres (SIQUEIRA et al., 2002; SOUZA et al., 2010).

Colonizando mais de 80% das espécies vegetais, eles ocupam os mais diversos ecossistemas, como florestas, desertos, dunas, savanas, campos e agrossistemas (BASLAM & GOICOECHEA, 2012; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; PASZT et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2002). Como biotróficos obrigatórios, completam seu ciclo de vida apenas se estiverem associados a uma planta hospedeira, a qual lhes fornece carboidratos e outros fatores necessários ao seu desenvolvimento e esporulação.

A associação entre os fungos micorrízicos arbusculares e as raízes das plantas se desenvolve em duas fases funcionais: a

extrarradical fase que se estende desde a raiz para o solo e da fase intrarradical com hifas intercelulares e estruturas intracelulares especializadas chamadas arbúsculos (BASLAM et al., 2011).

A sinalização entre os simbioses ocorre nas proximidades das raízes de plantas hospedeiras, mais especificamente na rizosfera, devido à presença de substâncias estimulantes aos fungos, metabólicos secundários produzidos e exsudados pelas células vegetais especialmente quando sujeitas a algum tipo de estresse (BASLAM et al., 2011; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Dessa forma, há evidências que esta simbiose pode estimular a síntese de metabólitos secundários, que podem tanto aumentar a tolerância das plantas à estresses abióticos e bióticos como aumentar a acumulação de compostos antioxidantes em tecidos de plantas potencialmente benéficos para a saúde humana (BASLAM et al., 2011).

Em função das micorrizas causarem alterações significativas no metabolismo das plantas, como aumento da atividade enzimática, aumento da abertura estomática e conseqüentemente maior taxa de absorção de CO₂ (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006) a simbiose micorrízica tem sido amplamente estudada.

2.3.1 Fungos micorrízicos arbusculares no cultivo do morangueiro

A inserção dos fungos micorrízicos na cultura do morangueiro vem sendo estudada a mais de uma década por pesquisadores no mundo todo, como por exemplo na Finlândia (NIEMI & VESTBERG, 1992), no Japão (MATSUBARA et al., 2009), nos Estados Unidos (BOROWICZ, 2010), Itália (LINGUA et

al., 2013) e México (CASTELLANO-MORALES et al., 2010). Esses grupos de pesquisa veem as micorrizas como uma tecnologia coadjuvante para melhorar o desenvolvimento, potencial produtivo e a qualidade de frutos. Além de contribuir para a redução do uso de fertilizantes, fungicidas e inseticidas, preservando assim a qualidade ambiental e redução dos custos de produção.

No entanto, os resultados encontrados até o momento, mostram que a presença das micorrizas nos diversos sistemas de produção da cultura do morangueiro são bastante adversos, havendo casos de real benefício da simbiose e momentos onde estes não influenciam no sistema produtivo. Por exemplo, Norman & Hooker (2000) citam que as micorrizas podem ter ação bioprotetora nas raízes de morangueiro pois observaram a redução de até 69% na esporulação de *Phytophthora fragariae* após 72 horas de exposição aos exsudatos radiciais de plantas inoculadas com *Glomus etunicatum* e *Glomus monosporum*. Todavia, Tahmatsidou et al. (2006) não observaram diferenças significativas na supressão de *Verticillium dahliae* conferido pelos FMAs e *Bacillus sp.*, sozinhos ou em dupla inoculação. Outros autores mostraram que a presença de FMAs influenciou no aumento da massa fresca e seca de raízes, porém estes resultados, depende muito da espécie inoculada (TAYLOR & HARRIER, 2001; ALARCÓN et al., 2001). Entretanto, Gryndler et al. (2002) e Salgado-Barreiro et al. (2012) contestaram os resultados anteriores, afirmando que os tratamentos inoculados com micorrizas não apresentaram diferenças significativas de crescimento em relação aos sem inóculos (controle) e, em alguns casos, houve a redução de peso seco e comprimento do sistema radicial nas plantas inoculadas.

Todavia, estudos recentes mostram que os FMAs possuem ação mais efetiva na síntese de compostos bioativos e no aumento de aminoácidos. Castellanos-Morales et al. (2010) demonstraram, pela primeira vez, que a simbiose, entre plantas de morangueiro e fungos micorrizicos, induz a um aumento de cianidina-3-glucosídeo e de outros compostos fenólicos nos frutos. Lingua et al. (2013) concluíram que os frutos de plantas inoculadas com micorrizas apresentaram maior concentração de antocianinas quando cultivadas com baixa fertilização. E, Matsubara et al. (2009) obtiveram maior concentração de aminoácidos totais (ácido glutâmico, serina, glicina, leucina, alanina), em plantas inoculadas com *G. mosseae*.

CAPÍTULO I

ISOLADOS MICORRÍZICOS AUMENTAM OS TEORES DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS EM FRUTOS DE MORANGUEIRO NO CULTIVO EM SUBSTRATO NO BRASIL

RESUMO: O objetivo do trabalho foi identificar o inóculo micorrízico que atua positivamente na cultura do morangueiro em substrato e verificar se há a influência dos meses de cultivo sobre a efetividade do fungo. Foram conduzidos dois experimentos com as cultivares Albion e Aromas submetidas a inoculação com 4 isolados micorrízicos (*Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglobus etunicatus* e *Rhizophagus clarum*), um produto comercial a base de micorrizas e um controle (sem inoculação) em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os fungos micorrízicos arbusculares foram arranjados na parcela principal e os meses de colheita dos frutos na subparcela. Foram avaliados a colonização radicial, dependência micorrízica, características de rendimento e de crescimento, físico-químicas e compostos funcionais nos frutos. O isolado de *Rhizophagus clarus* atua positivamente na cultura do morangueiro, influenciando na maior produção de frutos comerciais, maior produção de ácido cítrico nos frutos oriundos da cultivar Albion e maior teor de compostos fenólicos nos frutos de Albion e Aromas. Os isolados *Acaulospora morrowiae* e *Scutellospora heterogama* e o produto comercial aumentam os conteúdos de antocianinas nos frutos das cultivares Albion e Aromas.

Palavras-chave: *Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglobus etunicatus*, *Rhizophagus clarum*, Albion, Aromas, produção comercial de frutos.

**ISOLATED MYCORRHIZAE INCREASE ANTHOCYANIN
CONTENTS AND PHENOLIC COMPOUNDS IN
STRAWBERRY FRUIT IN SUBSTRATE CULTIVATION IN
BRAZIL**

ABSTRACT: This work aims to identify mycorrhizal inoculum that acts positively in strawberry growing in substrate and verify if there is the influence of the month of cultivation by the fungi effect. It was done two experiments with the varieties Albion and Aromas submitted to inoculation with four isolated Mycorrhizae (*Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglobus etunicatus* e *Rhizophagus clarum*), a commercial product from Mycorrhizae and one control (without inoculation) in randomized blocks design, with four repetitions. Arbuscular mycorrhizal fungi was organized in the main sector and the months of fruit harvest in the subsector. It was considered root colonization, mycorrhizae dependence, incoming and growing characteristics, physical and chemical characteristics and functional compounds in fruits. Isolated *Rhizophagus clarus* acts positively in strawberry growing, making a bigger influence in commercial fruit production, a bigger production of citric acid in fruit from Albion and a bigger phenolic content in Albion and Aromas fruits. Isolated *Acaulospora*

morrowiae and *Scutelospora heterogama* and commercial product increase the anthocyanin content in Albion and Aromas fruits.

Key-words -: *Scutelospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Etunicatus Claroideoglosum*, *Rhizophagus clarum*, Albion, Aromas, fruit commercial production.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de morangos no Brasil é uma atividade agrícola especializada, que exige dedicação, conhecimentos técnicos e utilização de métodos modernos de manejo da cultura. Além disso, possui grande importância social, absorvendo um grande contingente de mão de obra (ANTUNES & REISSER-JUNIOR, 2007b). Hoje, a produção nacional de morangos é de aproximadamente 3 mil toneladas (FAOSTAT, 2014) em uma área superior a 3,5 mil hectares (ANTUNES & REISSER-JUNIOR, 2007b). O Rio Grande do Sul é o terceiro Estado com maior produção, onde em uma área superior a 385 hectares responde por 15% da produção nacional (ANTUNES & REISSER-JUNIOR, 2007b; REISSER-JUNIOR et al., 2010).

O morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) é uma espécie micotrófica, colonizada facilmente por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) nativos ou inóculos comerciais (GARLAND et al., 2011; VESTBERG et al., 2000), provocando respostas mais divergentes possíveis. Há vários relatos na literatura, informando que a simbiose em morangueiro aumenta o crescimento das plantas (VESTBERG et al., 2004), a resistência contra patógenos

(MATSUBARA et al., 2009; VOS et al., 2012), e a aquisição de nutrientes (TAYLOR & HARRIER, 2001). A utilização de fungos micorrízicos aumenta a concentração de óleos essenciais em plantas de diferentes famílias, como orégano (*Origanum vulgare*) (KHAOSAAD et al., 2006), manjerição (*Ocimum basilicum L.*) (COPETTA et al., 2006), menta (*Mentha arvensis*) (GUPTA et al., 2002) e coentro (*Coriandrum sativum L.*) (KAPOOR et al., 2002). Da mesma forma, alteram o perfil de ácidos fenólicos em tomateiro (LÓPEZ-RÁEZ et al., 2010) e alcachofra (CECCARELLI et al., 2010), e de aumentarem os níveis de antocianinas em morangos (CASTELLANOS-MORALES et al., 2010; LINGUA et al., 2013).

Frente às inúmeras controvérsias relatadas na literatura e a inexistência de trabalhos desenvolvidos com micorrizas no Brasil, nosso grupo de pesquisa desenvolveu alguns trabalhos preliminares para depois executar o objetivo principal deste trabalho. Os trabalhos pilotos foram executados para resolver alguns problemas iniciais da pesquisa. Foram levantadas as seguintes questões: o inóculo Rhizanova[®] contendo FMAs comercializado no sul do Brasil é eficiente para promover benefícios ao morangueiro? A dosagem recomendada pelo fabricante é a indicada para o sistema de cultivo do morangueiro? Qual substrato e tratamento neste ambiente ocorre associação micorrízica?

Para responder essas questões testou-se inicialmente o efeito da esterilização (autoclavagem) de um substrato orgânico no estabelecimento da associação micorrízica em relação ao desenvolvimento vegetativo do morangueiro. Para tal utilizou-se as cultivares Aromas e Monterey e o inoculante comercial a base de

FMA[®] (Rhizanova[®]), na quantidade de 10 g planta⁻¹. Concluímos que a percentagem de colonização radicial em ambas as cultivares, foi superior no substrato que não sofreu a esterilização e que a cultivar Aromas, quando cultivada em substrato não autoclavado e inoculada com FMA[®] apresentou melhor crescimento e desenvolvimento vegetativo (CECATTO et al., 2013a; CECATTO et al., 2013b). No segundo teste, procuramos identificar um substrato que fosse favorável ao estabelecimento da simbiose ao mesmo tempo em que favorecesse o desenvolvimento das plantas. Dessa forma, testou-se os substratos Mec Plant Horta 2[®], areia e casca de arroz carbonizada previamente esterilizados em autoclave e, como inoculante micorrízico o produto comercial Rhizanova[®] (10 g planta⁻¹). A esterilização foi novamente realizada para confirmar a resposta do primeiro experimento teste. Além disso, utilizou-se a cultivar Albion e também a cultivar Aromas, uma vez que esta apresentou os melhores resultados no primeiro experimento. As respostas indicaram que o substrato Mec Plant Horta 2[®], não autoclavado e inoculado com FMA[®], proporcionou melhores condições de desenvolvimento para as plantas, bem como maiores índices de colonização radicial, em ambas as cultivares. Observou-se também neste experimento, que a presença de hidrogel no inoculante comercial pode ter prejudicado as plantas e conseqüentemente a colonização radicial. O hidrogel ao entrar em contato com a água se expandiu, ocasionando, provavelmente, a asfixia da raiz e dessa forma a morte das plantas (OLIVEIRA NETO et al., 2013).

Para identificar a dosagem do produto Rhizanova[®] foram utilizadas plantas da cultivar Ivahé oriundas do cultivo *in vitro*, e

quatro doses do inoculante (3, 6, 9, 12 g planta⁻¹) mais um tratamento controle (sem inoculação) no cultivo sem solo. O substrato utilizado foi o Mec Plant Horta 2[®], previamente esterilizado em autoclave. Com este trabalho concluiu-se que a dosagem adequada do inoculante comercial a ser utilizada para a cultura do morangueiro é de 5 g planta⁻¹ (MINOSSO et al., 2013).

Contudo, é importante estudar diferentes espécies de FMAs em uma mesma planta, com o objetivo de selecionar os fungos mais eficientes e eficazes em promover melhorias no desenvolvimento, rendimento e qualidade de frutos em diferentes sistemas de cultivo (TAYLOR & HARRIER, 2001).

Assim, após realizar os testes pilotos, o objetivo do estudo foi identificar o inóculo micorrízico que atua positivamente no morangueiro cultivado em substrato e verificar se há a influência dos meses de cultivo sobre a efetividade do fungo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho constou de dois experimentos sobre produção e qualidade de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.), cultivado em substrato, em diferentes inóculos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Ambos foram conduzidos com a mesma metodologia apenas modificando-se a cultivar. O Ensaio I foi com a cultivar Albion e o Ensaio II com a cultivar Aromas. Ambos os Ensaios foram implantados em junho de 2013 e o término da colheita foi em dezembro de 2013.

2.1 Materiais, local e condições de cultivo

Utilizou-se mudas frescas de cultivares do grupo de Dias Neutros denominadas Albion e Aromas, oriundas do viveiro LLAHUEN (Chile).

Como material biológico foram utilizados quatro isolados de FMAs (*Scutellospora heterogama*; *Acaulospora morrowiae*; *Claroideoglomerus etunicatus* e *Rhizophagus clarum*), provenientes da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG) do Laboratório de Micorrizas da Universidade Regional de Blumenau (FURB), o produto comercial Rhizanova[®] formulado a base de hifas e esporos de fungos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*) e endomicorrízicos (*Glomus brasilanum*, *Glomus clarum*, *Glomus deserticola*, *Glomus intraradices*, *Glomus monosporum*, *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita*) e o tratamento controle (sem inóculo).

O experimento foi realizado em ambiente protegido, no setor de Horticultura da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária/Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo (28°1541 S; 52°2445 W e altitude média de 709 m), no sentido nordeste-sudeste ocupando uma área de 150 m², do total de 420 m² da área construída (Apêndice I). A estufa de aço galvanizado foi coberta com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) de 120 micra, com aditivo contra os raios ultravioletas (anti-UV) e pigmentos difusores. Para diminuir a radiação foi instalada uma tela termo refletora de alumínio com malha de 50% e luminosidade (radiação incidente).

As plantas foram transplantadas para *slabs* de 1,0 m de comprimento por 0,30 m de largura, preenchidos com o substrato comercial Mec Plant Horta 2[®], composto de turfa, restos culturais e vermiculita (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Análise química básica do substrato Mec Plant Horta 2[®], realizada pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Amostra	Arg	pH	Ind.	P	K	M.O.	Al	Ca	Mg	H+Al	CTC	Saturação		
	(%)	H ₂ O	SMP	mg / dm ³		(%)	cmol _c / dm ³					Bases	Al	K
Mec Plant Horta 2	23,7	5,6	6	434	760	>6,7	0,0	9,1	4,7	4,4	20,2	78	0	9,6

Tabela 2 – Análise de micronutrientes mais enxofre do substrato Mec Plant Horta 2[®], realizada pelo Laboratório de Solos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Amostra	Enxofre	Boro	Manganês	Zinco	Cobre
	mg / dm ³				
Mec Plant Horta 2	43,00	1,00	11,20	10,59	0,49

Foram transplantadas oito mudas por *slab* no espaçamento de 0,20 m x 0,20 m e os mesmos foram suspensos, horizontalmente, por uma bancada de madeira com 1,20 m de altura. No transplante das plantas efetuou-se a inoculação de 10 gramas dos isolados micorrízicos e 5 gramas do produto Rhizanova[®].

A irrigação foi realizada por sistema de gotejamento localizado no interior das sacolas, composto por uma mangueira fixa por sacola e gotejadores a cada 30 cm. A fertirrigação seguiu a fórmula descrita por Calvete et al. (2007) com redução em 50% do composto superfosfato simples.

Os tratamentos fitossanitários foram realizados conforme a necessidade do morangueiro, sendo controlado principalmente o oídio (*Sphaerotheca macularis*) e ácaro-rajado (*Tetranychu urticae*), através da aplicação de Kumulus[®] e Abamectim[®], respectivamente.

Uma colmeia de *Apis mellifera*, foi posicionada externamente junto à lateral da estufa, com a abertura da caixa posicionada para o interior, visando aumentar a polinização nas cultivares de morangueiro.

2.2 Delineamento experimental

Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos casualizados, arranjados em subparcelas, usando como unidades experimentais os quatro isolados de inóculos, o produto Rhizanova[®] e o tratamento controle (sem inóculo). Na parcela principal foram considerados os tratamentos contendo os FMAs e na subparcela os meses de colheita. Cada parcela foi constituída por oito plantas, sendo consideradas para as avaliações seis plantas úteis.

2.3 Avaliações

Durante a colheita, os frutos foram levados ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da FAMV/UPF para efetuar as avaliações. Análises de rendimento e qualidade foram realizadas semanalmente durante o período de cultivo. Apenas a quantificação de antocianinas e compostos fenólicos, dentre as características de qualidade, foram realizadas quinzenalmente. No final do ciclo avaliou-se também, variáveis de crescimento.

Por ocasião do transplante das mudas e ao final do ciclo avaliou-se a percentagem de micorrizas presentes na raiz. Plantas micorrizadas e na ausência destas foram analisadas quanto ao rendimento de frutos, características físico-químicas, antocianinas, fenólicos totais e medidas biométricas de crescimento.

2.3.1 Percentagem de colonização radicial e dependência micorrízica

Para avaliar a colonização micorrízica as raízes foram preparadas segundo metodologia descrita por Phillips & Hayman (1970). Foram separadas aproximadamente 1 g de raízes finas e limpas e colocadas em uma cápsula plástica dentro de beakers contendo solução de hidróxido de potássio 10% e aquecidas a 90 °C por 10 min em autoclave, para a clarificação. Após a autoclavagem as raízes foram lavadas em água corrente e imersas em uma solução de ácido clorídrico 1% por 3 min. Na sequência, o ácido clorídrico foi

retirado e adicionou-se a solução de azul de tripano 0,05%, sendo autoclavadas por mais 10 minutos. A percentagem de colonização micorrízica foi estimada através do método descrito por Giovannetti & Mosse (1980).

Na sequência, se retirou as raízes do corante distribuindo-as sobre uma lâmina, adicionou-se glicerina ou álcool polivinílico em lactoglicerol (PVLG) e cobriu-se com uma lamínula de vidro. Foram levadas para observação em microscópio trinta segmentos de raízes de cada tratamento. No campo de visão foi efetuada a contagem da presença de colonização ("Sim") ou ausência ("Não"). A percentagem de colonização (PC) foi calculada com a fórmula:

$$PC (\%) = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de raízes colonizadas}}{\text{n}^\circ \text{ total de raízes}} \times 100$$

A dependência micorrízica (DM) das plantas, expressa em percentagem, foi calculada de acordo com Gendemann (1975) como segue:

$$DM (\%) = \frac{(MSTPM - MSTP\tilde{N}M)}{MSTPM} \times 100$$

em que:

MSTPM = massa seca total da planta micorrizada

MSTP \tilde{N} M = massa seca total da planta não-micorrizada

2.3.2 Rendimento de frutos

Foram determinados o número e a massa fresca total e comercial de frutos. Como frutos comerciais considerou-se frutos com mais de 7 g, desprovidos de injúrias, doenças e deformações.

2.3.3 Características físico-químicas

Dentro dessas características avaliou-se o diâmetro, sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT).

O diâmetro transversal dos frutos (mm) foi medido com paquímetro digital (0-150 mm/6”) marca Pantec[®] em cinco frutos escolhidos aleatoriamente.

O teor de sólidos solúveis totais (SST), pH, e acidez total titulável (ATT) foram obtidos a partir da maceração de

aproximadamente 100g de frutos frescos escolhidos aleatoriamente em cada unidade experimental. Depois de triturados, o pH foi verificado em potenciômetro Tecnal, modelo pH Meter TEC-2. O teor de SST, analisou-se em refratômetro digital modelo N – 1E, expresso em graus Brix, e a ATT foi determinada por titulometria de neutralização até pH 8,1, com hidróxido de sódio 0,1 moles L⁻¹, sendo os resultados expressos em porcentagem de ácido cítrico. Para a realização das análises, seguiu-se a metodologia descrita pela (AOAC, 2000).

A relação SST/ATT foi obtida a partir do quociente dessas variáveis.

2.3.4 Antocianinas e compostos fenólicos

Para as análises de fenólicos e antocianinas totais, os extratos foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Revilla et al. (1998). Para comparar as amostras, 30 g de frutos foram extraídos por sonificação à temperatura ambiente durante 60 minutos com 30 mL de uma solução hidroetanólica 70 °GL, em pH 1,0. Após as extrações, as amostras foram filtradas e armazenadas em freezer a -18 °C.

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, descrita por Singleton et al. (1999). Uma alíquota de 125 µL do extrato foi misturado com 500 µL de água destilada e adicionado 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 6 minutos, adicionou-se 1,25 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 7% e o volume ajustado para 3 mL com água destilada. As

soluções reagiram por 90 minutos e posteriormente efetuou-se a leitura em espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Lambda 20 (Perkin Elmer, Norwalk, CT), em comprimento de onda de 760 nm. As leituras foram feitas em triplicata e os resultados obtidos foram comparados com concentrações conhecidas de padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por 100 g de frutos.

O teor de antocianinas foi determinado seguindo a metodologia do pH diferencial descrito por Lee et al. (2005) e Giusti & Wrolstad (2001). Alíquotas de 500 µL de cada amostra foram misturadas com 2,0 mL da solução tampão de pH 1,0 e pH 4,5. As leituras foram feitas em triplicata em espectrofotômetro PerkinElmer, modelo Lambda 20 (Perkin Elmer, Norwalk, CT) e foram obtidas nas absorbâncias de 520 nm e 700 nm. Os resultados foram convertidos em miligramas de cianidina 3-glicosídeo por 100 g de frutos frescos usando a seguinte fórmula e o coeficiente de extinção molar de 26900.

2.3.5 Determinações do crescimento

No término do ciclo reuniram-se três plantas para as determinações biométricas de massa fresca e seca (total, raiz, parte aérea); altura de parte aérea; volume de raiz; número de folhas e diâmetro de coroa.

A massa fresca foi determinada em balança semi-analítica, assim como a massa seca após secagem em estufa a 65 °C até peso constante. A altura da parte aérea foi medida com auxílio de uma

régua. O volume de raiz foi medido através de uma proveta e o diâmetro de coroa por meio de paquímetro digital.

2.4 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância. Os resultados das plantas com e sem inóculo constaram a parcela principal, enquanto as análises no tempo (colheita) na subparcelas. As diferenças significativas entre as médias, quando houveram, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para os dados quantitativos foi realizada análise de regressão. Os dados expressos em percentagem foram transformados para $\arcsen\sqrt{\%}$. O programa estatístico utilizado foi o “CoStat” versão 6.4.

3 RESULTADOS

3.1 Percentagem de colonização radicial e dependência micorrízica

Em nosso estudo, observou-se que mudas da cultivar Albion (Ensaio I), na ocasião do transplante, apresentavam 60% de micorrização oriundas do viveiro. Em Aromas (Ensaio II) a colonização foi de 40% (Figura 1). No final do ciclo houve a presença de 80% nas duas cultivares, independente do inóculo. A dependência micorrízica foi observada somente no Ensaio I com a cultivar Albion.

Quando se estudou a percentagem de colonização entre as plantas inoculadas com FMAs e o controle, não verificou-se diferenças significativas, tanto no Ensaio I com Albion, quanto no Ensaio II com Aromas.

Nas avaliações microscópicas ao final do ciclo produtivo pode-se observar, com clareza, as estruturas dos FMAs (hifas, arbúsculos e vesículas) no interior das raízes das cultivares Albion (Figura 2) e Aromas (Figura 3), respectivamente.

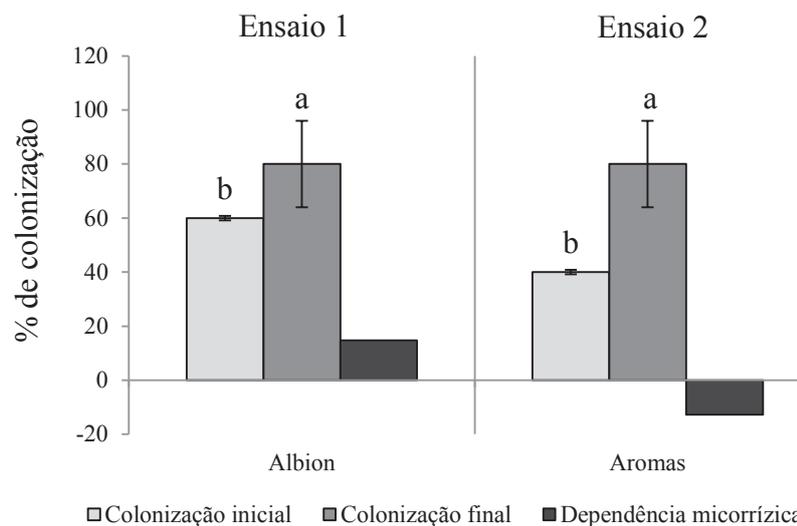


Figura 1 - Colonização inicial, final e dependência micorrízica das cultivares Albion (Ensaio I) e Aromas (Ensaio II) em cultivo em substrato. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

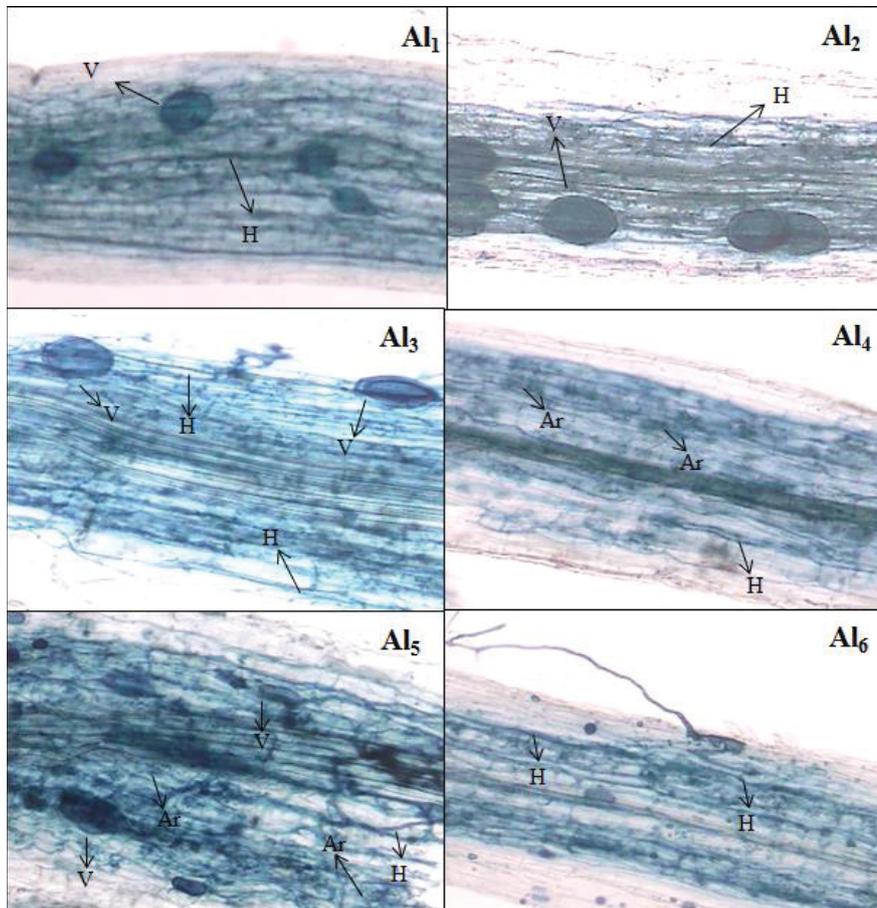


Figura 2 – Estruturas micorrízicas em raízes de morangoiro da cultivar Albion (Ensaio I) ao final do ciclo. (Al₁) controle, (Al₂) Rhizanova[®], (Al₃) *A. morrowiae*, (Al₄) *C. etunicatus*, (Al₅) *R.clarus*, (Al₆) *S. heterogama*. H = hifas, V = vesículas, Ar = arbúsculos. Passo Fundo, FAMV/UPF.

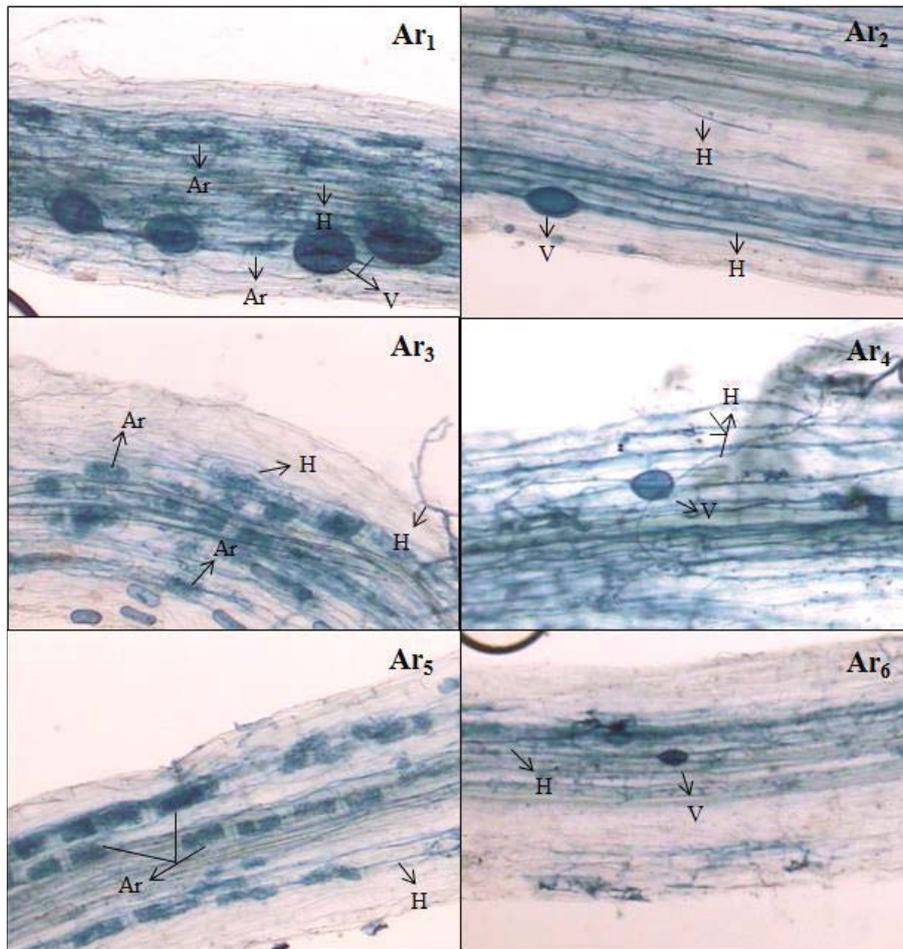


Figura 3 - Estruturas micorrízicas em raízes de morango da cultivar Aromas (Ensaio II) ao final do ciclo. (Ar1) controle, (Ar2) Rhizanova®, (Ar3) *A. morrowiae*, (Ar4) *C. etunicatus*, (Ar5) *R. clarus*, (Ar6) *S. heterogama*. H = hifas, V = vesículas, Ar = arbúsculos. Passo Fundo, FAMV/UPF.

3.2 Rendimento de frutos

Nos dois experimentos, não houve interação entre a presença e ausência dos inoculantes utilizados ao longo dos meses de colheita para as variáveis de rendimento. Apenas diferenças significativas isoladas foram observadas.

Efeitos positivos foram encontrados em todos os atributos de rendimento de frutos avaliados, em relação aos meses de colheita (Figura 4).

Com exceção das massas frescas médias de frutos totais e comerciais, os demais atributos de rendimentos apresentaram comportamento linear em ambos os Ensaios.

No Ensaio II, com a cultivar Aromas, observou-se que tanto a massa fresca média de frutos totais quanto a comercial decresceram significativamente até o mês de novembro. O que se observou também no Ensaio I com a cultivar Albion, apenas para a massa fresca média de frutos totais. Neste Ensaio, os frutos comerciais apresentaram uma tendência em diminuir a massa ao longo do ciclo.

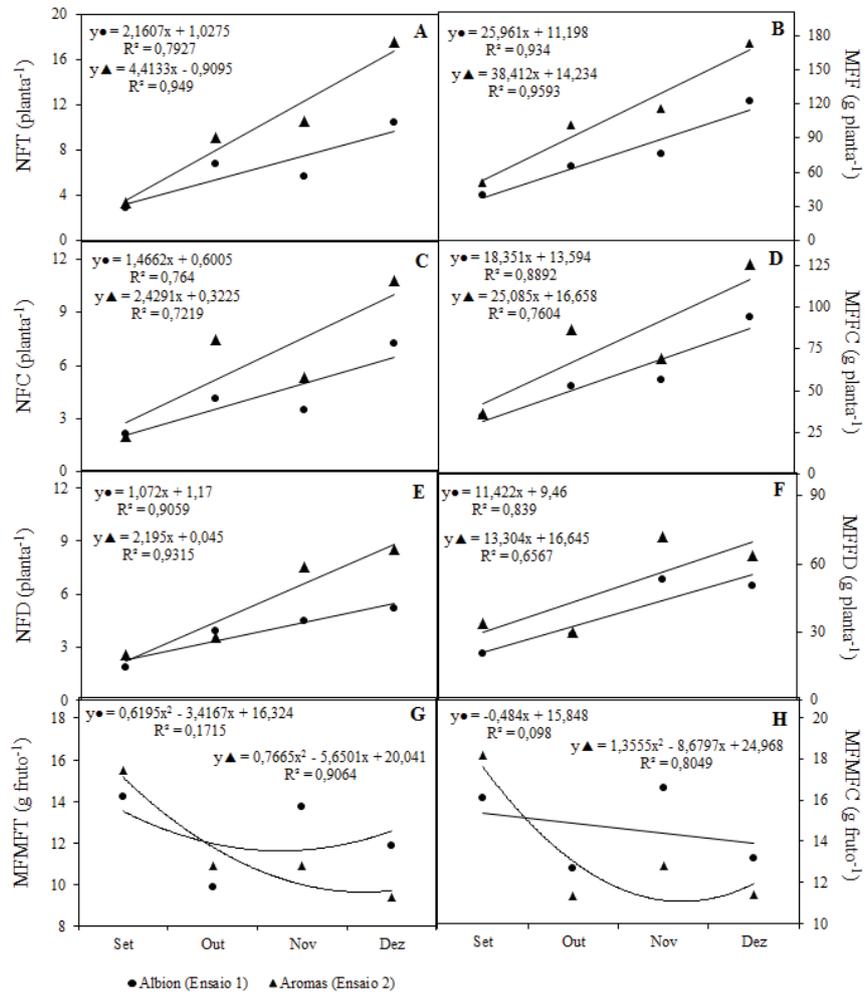


Figura 4 – Número de frutos totais (NFT) (A), massa fresca de frutos (MFF) (B), número de frutos comerciais (NFC) (C), massa fresca de frutos comerciais (MFFC) (D), número de frutos deformados (E), massa fresca de frutos deformados (F), massa fresca média de frutos totais (MFMFT) (G) e massa fresca média de frutos comerciais (MFMFC) (H), em dois experimentos ao longo do ciclo de duas cultivares de morangueiro produzidas em substrato. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Com relação as respostas das plantas à inoculação e também ao controle, considerando a média de todas as colheitas, somente o número de frutos comerciais e a massa fresca média de frutos total, apresentaram efeito positivo no Experimento 1 (Figura 5).

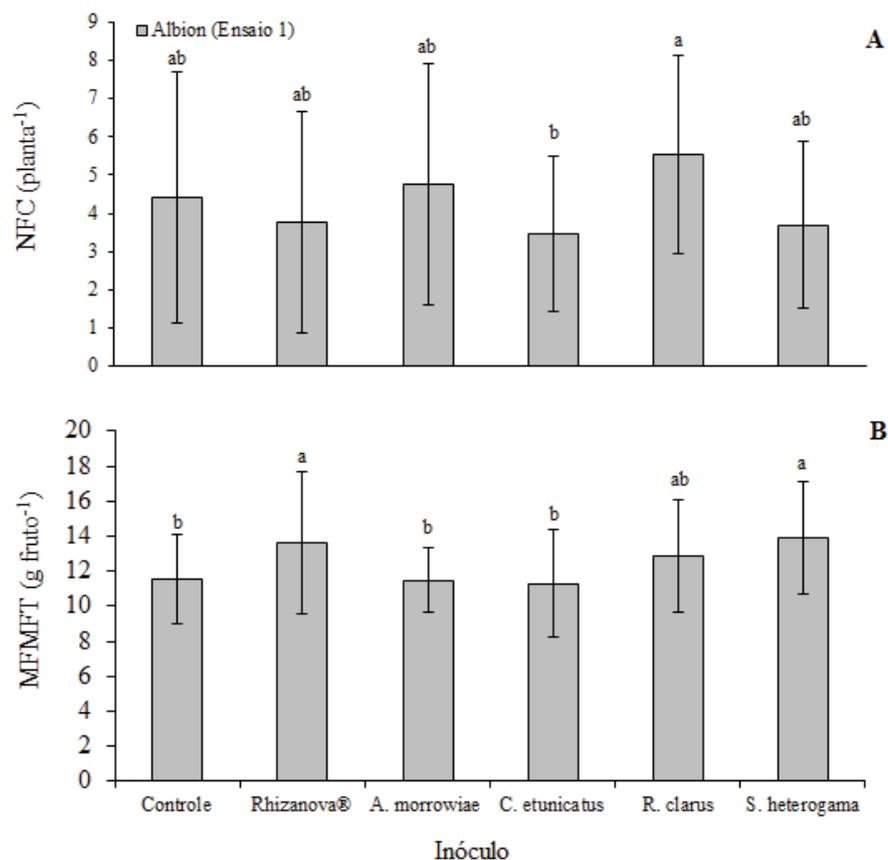


Figura 5 – Número de frutos comerciais (NFC) (A) e massa fresca média de frutos totais (MFMFT) (B) de plantas de morangueiro da cultivar Albion cultivadas em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Plantas da cultivar Albion inoculadas com *R. clarus* produziram maior número de frutos comerciais, diferindo somente das plantas inoculadas com *C. etunicatus* (Figura 5). Contudo, maior peso médio de frutos totais foi produzido por plantas inoculadas com *S. heterogama* e o produto comercial (Rhizanova), diferindo das plantas controle, das inoculadas com *A. morrowiae* e *C. etunicatus*.

3.3 Características físico-químicas

Quando se avaliou as características ligadas a qualidade dos frutos, as respostas foram semelhantes ao rendimento.

Não se observou interação entre a presença e ausência de micorrizas no decorrer dos meses de colheita, tanto no Ensaio I como no Ensaio II, para as variáveis de diâmetro, pH, sólidos solúveis, percentagem de ácido cítrico e a relação entre esses dois últimos atributos. Somente houve resposta isolada para esses tratamentos com as cultivares Albion e Aromas (Figura 6).

Em ambos os Ensaios o teor de açúcar, relação SST/ATT e pH apresentaram comportamento quadrático. Os maiores níveis de açúcar nos frutos e menor acidez são produzidos na metade do mês de novembro, em ambos os Ensaios. Porém a maior relação SST/ATT está nos frutos produzidos no final de outubro.

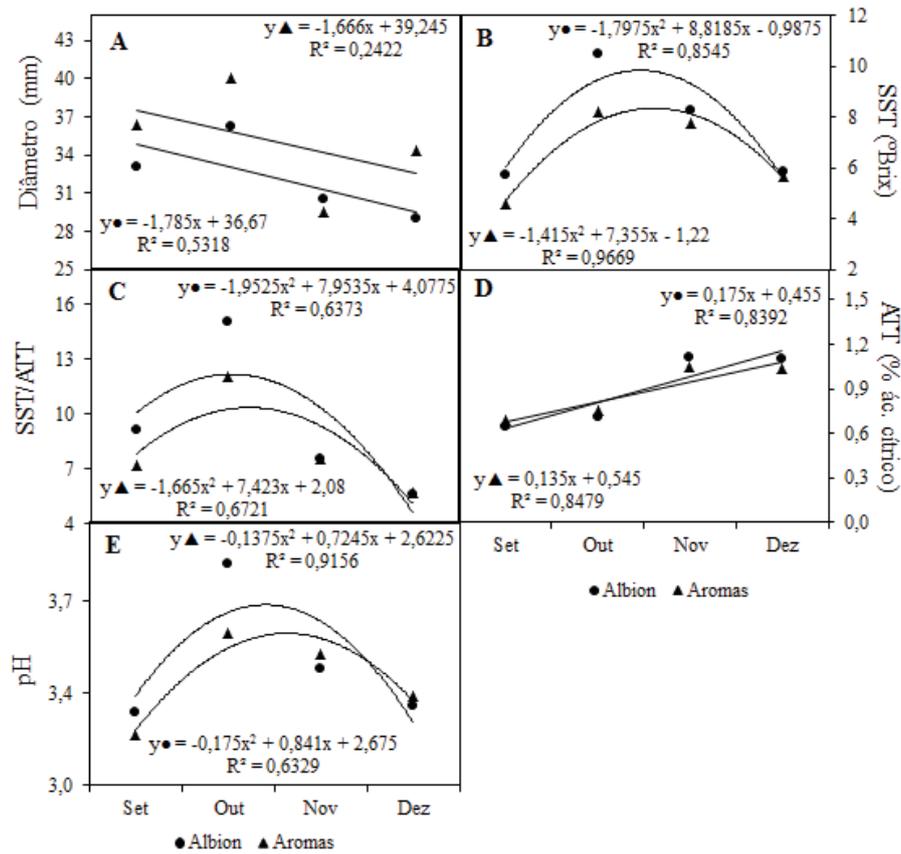


Figura 6 – Diâmetro (A), sólidos solúveis totais (SST) (B), relação SST/ATT (C), acidez total titulável (ATT) (D) e pH (E) durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

A influência da inoculação com FMAs só foi observada no Ensaio I conduzido com Albion, para a característica acidez titulável.

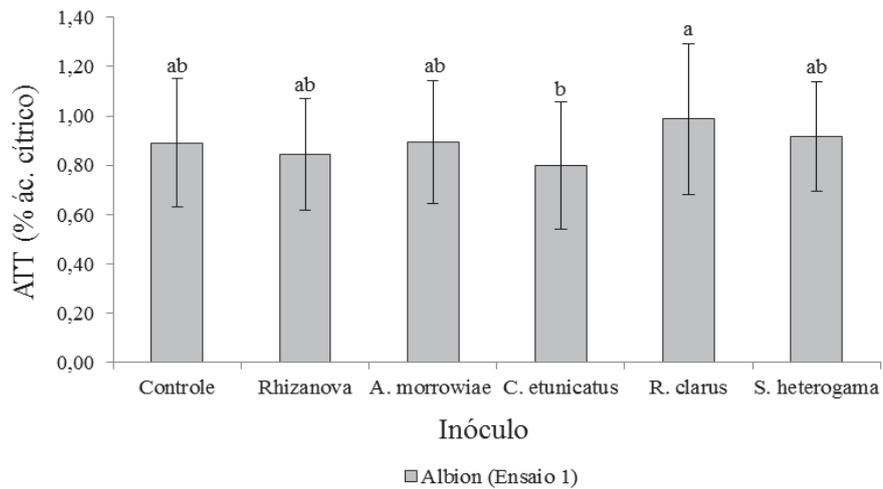


Figura 7 – Acidez total titulável (ATT) em frutos de morango inoculados com fungos micorrízicos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Na Figura 7, pode-se verificar que as plantas inoculadas com *C. etunicatus* os frutos concentraram menores teores de ácido cítrico. Em contrapartida, o isolado *R. clarus*, induziu a uma maior síntese desse composto.

3.4 Antocianinas e compostos fenólicos

Nosso trabalho mostrou que não houve interação significativa entre os frutos obtidos de plantas inoculadas e na ausência destes com os meses de colheita, em ambos os experimentos, tanto para antocianinas como para compostos fenólicos. Somente significancia isolada dos fatores foi observada nos dois Ensaio realizados.

Em relação aos meses de colheita, observou-se que em ambos os Ensaio os teores de antocianinas nos frutos apresentaram comportamento linear ascendente (Figura 8). Tanto no Ensaio I como no Ensaio II os maiores teores de antocianinas foram detectados no mês de dezembro.

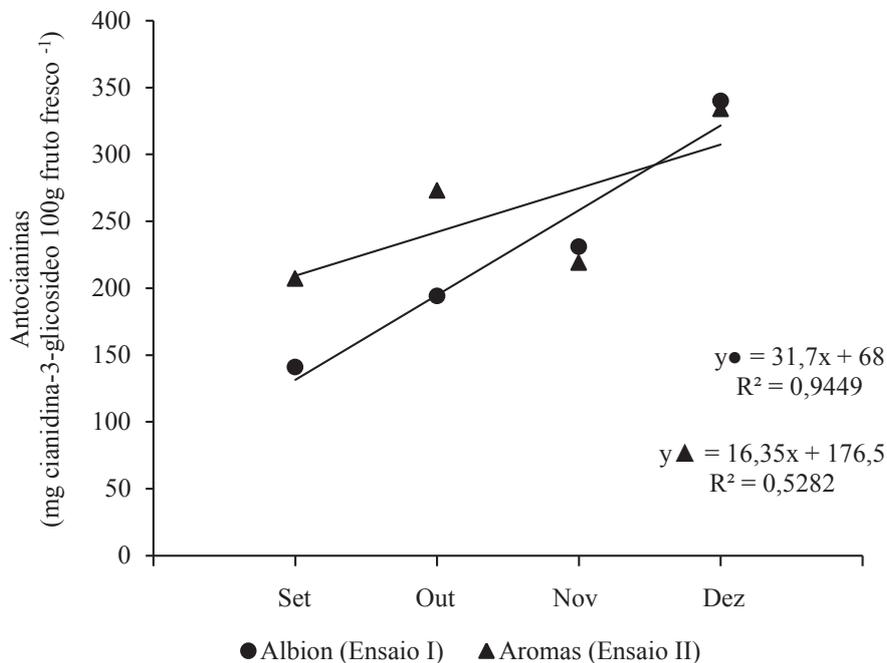


Figura 8 – Conteúdo de antocianinas durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

A influência da inoculação com FMAs pode ser observada tanto no Ensaio I como no Ensaio II (Figura 9). No Ensaio I com a cultivar Albion as plantas inoculadas com o produto comercial Rhizanova[®] produziram frutos com os teores mais elevados de antocianinas, seguidas dos frutos oriundos das plantas inoculadas com *A. morrowiae*. Neste Ensaio, os frutos obtidos das plantas controle sintetizaram menores conteúdos de cianidina-3-glicosídeo. Diferentemente do observado no Ensaio II, onde os maiores teores de antocianinas foram determinados nas plantas inoculadas com *A.*

morrowiae e *S. heterogama*, diferindo somente dos frutos oriundos das plantas inoculadas com o produto comercial Rhizanova®.

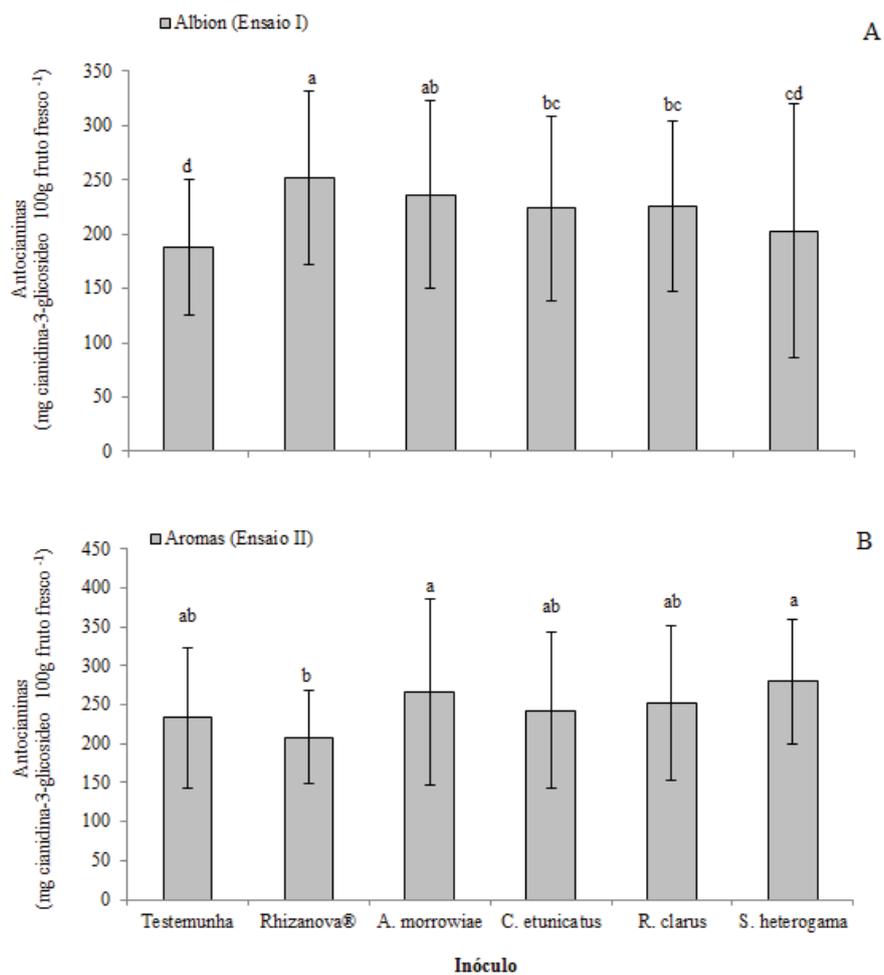


Figura 9 - Conteúdo de antocianinas em frutos de morangueiro, de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

O comportamento dos teores de fenólicos totais nos frutos durante os meses de colheita, ao contrário dos teores de antocianinas, mostraram um comportamento quadrático (Figura 10). Em ambos os Ensaio, o pico de síntese desse composto nos frutos ocorreu entre o final do mês de outubro e início de novembro.

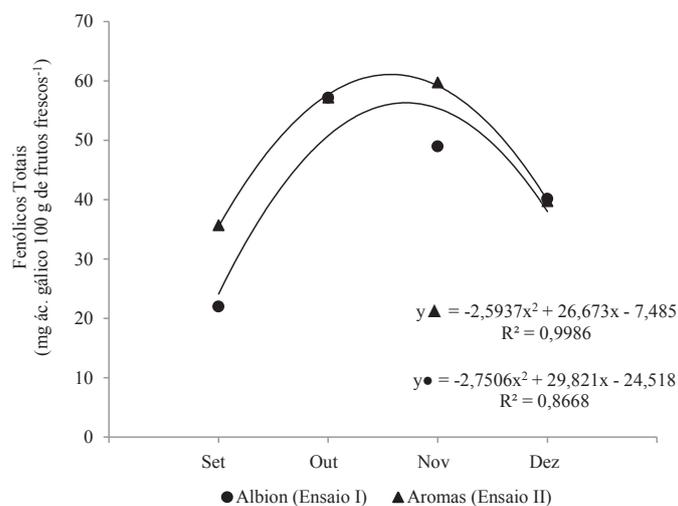


Figura 10 – Conteúdo de fenólicos totais durante a colheita de frutos de morangueiro conduzidos em dois experimentos em substratos. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

A influência da presença ou ausência de FMAs nos teores de fenólicos totais em frutos de morangueiro cultivado em substrato, podem ser visualizados na Figura 11. No Ensaio I, com a cultivar Albion, maiores teores de ácido gálico foram detectados nos frutos oriundos de plantas inoculadas com *R. clarus*. Assim como no Ensaio II com Aromas, onde, além das plantas inoculadas com *R. clarus*, plantas inoculadas com Rhizanova[®] sintetizaram e armazenaram maiores teores desse composto nos frutos.

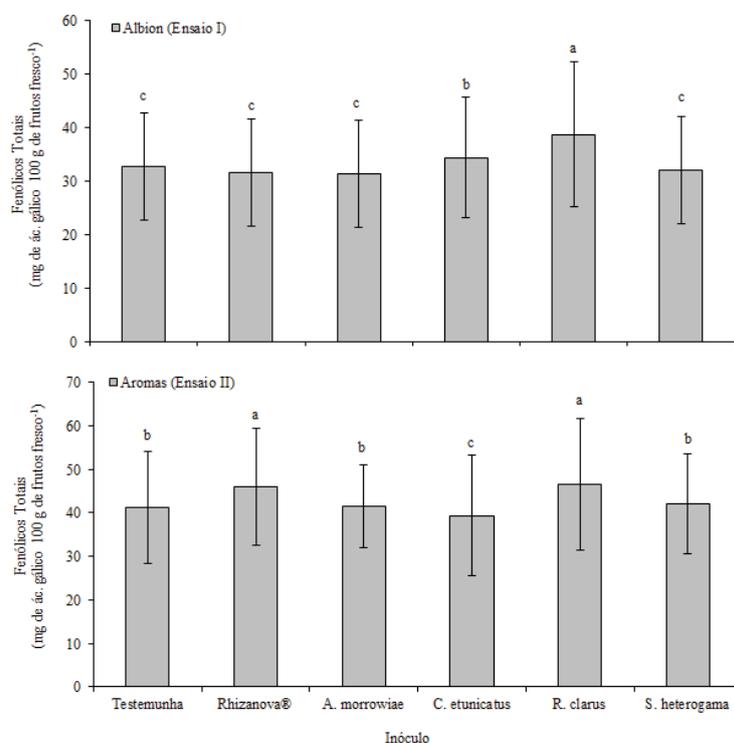


Figura 11 - Conteúdo de fenólicos totais em frutos de morangueiro, de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

3.5 Determinações de crescimento

Ao final do ciclo produtivo foram avaliados alguns parâmetros de crescimento das plantas. Observou-se que não houve influência dos fungos micorrízicos nas variáveis avaliadas, independente da cultivar, podendo ser claramente visualizada através da ausência de significância após a análise estatística (Tabela 3, 4 e 5).

Tabela 3 – Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Inóculos	VR (cm ³)			NF			DC (mm)			APA (cm)		
	Albion	Aromas	Albion	Albion	Aromas	Albion	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas
Rhizanova	13,75 \pm 4,17ns	15,83 \pm 3,97ns	12 \pm 2 ns	16 \pm 3 ns	13,55 \pm 0,86 ns	12,54 \pm 1,97 ns	22,96 \pm 0,16 ns	25,27 \pm 1,11 ns	24,33 \pm 2,32	24,10 \pm 2,86	24,33 \pm 2,32	24,10 \pm 2,86
A. morrowiae	19,17 \pm 6,62	15,42 \pm 8,54	13 \pm 4	13 \pm 2	14,02 \pm 0,49	16,51 \pm 4,78	24,33 \pm 2,32	24,10 \pm 2,86	24,33 \pm 2,32	24,10 \pm 2,86	24,33 \pm 2,32	24,10 \pm 2,86
C. etunicatus	18,33 \pm 5,61	20,67 \pm 9,81	17 \pm 4	16 \pm 3	13,61 \pm 1,18	15,63 \pm 1,50	24,46 \pm 0,98	26,33 \pm 2,99	24,46 \pm 0,98	26,33 \pm 2,99	24,46 \pm 0,98	26,33 \pm 2,99
R. clarus	21,67 \pm 15,15	16,67 \pm 2,72	15 \pm 3	16 \pm 1	13,28 \pm 0,58	15,36 \pm 1,42	22,33 \pm 5,67	23,84 \pm 2,58	22,33 \pm 5,67	23,84 \pm 2,58	22,33 \pm 5,67	23,84 \pm 2,58
S. heterogama	16,67 \pm 5,44	23,75 \pm 18,17	13 \pm 3	17 \pm 3	13,13 \pm 1,02	14,91 \pm 1,24	23,08 \pm 2,33	23,83 \pm 2,65	23,08 \pm 2,33	23,83 \pm 2,65	23,08 \pm 2,33	23,83 \pm 2,65
Média	17,50 \pm 7,29	18,65 \pm 8,89	14 \pm 3	16 \pm 3	13,44 \pm 0,81	14,89 \pm 2,48	23,67 \pm 2,58	24,67 \pm 2,28	23,67 \pm 2,58	24,67 \pm 2,28	23,67 \pm 2,58	24,67 \pm 2,28
CV %	37,52	49,88	23,00	12,21	6,58	15,45	11,86	9,93	11,86	9,93	11,86	9,93

Volume de raiz (VR), número de folhas (NF), diâmetro de coroa (DC), altura de parte aérea (APA).

Tabela 4– Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Inóculos	MFR (g)			MFPA (g)			MFC (g)			MFT (g)		
	Albion	Aromas	Albion	Albion	Aromas	Albion	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas
Controle	12,26 \pm 3,67 ^{ns}	16,32 \pm 3,95 ^{ns}	41,90 \pm 3,90 ^{ns}	46,41 \pm 9,30 ^{ns}	6,57 \pm 1,14 ^{ns}	7,86 \pm 2,41 ^{ns}	60,71 \pm 8,14 ^{ns}	70,59 \pm 7,79 ^{ns}	7,86 \pm 1,14 ^{ns}	7,86 \pm 2,41 ^{ns}	60,71 \pm 8,14 ^{ns}	70,59 \pm 7,79 ^{ns}
Rhizanova	17,96 \pm 6,08	15,98 \pm 11,14	48,10 \pm 14,07	33,94 \pm 8,54	9,03 \pm 3,48	7,82 \pm 3,42	75,09 \pm 22,42	57,74 \pm 22,70	7,82 \pm 3,48	7,82 \pm 3,42	75,09 \pm 22,42	57,74 \pm 22,70
A. morrowiae	16,27 \pm 6,47	20,12 \pm 9,44	52,48 \pm 19,33	48,85 \pm 21,07	9,06 \pm 2,73	7,84 \pm 1,99	77,81 \pm 27,48	76,81 \pm 31,64	7,84 \pm 1,99	7,84 \pm 1,99	77,81 \pm 27,48	76,81 \pm 31,64
C. etunicatus	20,74 \pm 13,83	17,08 \pm 2,99	55,14 \pm 31,21	35,18 \pm 2,93	8,22 \pm 1,99	9,21 \pm 0,83	84,10 \pm 45,76	61,46 \pm 1,50	8,22 \pm 1,99	9,21 \pm 0,83	84,10 \pm 45,76	61,46 \pm 1,50
R. clarus	21,14 \pm 9,62	23,84 \pm 21,01	39,14 \pm 10,50	43,80 \pm 18,10	8,42 \pm 0,81	9,60 \pm 5,91	68,70 \pm 8,82	77,24 \pm 44,18	8,42 \pm 0,81	9,60 \pm 5,91	68,70 \pm 8,82	77,24 \pm 44,18
S. heterogama	16,26 \pm 1,69	19,98 \pm 4,96	53,37 \pm 4,72	41,00 \pm 7,91	8,42 \pm 1,68	9,05 \pm 0,87	78,05 \pm 3,88	70,02 \pm 9,40	8,42 \pm 1,68	9,05 \pm 0,87	78,05 \pm 3,88	70,02 \pm 9,40
Média	17,44 \pm 7,60	18,88 \pm 10,01	48,36 \pm 16,07	41,53 \pm 12,73	8,28 \pm 2,10	8,56 \pm 2,85	74,07 \pm 22,74	68,98 \pm 22,95	8,28 \pm 2,10	8,56 \pm 2,85	74,07 \pm 22,74	68,98 \pm 22,95
CV %	38,47	51,75	34,21	26,47	28,65	31,30	30,98	31,97	28,65	31,30	30,98	31,97

Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de coroa (MFC), massa fresca total (MFT).

Tabela 5— Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas de morangueiro de dois experimentos, cultivados em substrato com e sem inoculação de micorrizas. Média \pm desvio padrão. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Inóculos	MSR (g)				MSPA (g)				MSC (g)				MST (g)				
	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	
Controle	2,41 \pm 0,97 ns	2,94 \pm 0,53 ns	9,64 \pm 0,88 ns	10,74 \pm 2,25 ns	1,61 \pm 0,28 ns	1,95 \pm 0,62 ns	13,67 \pm 1,96 ns	15,62 \pm 1,48 ns	2,72 \pm 0,79	2,91 \pm 1,91	12,16 \pm 3,31	7,93 \pm 2,13	2,02 \pm 0,47	1,86 \pm 0,94	16,90 \pm 3,90	12,70 \pm 4,93	
Rhizanova	2,97 \pm 1,25	3,41 \pm 1,55	10,98 \pm 3,00	11,28 \pm 4,40	1,68 \pm 0,50	1,84 \pm 0,64	15,63 \pm 3,99	16,53 \pm 6,36	A. morrowiae	4,41 \pm 2,58	3,04 \pm 0,29	12,19 \pm 4,84	8,68 \pm 0,68	2,31 \pm 0,74	1,90 \pm 0,25	18,90 \pm 7,43	13,62 \pm 0,27
C. etunicatus	2,94 \pm 0,82	4,69 \pm 4,28	9,66 \pm 2,06	10,24 \pm 3,86	2,16 \pm 0,41	2,11 \pm 1,08	14,75 \pm 2,94	17,03 \pm 8,98	R. clarus	3,28 \pm 0,54	3,60 \pm 0,93	12,91 \pm 1,27	9,73 \pm 1,92	3,85 \pm 3,55	2,07 \pm 0,25	20,04 \pm 4,05	15,41 \pm 1,51
S. heterogama	3,12 \pm 1,35	3,43 \pm 1,93	11,26 \pm 2,86	9,68 \pm 2,77	2,27 \pm 1,55	1,96 \pm 0,63	16,65 \pm 4,50	15,15 \pm 4,69	Média	37,29	55,42	25,06	23,34	67,59	30,96	24,40	29,38
CV %																	

Massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de coroa (MSC), massa seca total (MST).

4 DISCUSSÃO

Os resultados dos estudos mostraram que a simbiose com micorrizas tem efeito benéfico em frutos de morangueiro das cultivares Albion e Aromas, aumentando as concentrações de antocianinas em dezembro e de compostos fenólicos nas colheitas de outubro e novembro cultivado em substrato. O incremento de antocianinas é mais evidente quando se utiliza isolados de *A.morrowiae*, *S. heterogama* e Rhizanova[®]. Diferente do comportamento dos compostos fenólicos, onde há uma maior expressão quando se emprega o isolado de *R. clarus* e Rhizanova[®]. Em outros trabalhos a micorrização de plantas de Aromas com *G. intraradices* aumentou em até 15% os teores de cianidina-3-glicosídeo nos frutos, (CASTELLANOS-MORALES et al., 2010). Em nosso estudo, frutos de Aromas incrementaram 14% e 20% os teores de cianidina-3-glicosídeo, quando as mudas foram inoculadas com *A. morrowiae* e *S. heterogama*, respectivamente. Em Albion o acréscimo chegou a 26% com o isolado *A. morrowiae* e 20% com *R. clarus*. Já a quantificação de fenólicos, expresso em ácido gálico, revelou que a inoculação com *R.clarus* aumenta em até 19% e 13% os teores desta substância em Albion e Aromas, respectivamente. Dados recentes mostram que a presença de *G.mosseae* e *G. intraradices* aumenta a síntese de fenólicos em outras plantas, como tomateiro (LÓPEZ-RÁEZ et al., 2010), alcachofra (CECCARELLI et al., 2010), trevo (ZHANG et al., 2013) e *Echinacea purpúrea* (ARAIM et al., 2009).

Por outro lado, não houve efeito dos FMAs na maior parte da composição química dos frutos de morango afetando apenas os teores de ácido cítrico em frutos da cultivar Albion. A maior parte dos relatos mostra que a micorrização não tem influência nas características químicas básicas dos frutos, mas influenciam no perfil de compostos fitoquímicos (LINGUA et al., 2013; CASTELLANOS-MORALES et al., 2010; CHÁVEZ & FERRERA-CERRATO, 1990).

Assim, concordando com Zeng et al. (2013), os microrganismos benéficos do solo, como fungos micorrízicos arbusculares influenciam no metabolismo secundário das plantas, incrementando os níveis de compostos fitoquímicos.

Plantas inoculadas com isolados de *R. clarus* induziram maior produção total de frutos comerciais em Albion, bem como apresentam maiores massas frescas médias de frutos. Consultando a literatura, verificou-se que a maioria dos trabalhos não obtiveram os resultados semelhantes a nossa pesquisa. Por exemplo, a cultivar Albion apresentou influência dos inóculos micorrízicos na maior produção de frutos comerciais e no peso médio de frutos totais. Trabalhos com morangueiro realizados por diversos autores (CEKIC & YILMAZ, 2011; GARLAND et al., 2011; TAHMATSIDOU et al., 2006) não verificaram respostas semelhante. Incremento no rendimento de morangueiro, similar ao nosso estudo, foi quantificado por Chávez & Ferrera-Cerrato (1990) e Vestberg et al. (2000) em plantas micropropagadas na fase de aclimatização.

Ressalta-se que as mudas de morangueiro utilizadas em nosso trabalho apresentaram estruturas de FMAs, oriundas do viveiro de produção dessas cultivares.

As raízes inoculadas com diferentes isolados e com o produto comercial, bem como nas controle não apresentaram diferenças em percentagem de colonização final. Os fungos presentes inicialmente, adaptados a cultura, exercem uma supressão nos fungos adicionados ao meio (LOCATELLI & LOVATO, 2002).

Por outro lado, a colonização radicial das plantas é uma das formas de verificação da ação do fungo na planta hospedeira, podendo não refletir o grau de resposta da planta frente ao fungo. De acordo com Trindade et al. (2001) a colonização interna nem sempre representa o efeito do fungo. A produção de micélio externo seria, de acordo com o autor, uma das características mais representativas da eficiência da simbiose. Com ideias semelhantes, Moreira-Souza & Cardoso (2002) salientam que a percentagem de colonização nem sempre é a característica mais segura para definir o efeito que o endófito causa no crescimento das plantas. Além disso, ressaltam que em grande parte dos casos o estabelecimento da associação simbiótica não garante a eficiência micorrízica.

A determinação da dependência micorrízica, por sua vez, procura identificar se a simbiose esta sendo eficaz. Segundo Gendermann (1975) a dependência micorrízica é o quanto a planta se torna dependente do fungo para atingir seu máximo crescimento e rendimento em um determinado nível de fertilidade do solo. Em nosso estudo, nas condições de cultivo testadas, a cultivar Aromas não apresentou dependência micorrízica. Porém, não significa que a mesma, em outras condições ou formas de manejo não seja dependente destes fungos. A eficiência é controlada pela genética e a interação entre planta e fungo, assim como pelas condições ambientais

(DECLERCK et al., 1995). Menge et al. (1978) e Plenchette et al. (1983) já afirmavam que a magnitude da resposta da dependência é variável entre e dentro das espécies de hospedeiros, conforme observado no presente estudo. Além disso, as plantas apresentam graus de dependência naturalmente variáveis (DECLERCK et al., 1995).

Assim, a seleção de cultivares ou de genótipos com maior dependência micorrízica pode ser um importante passo no sentido de se chegar a uma menor dependência de fertilizantes fosfatados (TRINDADE et al., 2001). Ademais, a utilização de inóculos com um maior número de espécies do fungo, seria outra alternativa importante. Pois, segundo Stewart et al. (2005) um inóculo formado por múltiplas espécies de micorrizas pode ser superior a um inóculo com uma única espécie, devido a maior chance de compatibilidade entre fungo e hospedeiro.

Em nosso trabalho não houve influência dos inóculos na determinação de crescimento, concordando com Alarcón et al. (2001), Taylor & Harrier (2001), Gryndler et al. (2002), Salgado-Barreiro et al. (2012). Há vários trabalhos demonstrando que o efeito dos fungos micorrízicos em plantas de morangueiro só pode ser visualizado quando a disponibilidade de fósforo no meio é limitada (DAFT & OKUSANYA, 1973), ou mesmo quando a disponibilidade de nutrientes em geral é baixa (KIERNAN et al., 1984). Todavia, Stewart et al. (2005) descobriram que a inoculação de fungos micorrízicos em meio rico em fósforo pode desencadear respostas no crescimento e produtividade em morangueiro. No entanto, essas respostas são influenciadas pela compatibilidade entre cultivares e inóculos,

podendo ser alta e positiva ou negativa. Em nossos estudos ficou evidenciado que a cultivar Albion apresentou dependência micorrízica e respondeu positivamente aos inóculos principalmente, aos compostos fitoquímicos e a produção total de frutos comerciais.

5 CONCLUSÕES

O isolado de *Rhizophagus clarus* atua positivamente na cultura do morangueiro, influenciando na maior produção de frutos comerciais, maior produção de ácido cítrico nos frutos oriundos da cultivar Albion e maior teor de compostos fenólicos nos frutos de Albion e Aromas.

Os isolados *Acaulospora morrowiae* e *Scutelospora heterogama* e o produto comercial aumentam os conteúdos de antocianinas nos frutos das cultivares Albion e Aromas.

Frutos de morango colhidos em setembro apresentam maior calibre e massa fresca média.

Os frutos produzidos em outubro, apresentam melhor sabor.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DA ÉPOCA DE INOCULAÇÃO MICORRÍZICA NO DESENVOLVIMENTO, PRODUÇÃO, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE FRUTOS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE MORANGUEIRO NO CULTIVO FORA DO SOLO NA ESPANHA

RESUMO: O objetivo do trabalho foi determinar a influência da época de inoculação micorrízica com respostas positivas no morangueiro. Assim, verificar se a época de inoculação influencia no desenvolvimento, rendimento, características físico-químicas de frutos e bioquímicas de plantas de morangueiro de cultivares de Dias Curtos em sistema de cultivo sem solo. Até onde temos conhecimento, após extensa pesquisa bibliográfica, este é o primeiro estudo sobre a influência da época de inoculação micorrízica no cultivo do morangueiro fora do solo. O experimento foi realizado entre outubro de 2013 e maio de 2014 na E.T.S.I. La Rábida (Universidad de Huelva). Utilizou-se um fatorial 3 x 3, onde o primeiro fator constou dos tratamentos T0 = controle; T1 = inoculação micorrízica no transplante e T2 = inoculação micorrízica 30 dias após o transplante (DAT) e o segundo fator três cultivares de morangueiro (Splendor, Sabrina e Fortuna). Os tratamentos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições e 12 plantas por parcelas. Avaliou-se a percentagem de colonização e dependência micorrízica, crescimento vegetativo, atividade enzimática em folhas, rendimento, atributos de qualidade de

frutos, antocianinas e compostos fenólicos nos frutos. Resultados mostraram que a época de inoculação de fungos micorrízicos não influencia no desenvolvimento, rendimento e produção de enzimas em plantas de morangueiro cultivadas fora do solo. Somente interfere nos teores de antocianinas e compostos fenólicos dos frutos na colheita e na pós-colheita. Dentre as cultivares utilizadas, a cultivar Fortuna possui dependência micorrízica e estabelece associações simbióticas com o inoculante comercial, refletindo em rendimento.

Palavras chaves: atividade enzimática, SPAD, antocianinas, fungos micorrízicos arbusculares.

**INFLUENCE OF MYCORRHIZAL INOCULATION PERIOD
IN DEVELOPMENT, PRODUCTION, PHYSICAL AND
CHEMICAL CHARACTERISTICS OF FRUITS AND
BIOCHEMICAL STRAWBERRY PLANTS IN SOILLESS
CULTIVATION IN SPAIN**

ABSTRACT: This work aims to determine the influence of the period of mycorrhizal inoculation with positive answers in strawberry plant. So, to verify if the period of inoculation makes influence in development, incoming, physical and chemical characteristics of fruits and biochemical characteristics of strawberry plants of short days in an soilless cultivation system. According our knowledge, after extended bibliography research, this is the first study about the period influence of mycorrhizal inoculation in the strawberry cultivation soilless. The experiment was done from October, 2013 to May, 2014

in E.T.S.I. La Rábida (Universidad de Huelva). It was used a factorial 3 X 3, and the first factor was about TO control; T1 was mycorrhizal inoculation in the transplant and T2 was mycorrhizal inoculation 30 days after the transplant (DAT) and the second factor was about three strawberry hybrid varieties (Splendor, Sabrina e Fortuna). Treatments were distributed in randomized blocks design, with three repetition and 12 plants by parcels. It was considered colonization percentage and mycorrhizal dependence, vegetable growing, enzymatic activity in leaves, incoming, quality of fruits, anthocyanin and phenolic composites in fruits. Results showed that the period of mycorrhizal fungi inoculation doesn't make influence in development, incoming, and enzyme production in strawberry plants produced soilless. It just interferes in anthocyanin contents and in the phenolic composites in harvest and in postharvest of the fruits. Among hybrid varieties, Fortuna has mycorrhizal dependence and makes symbiotic association with a commercial inoculant showing incoming.

Key-words: enzymatic activity, SPAD, anthocyanin, arbuscular mycorrhizal fungi.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) possui importância econômica em nível mundial e por isso segue sendo objeto de pesquisas. A produção mundial de morangos é de aproximadamente quatro milhões de toneladas (FAOSTAT, 2014), sendo a Espanha responsável pela produção de 7% desse valor. Na

região da Andaluzia, mais precisamente na província de Huelva, encontra-se a principal produtora de morangos da Espanha. Com 7.150 hectares do fruto e concentra praticamente a totalidade da produção regional (99,4%) (CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, 2014), o que nos dá a dimensão da importância econômica desse cultivo para a província onubense.

Como alternativa ao brometo de metila a Universidade de Huelva iniciou um projeto de cultivo sem solo em morangueiro. Mais recentemente acrescentou a utilização de fungos micorrízicos arbusculares a esse sistema.

Alguns microrganismos benéficos do solo, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem promover melhorias no crescimento, desenvolvimento e aumento na tolerância das plantas a vários agentes abióticos (FOLLI-PEREIRA et al., 2012; LÓPEZ-RÁEZ et al., 2010). A colonização das raízes com micorrizas promove a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na tolerância ao estresse, reduzindo dessa forma as perdas. Além disso, os fungos micorrízicos podem influenciar no metabolismo secundário das plantas, aumentando a concentração de compostos fenólicos em várias partes da planta (HARRISON, 1999; REQUENA et al., 2007).

Plantas de morangueiro estabelecem associações mutualísticas com fungos micorrízicos e por isso é, até hoje, amplamente empregada em estudos sobre essa relação simbiótica. Alguns dos benefícios da utilização de FMAs em morangueiro, dizem respeito à influência no crescimento das plantas (VESTBERG et al. 2004), aumento do número de estolões (NIEMI & VESTBERG, 1992), aumento da tolerância contra patógenos (MATSUBARA et al.,

2009; VOS et al., 2012) e estresse hídrico (BOROWICZ, 2010), aumento na produção de compostos fenólicos e melhora da qualidade dos frutos (LINGUA et al., 2013; CASTELLANOS-MORALES et al., 2010) além do aumento da produção de frutos (DOUDS et al., 2008). Contudo, existe hoje no mercado, inúmeras cultivares de morangueiro que se difere em fenologia, variação na qualidade de frutos, potencial de rendimento e na suscetibilidade a patógenos fazendo com que provavelmente a interação com as diferentes espécies de FMAs seja singular (AZCÓN & OCAMPO, 1981).

A aplicação de inóculos micorrízicos na cultura do morangueiro no cultivo convencional aumenta a diversidade de espécies desses fungos na rizosfera, elevando muito as chances da simbiose se estabelecer e trazer benefícios para a cultura. Contudo, a aplicação dos fungos micorrízicos em sistema de cultivo fora do solo, não esta totalmente clara. A maior parte dos estudos com inoculação micorrízica nesse tipo de sistema é visando avaliar o crescimento e aclimatização de plantas micropropagadas de morangueiro (ALARCÓN et al., 2001; TAYLOR & HARRIER, 2001; CASSELLS et al., 1996; VESTBERG, 1992; CHÁVEZ & FERRERA-CERRATO, 1990; HRSELOVÁ et al., 1988). Outros estudos são em relação ao comportamento da cultura frente a níveis de nitrogênio (CASTELLANOS-MORALES et al., 2012), níveis de fósforo (CEKIC & YILMAZ, 2011), influência nos parâmetros vegetativos (MARTÍNEZ et al., 2013), influência da esterilização do substrato de cultivo (CECATTO et al., 2013) e sua atuação como bioprotetores de raízes (MURPHY et al., 2000; NORMAN & HOOKER, 2000; NORMAN et al., 1996). No entanto, estudos mais recentes sobre o

incremento de antocianinas e influência do inóculo na qualidade de frutos (CASTELLANOS-MORALES et al., 2010; LINGUA et al., 2013; PALENCIA et al., 2013) estão sendo realizados. Para o cultivo sem solo, encontramos apenas, um estudo que avaliou rendimento e a qualidade de frutos em plantas de morangueiro inoculadas com FMAs (MARTÍNEZ, 2012).

Também, em nenhum estudo até agora, tentou-se identificar qual o melhor época para se realizar a inoculação dos fungos micorrízicos e se a presença dos mesmos durante o cultivo, teriam a capacidade de influenciar além dos aspectos de qualidade na colheita, os aspectos de qualidade na pós-colheita desses frutos.

Logo, o objetivo do trabalho foi determinar a época para a inoculação micorrízica com respostas positivas no morangueiro e verificar se a época de inoculação influencia no desenvolvimento, rendimento, características físico-químicas de frutos e bioquímicas de plantas de morangueiro de cultivares de Dias Curtos em sistema de cultivo sem solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e condições de cultivo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Escuela Técnica Superior de Ingeniería La Rábida (Universidade de Huelva), Espanha (37°12N, 6°55O e altitude média de 24 m), entre outubro de 2013 a maio de 2014, sob condições de temperatura média e umidade do ar de 24 °C e 68%, respectivamente.

Para o trabalho utilizaram-se plantas de morangueiro de dias curtos (*Fragaria x ananassa* Duch.) de três cultivares utilizadas em Huelva, Espanha, (Splendor, Sabrina e Fortuna) provenientes do viveiro Niharra, localizado em Ávila. As plantas foram transplantadas para sacos de polietileno (100 cm x 18 cm x 30 cm) preenchidos com fibra de coco (Pelemix Spain, SL, Murcia - Espanha) (Tabela 1). Para adequá-la as condições de cultivo do morangueiro, anteriormente ao cultivo a mesma passou por um período de sete a quinze dias sendo lavada com água potável. Os sacos de polietileno foram colocados em estruturas de apoio a 40 centímetros de altura.

Tabela 1 – Especificações técnicas do substrato fibra de coco. Huelva, Univ. de Huelva, 2014.

pH	C.E. (dS m ⁻¹)	M.O. (%)	Carbono orgânico (%)	Lignina (%)	Celulose (%)	Relação C/N
5,5 - 6,8	0,25 - 0,50	94 - 98	45 - 50	65 - 70	20 - 30	1:80

Fonte: Pelemix España S.L., Murcia, 2014.

Durante o transplante e 30 dias após (DAT), foi realizada a inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Para tal, empregou-se o produto comercial (Mycogrowth®), a base de *Glomus iranicum var tenuihypharum* ($1,2 \times 10^4$ NMP em 100 mL substrato). Em ambas as épocas, a inoculação foi realizada com o auxílio de uma seringa, nas proximidades do sistema radicial, com o produto diluído em água na concentração de 3 kg ha⁻¹, conforme instruções do produto. Foram adicionadas 10 mL do inoculante por planta.

O sistema de irrigação utilizado foi o gotejadores autocompensantes e autodrenantes com uma vazão de 2 L h^{-1} e a solução de nutriente utilizada do transplante das mudas até o final do período de produção precoce (fevereiro de 2014), foi a seguinte: $0,08 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4NO_3 ; $0,153 \text{ mol L}^{-1}$ de KNO_3 ; $0,189 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e $0,136 \text{ mol L}^{-1}$ de KH_2PO_4 , mais micronutrientes. No período de produção tardia até o final do ciclo produtivo (março a maio de 2014) o conteúdo de fósforo e também de potássio (KH_2PO_4) foi reduzido em 50%. A irrigação foi efetuada três vezes ao dia, enquanto que a fertirrigação duas vezes ao dia, ambas por um período de um minuto.

Os tratamentos fitossanitários foram realizados conforme a necessidade do morangueiro, sendo controladas as principais doenças e pragas, tais como: oídio (*Sphaerotheca macularis*); ácaro-rajado (*Tetranychu spp*) e pulgões (*Capitophorus fragaefolii*; *Cerosipha forbesi*). Para tal, foram aplicados o fungicida Laitri[®] e o inseticida Laotta[®].

As coletas dos frutos foram realizadas quinzenalmente durante o período de janeiro a maio de 2014. O ponto de maturação utilizado foi o padrão comercial (isto é, entre 75% e 100% da superfície de cor vermelha). Os frutos coletados de janeiro e fevereiro compreenderam a produção precoce e os frutos coletados de março a maio os de produção tardia. Com a média da produção precoce e tardia obtêm-se o comportamento médio dos tratamentos em relação as variáveis analisadas (produção total).

Logo após a colheita, cinco frutos homogêneos de cada tratamento foram separados para as determinações de diâmetro,

firmeza, sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), vitamina C e relação SST/ATT. Outros seis frutos, foram separados para avaliação de compostos fenólicos totais e antocianinas.

As avaliações dos frutos na pós-colheita foram realizadas em três amostragens ao longo do ciclo. Determinou-se como sendo pós-colheita, os frutos que foram armazenados dois dias em câmara fria (0 °C e 90-95% de UR) seguidos de mais dois dias a temperatura ambiente, simulando a comercialização.

2.2 Delineamento experimental

Unidades experimentais foram arranjadas em delineamento de blocos casualizados utilizando um fatorial 3 x 3, com 3 repetições e 12 plantas por sacola. Um fator constou de 3 cultivares (Splendor, Sabrina e Fortuna) e o segundo fator da inoculação micorrízica em duas épocas (T_1 = inoculação no transplante e T_2 = inoculação 30 DAT e o T_0 = controle).

2.3 Avaliações

2.3.1 Percentagem de colonização e dependência micorrízica em morangueiro

Colonização micorrízica foi estimada no final do ciclo para verificar o estabelecimento da simbiose.

A metodologia usada para determinar a taxa de colonização micorrízica das plantas foi mediante coloração das raízes

com Azul de Tripán, segundo Phillips & Hayman (1970). Posteriormente, foi avaliada a percentagem de colonização da micorrização, de acordo com Giovannetti & Mosse (1980), sendo as amostras dos nove tratamentos. As amostras foram observadas em microscópio Leica DMLS, com aumento de 20x. A contagem foi realizada visando avaliar se no campo de visão havia a presença de colonização ("Sim") ou não ("Não"). A percentagem de colonização (PC) foi obtida através da fórmula a seguir:

$$PC (\%) = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de raízes colonizadas}}{\text{n}^\circ \text{ total de raízes}} \times 100$$

A dependência micorrízica (DM) das plantas foi calculada de acordo com Gendermann (1975), como segue:

$$DM (\%) = \frac{MSTPM - MSTP\tilde{N}M}{MSTPM} \times 100$$

Onde:

MSTPM = massa seca total da planta micorrizada

MSTP \tilde{N} M = massa seca total da planta não-micorrizada

2.3.2 Determinações do crescimento das plantas

Ao final do experimento, três plantas de cada tratamento foram retiradas para avaliações de massa fresca e seca (total, raiz e parte aérea); altura de parte aérea; volume de raiz; comprimento de raiz; número de folhas e diâmetro de coroa.

A massa fresca foi determinada em balança semi-analítica, assim como a massa seca após secagem em estufa a 65 °C, até peso constante. A altura da parte aérea e o comprimento de raiz foram

medidos com auxílio de uma régua. O volume de raiz foi medido através de uma proveta e o diâmetro de coroa por meio de paquímetro digital.

2.3.3 Atributos fisiológicos e enzimáticos

a) Teor relativo de clorofila (SPAD)

O teor relativo de clorofila foi medido, quinzenalmente, usando um clorofilômetro (SPAD-502, Minolta, Osaka, Japão) sendo medido em seis folhas (trifólios) de diferentes idades, escolhidas ao acaso, desde muito novas (com baixos teores de clorofila) até maduras e completamente expandidas (com altos teores de clorofila). As leituras com o clorofilômetro foram feitas em três pontos a cada lado da nervura central da folha.

b) Índice de área foliar (IAF)

Área foliar de cada trifólio foi avaliada através de scanner e software específico. Os valores foram determinados em três folhas de cada tratamento, totalmente expandidas e sem injúrias.

c) Atividade enzimática em folha

Os extratos concentrados de enzimas foram obtidos pelo método de Criquet et al. (1999). Três folhas escolhidas aleatoriamente de cada tratamento foram secas em estufa a 65°C por 24 horas e

posteriormente moídas em moinho analítico marca Ika[®]. Exatamente 0,125 g da amostra moída foi suspensa em 20 mL de água destilada, 0,444 g de CaCl₂, 0,3 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e 1 gota de Tween 80. Em seguida a mistura foi agitada durante 1 h numa mesa de agitação a 120 oscilações min⁻¹. A suspensão em seguida foi filtrada através de uma camada tripla de gaze e centrifugado a 10.000 rpm a 4 °C, durante 10 min. Passou-se o sobrenadante para frascos limpos e armazenou-se sob refrigeração por 24 horas. Após esse período em refrigeração, se adicionou 1 mL de tampão Bis - Tris (bis [2 - hidroxietil] iminotris - [hidroximetil]-metano), 20.10⁻³ mol L⁻¹, pH 6,0 e novamente armazenou-se sob refrigeração até o momento das análises. O extrato assim formado foi usado para as determinações de diferentes atividades enzimáticas.

A atividade da enzima lacase foi determinada tal como descrito por Criquet et al. (1999). 400 µL de extrato de enzima foram adicionados a 1600 µL de tampão fosfato de sódio 0,1 M e pH 5,7 e 20 µL de siringaldazina 5x10⁻³ mol L⁻¹ dissolvido em metanol. Após incubação a 30°C por 5 min, procederam-se as leituras em espectrofotômetro Shanghai Spectrum, modelo SP – 2000UV-VIS a 525 nm. Os resultados obtidos foram comparados com concentrações conhecidas de padrão de lacase (curva padrão) e os resultados expressos em µg quinona mL⁻¹ de extrato.

A enzima celulase foi determinada de acordo com metodologia descrita por Criquet et al. (2002). O meio de reação foi constituído por 100 µL de extrato de enzima incubada 1 h a 50 °C com 900 µL de tampão de acetato de sódio 50x10⁻³ mol L⁻¹, pH 6,0, contendo 1% de CMC (carboximetilcelulose). A hidrólise das

celulases por CMC liberou açúcares redutores que foram quantificados pelo método de Somogyi-Nelson (NELSON 1944; SOMOGYI 1952). Dessa forma, após a incubação retirou-se uma alíquota de 500 μL e se adicionou 500 μL de reagente de Somogyi. Em seguida, colocou-se em banho-maria durante 15 min a 100 $^{\circ}\text{C}$ e, após arrefecimento, adicionou-se 500 μL de reagente de Nelson, mais 1 mL de água destilada. A densidade óptica foi medida em espectrofotômetro Shanghai Spectrum, modelo SP – 2000UV-VIS a 520 nm. Os resultados obtidos foram comparados com concentrações conhecidas de glicose (curva padrão) e os resultados expressos em μg glicose mL^{-1} de extrato.

Para cada enzima, foi realizada uma curva padrão com concentrações de 0 – 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de lacase, para esta enzima e de glicose para enzima celulase. As análises foram feitas em triplicata e em três épocas, sendo estas na décima sexta, vigésima segunda e trigésima semana após o transplante.

2.3.4 Rendimento

O rendimento de frutos foi determinado, quinzenalmente, através da quantificação do número e massa fresca de frutos total e por planta, além da massa fresca média de frutos. Para isso empregou-se uma balança semi-analítica.

2.3.5 Características físico-químicas

O diâmetro transversal dos frutos foi medido com um paquímetro digital, expresso em milímetros (mm). A firmeza da polpa foi determinada com o uso de penetrômetro manual marca Bertuzzi® com ponteira de 2 mm, perfurando-se cada fruto em três lados e em posições distintas, de forma que os furos não coincidiram. Foi expresso em g cm^{-2} . Sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez total titulável (ATT) foram determinados, utilizando o suco proveniente da maceração dos cinco frutos de cada unidade experimental. Para SST utilizou-se refratômetro digital, e os resultados foram expressos em °Brix. O pH foi medido em potenciômetro Crison modelo GLP-21 e a ATT foi determinada por titulometria de neutralização até pH 8,1, com hidróxido de sódio 0,1N, sendo os resultados expressos em porcentagem de ácido cítrico, ambas análises seguiram metodologia descrita pela AOAC (2000). O teor de vitamina C foi determinado por reflectometria através de um Reflectoquant RQ flex 16970 e tiras de teste de 25 - 450 mg L^{-1} . O valor final do conteúdo de ácido ascórbico foi expresso em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ peso fresco. A relação entre os sólidos solúveis totais e a acidez total titulável foi obtida a partir do quociente das determinações de SST e ATT.

2.3.6 Conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos

Para as análises de antocianinas totais, os extratos foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Revilla et al. (1998). Onde 30 g de frutos foram extraídos por sonificação à temperatura ambiente, durante 20 minutos, com 30 mL de uma solução hidroetanólica 70 °GL em pH 1,0. Os extratos para determinação de fenólicos totais foi realizado da mesma forma que para antocianinas, porém o solvente utilizado foi o metanol 70°. Após as extrações, as amostras foram filtradas e armazenadas em freezer para as análises posteriores.

A análise do teor de compostos fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, descrita por Singleton et al. (1999). Utilizou-se 125 µL de amostra, a qual foi misturada 500 µL de água destilada e, adicionado 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 6 minutos foi adicionado 1,25 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 7% e o volume ajustado até 3 mL com água destilada. As soluções foram deixadas reagindo por 90 minutos para posterior leitura a 760 nm em espectrofotômetro Shanghai Spectrum, modelo SP – 2000 UV-VIS. As leituras foram feitas em triplicata e os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por 100g de frutos (mg ácido gálico/100g de frutos).

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Giusti & Wrolstad (2001) e Lee et al. (2005), onde utilizou-se 500 µL dos extratos e diluiu-se com 2,5 mL de solução tampão em pH 1,0 e pH

4,5. As leituras das absorvâncias foram feitas, em triplicata, em espectrofotômetro Shanghai Spectrum, modelo SP – 2000 UV-VIS, em dois comprimentos de onda (520 nm e 700 nm). Os resultados encontrados foram expressos em miligramas de cianidina-3-glicosídeo para cada 100 g de frutos.

2.3.7 Avaliações pós-colheita

Separaram-se seis frutos homogêneos de cada unidade experimental para avaliação na colheita e outros seis frutos para as análises de pós-colheita. As avaliações realizadas em ambos os casos foram: perda de massa fresca e quantificação de antocianinas e compostos fenólicos.

As avaliações de antocianinas e compostos fenólicos totais na pós-colheita, seguiram a mesma metodologia descrita nas avaliações no momento da colheita.

a) Perda de massa fresca dos frutos

Primeiramente os frutos foram pesados no tempo zero, ou seja, na colheita, e acondicionados em potes plásticos. A perda de massa fresca das amostras foi avaliada após dois dias em câmara fria (0 °C e 90-95% de UR) e mais dois dias a temperatura ambiente (pós-colheita). Os resultados foram expressos em porcentagem massa/massa (%) sobre a massa inicial, conforme a equação:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{[(MF_C - MF_{PC})]}{MF_C} \times 100$$

em que:

MF_C = massa fresca na colheita (g)

MF_{PC} = massa fresca pós-colheita (g).

2.4 Análise estatística

Os resultados das avaliações foram avaliados por meio de análise de variância e havendo diferenças significativas entre as médias, estas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para melhorar a distribuição do erro residual, transformaram-se os dados expressos em porcentagem para $\arcsen \sqrt{\%}$. O programa estatístico utilizado foi o “CoStat” versão 6.4.

3 RESULTADOS

3.1 Colonização e dependência micorrízica

As raízes das três cultivares de morangueiro não inoculadas com micorrizas (controle) não apresentaram qualquer tipo de estrutura do fungo (hifas, esporos ou arbúsculos) (Figura 1). Isso sugere que as plantas oriundas do viveiro não estavam micorrizadas. Nas plantas onde se realizou a inoculação, a taxa de colonização radicial independente da época ou cultivar foi de 50% (Tabela 2).

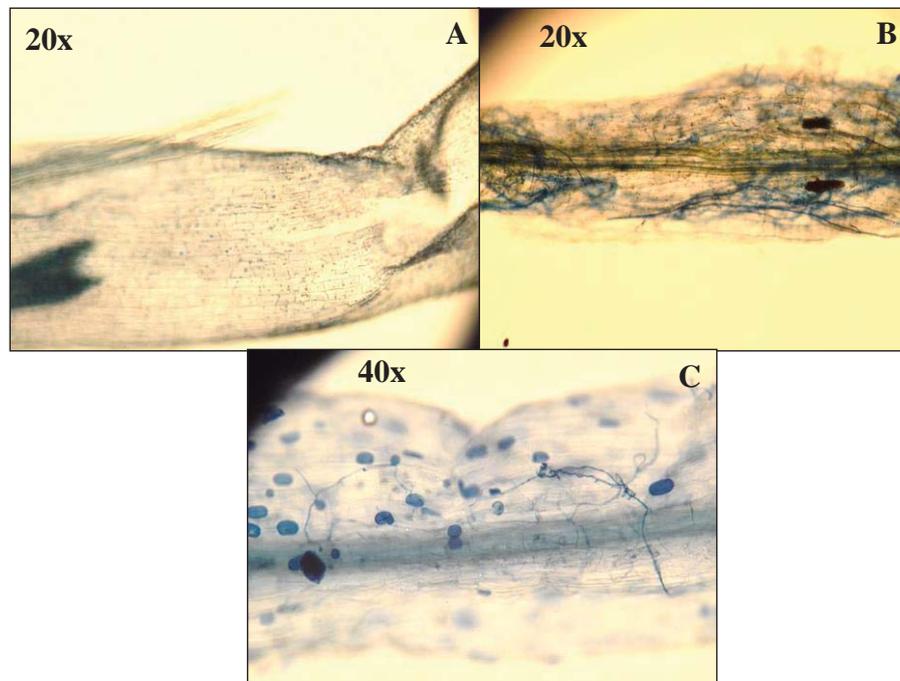


Figura 1 - Visualização microscópica radicial da cultivar Fortuna ao final do ciclo de produção. (A) Planta controle; (B) Planta inoculada no transplante; (C) Planta inoculada 30 DAT. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Não houve interação significativa entre cultivares e épocas de inoculação para a percentagem de colonização radicial (Tabela 2). Entretanto, entre as cultivares houveram diferenças. A cultivar Fortuna apresentou índices de colonização superiores as demais e foi a única cultivar que apresentou dependência micorrízica ($DM \geq 10\%$) (Figura 2).

Tabela 2: Colonização micorrízica em plantas de morangueiro em cultivo sem solo ao final do ciclo produtivo. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Cultivares	Colonização radicial (%)
Splendor	51 ± 15 b
Sabrina	25 ± 8 c
Fortuna	73 ± 9 a
Época de Inoculação	
Inoculado no transplante	47 ± 27
Inoculado 30 DAT	52 ± 20
Cultivar (cv)	*
Época (época)	NS
cv x época	NS

Médias ± desvio padrão com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). (n = 3). NS – não significativo.

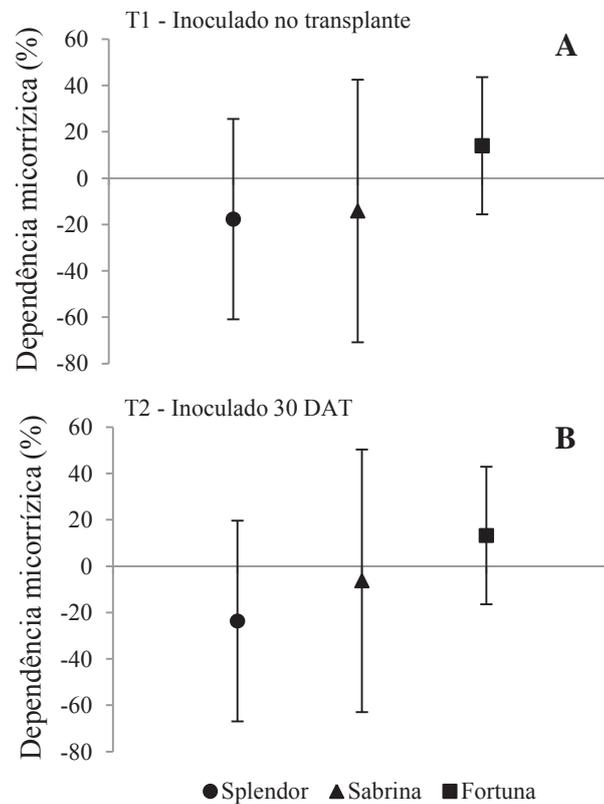


Figura 2 – Dependência micorrízica em morangueiro no cultivo sem solo ao final do ciclo produtivo. Média \pm desvio padrão. Huelva, Univ. de Huelva, 2014.

3.2 Determinações de crescimento

Para as variáveis relacionadas com o crescimento das plantas, constatou-se que não há interação entre os fatores ($p \geq 0,05$) (Tabela 3 e 4). Apenas constatou-se significância para as cultivares, apresentando entre essas diferenças em número de folhas, altura de parte aérea, comprimento de raiz, massa seca total e de parte aérea.

A ANOVA mostrou que a cultivar Sabrina apresentou maior crescimento nos atributos com diferença significativa, em relação as outras duas estudadas, com exceção para o comprimento de raíz.

3.3 Atributos fisiológicos e enzimáticos

O teor de clorofila, índice de área foliar e das atividades enzimáticas não apresentaram interações entre os fatores (Tabela 5). Significância do fatorial apenas foi encontrada entre cultivares para a característica teor de clorofila.

O SPAD é um valor que quantifica indiretamente o conteúdo de clorofila e providencia uma medida indireta do status de nitrogênio na planta (CHANG & ROBISON, 2003; WU et al., 2007). No experimento, a cultivar Splendor indica ser um genótipo com potencial fotossintético superior as demais.

Tabela 3 – Determinação do crescimento em três cultivares de morangueiro na presença e ausência de FMAs no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

Cultivares	DC (mm)	Folhas (n°)	APA (cm)	CR (cm)	VR (cm ³)
Splendor	16,45 ± 2,02	9,70 ± 3,25 b	17,84 ± 1,43 b	33,37 ± 3,92 a	15,39 ± 5,02
Sabrina	15,41 ± 3,39	15,66 ± 4,24 a	21,19 ± 1,85 a	27,85 ± 3,40 b	13,41 ± 2,82
Fortuna	14,89 ± 3,24	11,31 ± 3,91 b	19,60 ± 1,30 ab	27,46 ± 3,84 b	12,56 ± 2,92
Média	15,52 ± 3,28	12,20 ± 4,51	19,84 ± 1,86	28,58 ± 4,15	13,31 ± 3,33
Épocas de inoculação					
Controle	15,73 ± 2,29	12,27 ± 4,69	20,33 ± 1,97	30,06 ± 5,15	14,70 ± 3,20
Inoculado no transplante	15,91 ± 3,13	11,94 ± 4,82	18,91 ± 1,66	28,48 ± 3,42	14,96 ± 3,79
Inoculado 30 DAT	15,12 ± 3,46	12,46 ± 4,31	19,4 ± 2,39	30,14 ± 5,11	11,69 ± 3,79
Média	15,59 ± 2,93	12,23 ± 4,53	19,24 ± 2,11	29,59 ± 4,51	12,78 ± 3,97
Cultivares	NS	*	*	*	NS
Épocas	NS	NS	NS	NS	NS
cultivares x épocas	NS	NS	NS	NS	NS

DC (diâmetro de coroa); APA (altura da parte aérea); CR (comprimento de raiz); VR (volume de raiz). Médias ± desvio padrão com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey (p≤0,05). (n = 3). NS – não significativo.

Tabela 4 – Massas frescas e secas de plantas de três cultivares de morangueiro morangueiro na presença e ausência de FMAs no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

	MFT	MST	MFR	MSR	MFPA	MSPA
Cultivares (g planta ⁻¹)						
Splendor	44,64 ± 11,55	32,01 ± 6,37 ab	13,96 ± 4,55	3,27 ± 0,74	30,81 ± 8,62	7,39 ± 1,62 ab
Sabrina	46,22 ± 11,19	39,22 ± 7,87 a	11,28 ± 2,09	3,54 ± 0,53	33,78 ± 10,55	9,14 ± 3,08 a
Fortuna	37,22 ± 8,38	26,55 ± 5,51 b	11,81 ± 3,21	2,86 ± 0,51	24,54 ± 5,92	5,97 ± 1,60 b
Média	41,46 ± 10,41	31,68 ± 8,45	11,99 ± 3,15	3,16 ± 0,62	28,66 ± 8,89	7,27 ± 2,54
Épocas de inoculação						
Controle	44,50 ± 13,25	33,34 ± 10,97	12,93 ± 3,26	3,28 ± 0,57	31,61 ± 11,77	7,83 ± 3,19
Inoculado no transplante	43,79 ± 7,27	32,75 ± 7,27	13,24 ± 4,11	3,17 ± 0,63	29,43 ± 6,52	7,34 ± 2,49
Inoculado 30 DAT	39,80 ± 11,76	31,68 ± 7,01	10,89 ± 2,95	3,22 ± 0,79	28,09 ± 9,10	7,34 ± 1,93
Média	41,13 ± 10,25	32,04 ± 6,84	11,67 ± 3,44	3,20 ± 0,71	28,54 ± 8,03	7,34 ± 2,05
Cultivares	NS	*	NS	NS	NS	*
Épocas	NS	NS	NS	NS	NS	NS
cultivares x épocas						
	NS	NS	NS	NS	NS	NS

MFT (massa fresca total); MST (massa seca total); MFR (massa fresca de raiz); MSR (massa fresca de raiz); MFPA (massa seca de raiz); MSPA (massa seca de parte aérea); MFTA (massa seca da parte aérea). Médias ± desvio padrão com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey (p≤0,05). (n = 3). NS – não significativo.

Tabela 5 - Teor relativo de clorofila (TRC), índice de área foliar (IAF), e enzimas celulase e lacase em plantas de morangueiro na presença e ausência de FMAS no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Cultivar	TRC (SPAD)	IAF (m ² m ⁻²)	Celulase (µg glicose mL ⁻¹)	Lacase (µg quinona mL ⁻¹)
Splendor	64,56 ± 15,26 a	0,99 ± 0,13	218,06 ± 113,91	80,24 ± 84,35
Sabrina	58,84 ± 15,09 b	0,95 ± 0,13	206,00 ± 97,35	48,95 ± 36,66
Fortuna	60,55 ± 12,99 b	1,00 ± 0,13	224,00 ± 96,06	48,54 ± 30,11
Média	60,65 ± 14,15	0,98 ± 0,13	217,00 ± 98,45	53,96 ± 46,50
Época de Inoculação				
Controle	61,37 ± 15,75	1,00 ± 0,13	235,46 ± 110,81	65,40 ± 38,49
Inoculado no transplante	61,42 ± 14,86	0,98 ± 0,12	203,52 ± 110,22	51,64 ± 39,57
Inoculado 30 DAT	61,17 ± 13,33	0,96 ± 0,13	209,03 ± 82,60	60,68 ± 83,09
Média	61,25 ± 13,79	0,97 ± 0,13	207,20 ± 91,60	57,67 ± 70,82
Cultivar	*	NS	NS	NS
Época	NS	NS	NS	NS
cultivar x época	NS	NS	NS	NS

Médias ± desvio padrão com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). (n = 3). NS – não significativo.

3.4 Rendimento

Os resultados para número de frutos, massa fresca e peso médio de frutos por planta para as cultivares Splendor, Sabrina e Fortuna e épocas de inoculação, estão demonstrados na Tabela 6. Não houve interação entre os fatores, foi observada somente significância entre as cultivares. Fortuna apresenta-se superior em rendimento, diferindo apenas de Sabrina. Em relação as épocas de inoculação micorrízica, observou-se que a massa fresca de frutos das plantas controle foi aproximadamente 18% maior do que as plantas que foram inoculadas no transplante e 6% maior que as plantas inoculadas 30 DAT. Em contrapartida, a massa fresca médio dos frutos obtidos das plantas controle foram 7% menores que as plantas inoculadas 30 DAT e 6,3% superiores nas plantas inoculadas no transplante.

Tabela 6 - Número de frutos, massa fresca de frutos por planta e peso médio de frutos de morangueiro em cultivo sem solo com inoculação micorrízica. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

Cultivares	Frutos (nº planta ⁻¹)	Massa Fresca (g planta ⁻¹)	Peso médio (g fruto ⁻¹)
Splendor	1,0 ± 0,9 ab	10,48 ± 11,3 ab	10,19 ± 9,7 b
Sabrina	0,8 ± 0,9 b	8,64 ± 10,2 b	10,00 ± 11,1 b
Fortuna	1,3 ± 0,9 a	14,30 ± 12,0 a	18,24 ± 6,8 a
Média	1,2 ± 0,9	12,41 ± 11,6	14,42 ± 9,8
Épocas de inoculação			
Controle	1,1 ± 1,0	12,08 ± 12,6	12,76 ± 10,4
Inoculado no transplante	1,0 ± 0,9	9,93 ± 10,5	11,96 ± 10,1
Inoculado 30 DAT	1,1 ± 0,9	11,41 ± 11,0	13,65 ± 9,7
Média	1,1 ± 0,9	11,43 ± 11,80	13,44 ± 9,89
Cultivares (cv)	*	*	*
Épocas (épocas)	NS	NS	NS
cv x épocas	NS	NS	NS

Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey. * significativo a $p \leq (0,05)$. NS – não significativo.

O comportamento produtivo das cultivares em relação ao rendimento total de frutos durante o período de cultivo pode ser visualizado na Figura 3. Ambas as cultivares apresentaram comportamento linear ascendente.

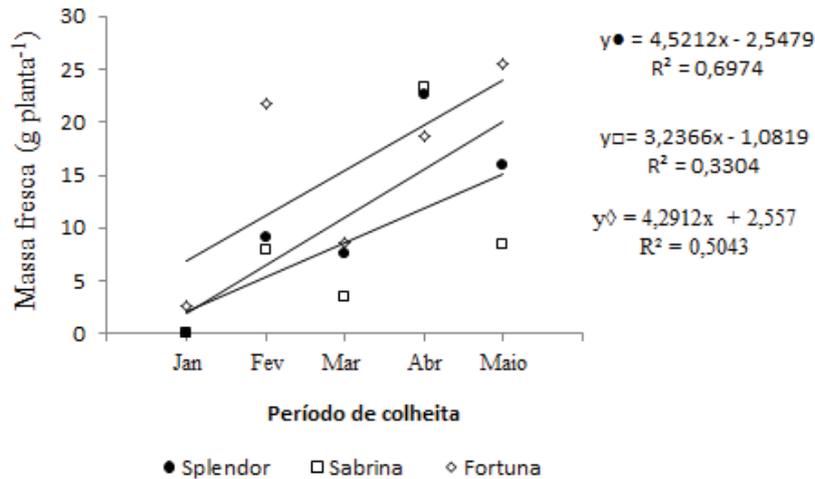


Figura 3 - Comportamento produtivo de três cultivares de morangueiro em sistema de cultivo sem solo inoculadas com fungos micorrízicos. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

3.5 Características físico-químicas

Para verificar se a época de inoculação de fungos micorrízicos apresenta efeito na qualidade dos frutos de morangueiro, foram determinadas as características físico-químicas mais importantes para frutose hortaliças (Tabela 7 e Tabela 8). Em ambas as tabelas se observou, que neste sistema de cultivo, não houve interação entre as épocas de inoculação e as cultivares ($p \geq 0,05$). Somente significância isolada.

Para os tratamentos de inoculação foi obtido significância em frutos colhidos na produção precoce, proveniente de mudas inoculadas 30 DAT (Tabela 7). Frutos produzidos na safra considerada precoce diferenciam - se entre

cultivares em diâmetro e firmeza considerando a média extraída de plantas com e sem inoculação. Fortuna apresentou maior diâmetro de frutos. Sabrina teve frutos mais firmes nas duas safras de produção.

Os resultados para percentagem de ácido cítrico evidenciaram benefícios da micorrização (Tabela 8), com menor acidez em frutos da cultivar Sabrina colhidos na produção tardia. Confirmou-se que essa cultivar é mais doce, embora não tenha diferença das outras duas no sabor (relação SST/ATT) e com mais teor de vitamina C.

Os sólidos solúveis totais, atributo importantíssimo para a aceitação do produto pelos consumidores, apresenta variação entre cultivares (Tabela 8), o que já é relatado em vários estudos (CECATTO et al., 2013; COSTA, 2009; MENDONÇA, 2011). Sabrina mantém os níveis de açúcares mais elevados durante o ciclo de produção, enquanto Fortuna apresenta os mais baixos conteúdos, situação essa observada a campo pelos produtores da província onubense. Todavia, a relação SST/ATT, importante indicativo do sabor, não difere entre cultivares.

Tabela 7 - Diâmetro, firmeza e pH em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculados com fungos micorrízicos em duas épocas. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Cultivares	Diâmetro (mm)			Firmeza (g cm ⁻²)			pH		
	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total
Splendor	22,47±3,43 b	27,61±1,62	26,68±1,82	296,16±10,75 b	220,88±22,76 b	235,37±24,31 b	3,00±0,03	2,99±0,08 ab	2,99±0,06 ab
Sabrina	22,91±4,72 b	40,72±3,35	35,35±2,88	309,71±12,67 a	265,02±22,70 a	276,86±13,00 a	3,00±0,08	2,91±0,22 b	2,95±,16 b
Fortuna	27,25±2,63 a	30,15±3,44	28,67±2,00	282,73±11,97 b	232,08±21,04 b	258,28±14,85 a	3,04±0,06	3,10±0,10 a	3,07±0,06 a
Média	24,57±4,13	32,83±2,68	30,23±1,49	294,98±16,28	239,32±28,61	256,83±24,50	3,01±0,06	3,00±0,16	3,00±0,11
Épocas de Inoculação									
Controle	22,74±3,80	42,7±3,86	36,24±2,56	293,12±11,25 ab	237,95±31,73	254,99±26,92	3,04±0,04	2,92±0,20	2,96±0,15
Inoculado no transplante	27,93±4,32	27,41±1,41	27,85±1,29	280,4±15,47 b	241,48±38,10	252,36±32,15	3,05±0,02	3,04±0,18	3,04±0,1
Inoculado 30 DAT	24,32±3,51	28,35±2,99	26,62±2,2	304,73±14,90 a	238,54±13,92	263,17±11,08	2,97±0,07	3,04±0,08	3,01±0,06
Média	25,61±4,07	27,88±2,32	30,23±1,49	296,94±18,88	240,01±27,87	256,84±24,51	3,02±0,07	3,04±0,13	3,00±0,11
Cultivar	*	NS	NS	*	*	*	NS	*	*
Época	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
cultivar x época	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey. * significativo a p≤(0,05). NS – não significativo.

Tabela 8 - Acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), relação SST/ATT e vitamina C em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculados com fungos micorrízicos em duas épocas. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Cultivares	ATT (% ácido cítrico)			SST (°Brix)			Relação SST/ATT			Vitamina C (mg ác. Ascórbico 100g ⁻¹)
	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total	
Splendor	0,77±0,14	0,69±0,05 a	0,71±0,05	6,80±0,61 ab	5,75±0,45 b	5,96±0,6 b	8,99±1,92	8,48±0,75	8,59±0,97	58,92±8,83 a
Sabrina	0,84±0,21	0,59±0,09 b	0,66±0,09	7,36±1,47 a	6,42±0,39 a	6,75±0,6 a	9,27±2,34	16,23±0,88	13,61±9,53	65,60±5,16 a
Fortuna	0,75±0,06	0,64±0,05 ab	0,70±0,05	5,67±0,57 b	5,31±0,35 c	5,51±0,32 b	8,11±1,15	9,03±0,72	8,46±0,84	47,35±4,37 b
Média	0,78±0,14	0,64±0,07	0,69±0,06	6,52±1,18	5,82±0,60	6,07±0,72	8,72±1,80	11,25±9,53	10,22±5,86	56,44±11,32
Épocas de Inoculação										
Controle	0,90±0,17 a	0,65±0,03	0,73±0,05 a	6,91±1,51	5,66±0,72	6,16±0,9	8,14±2,07	9,03±0,86	8,79±1,03	55,99±10,59
Inoculado no trasplante	0,69±0,08 b	0,63±0,11	0,66±0,08 b	5,76±0,97	5,86±0,69	5,86±0,76	8,71±2,20	14,64±1,64	12,24±10,09	59,29±11,75
Inoculado 30 DAT	0,73±0,07 b	0,65±0,07	0,69±0,05 ab	6,59±0,81	5,95±0,34	6,21±0,48	9,24±1,30	10,07±1,65	9,64±1,31	56,59±7,61
Média	0,72±0,07	0,64±0,09	0,69±0,06	6,29±0,93	5,91±0,53	6,07±0,72	9,05±1,61	12,36±1,61	10,22±5,87	57,29±9,85
Cultivar	NS	*	NS	*	*	*	NS	NS	NS	*
Época	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
cultivar x época	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey. * significativo a p≤(0,05). NS – não significativo.

3.6 Conteúdo de antocianinas e compostos fenólicos.

Houve interferência do fator inoculação (com e sem) entre as cultivares para os compostos de antocianinas e fenólicos. Plantas de Fortuna quando foram inoculadas no transplante produzem frutos mais ricos em antocianinas ($514,04 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Figura 4A). Sabrina apresentou os menores conteúdos em todos os tratamentos e Splendor diminuiu os teores em aproximadamente 23%, quando inoculada no transplante e, até 53% quando a inoculação ocorreu 30 DAT. O inverso foi observado com relação ao conteúdo de fenólicos (Figura 4 B). Fortuna apresentou os menores valores de ácido gálico em todos os tratamentos e Sabrina os maiores, sendo quantificado $235,56 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ quando a inoculação foi realizada no transplante. Splendor, ao ser inoculado com micorrizas, não incrementou os teores de antocianinas, porém respondeu positivamente aos conteúdos de fenólicos. Quando inoculada no transplante os teores se aproximaram muito dos quantificados em Sabrina, sendo determinado $222,85 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$.

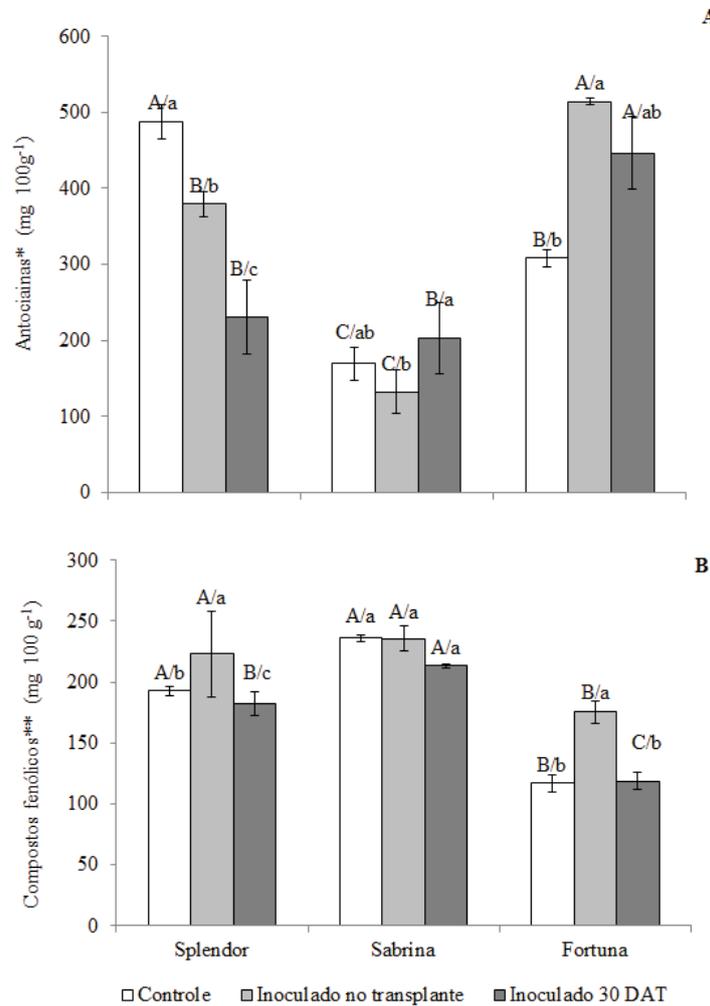


Figura 4 - Médias \pm desvio padrão de antocianinas e compostos fenólicos em frutos de três cultivares de morangueiro cultivados em fibra de coco e inoculado com fungos micorrízicos em diferentes épocas. (A) Conteúdo de antocianinas. * expresso em cianidina-3-glicosídeo. (B) Conteúdo de fenólicos totais. ** expresso em ácido gálico. Médias com letra minúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre tratamentos. Médias com letra maiúscula comum não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre cultivares. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

Para verificar possíveis associações e interferências dos fungos micorrízicos nas características físico-químicas dos frutos foi efetuada análise de correlação de Pearson (Tabela 9).

Quando as plantas não foram inoculadas a firmeza de frutos (média das 3 cultivares) está associada positivamente aos teores de ácido cítrico e açúcares, porém diminui o conteúdo de antocianinas. Vitamina C e fenólicos totais diminuem quando o pH aumenta. O teor de açúcar influencia negativamente o teor de antocianinas.

Frutos de plantas inoculadas no transplante têm associações positivas correlacionando firmeza com açúcares e sabor; açúcar com vitamina C e teores de fenólicos. Todavia, quanto mais firme é o fruto menos o conteúdo de ácido cítrico e quanto mais açúcar e vitamina C diminui o conteúdo de antocianinas.

A inoculação com micorrizas aos 30 DAT influenciou da seguinte forma. Quanto maior foi o diâmetro do fruto menos vitamina C foi obtido; quanto mais açúcar menos antocianinas e quanto maior esses conteúdos menos fenólicos. Por outro lado, quanto mais açúcar mais vitamina C e quanto mais esta vitamina maior riqueza de fenólicos.

Tabela 9- Relação entre as características físico-químicas, baseado nos coeficientes de correlação (r), e épocas de inoculação micorrízica em morangueiro no cultivo fora do solo. Huelva, Espanha, Univer. de Huelva, 2013-2014.

Controle									
	Diâmetro	Firmeza	pH	Ácido Cítrico	Brix	SST/ATT	Vitamina C	Antocianinas	Fenólicos Totais
Diâmetro		0,37	0,29	0,48	0,41	0,22	0,01	-0,44	0,07
Firmeza			-0,31	0,72*	0,73*	0,57	0,28	-0,80*	0,14
pH				0,05	-0,58	-0,58	-0,70*	0,58	-0,80*
Ácido Cítrico					0,46	0,15	0,01	-0,54	-0,09
Brix						0,85*	0,60	-0,83*	0,66
SST/ATT							0,38	-0,63	0,58
Vitamina C								-0,63	0,62
Antocianinas									-0,49
Fenólicos Totais									
Inoculado no transplante									
	Diâmetro	Firmeza	pH	Ácido Cítrico	Brix	SST/ATT	Vitamina C	Antocianinas	Fenólicos Totais
Diâmetro		-0,36	0,36	-0,15	-0,54	-0,15	-0,35	0,09	-0,13
Firmeza			-0,28	-0,68*	0,70*	0,68*	0,22	-0,56	0,27
pH				0,54	-0,37	-0,73*	-0,6	0,33	-0,59
Ácido Cítrico					-0,38	-0,78*	-0,3	0,49	-0,47
Brix						0,37	0,72*	-0,82*	0,69*
SST/ATT							0,28	-0,48	0,41
Vitamina C								-0,73*	0,92*
Antocianinas									-0,84*
Fenólicos Totais									
Inoculado 30 DAT									
	Diâmetro	Firmeza	pH	Ácido Cítrico	Brix	SST/ATT	Vitamina C	Antocianinas	Fenólicos Totais
Diâmetro		-0,15	0,28	0,01	-0,66	-0,29	-0,69*	0,72*	-0,55
Firmeza			-0,06	0,06	-0,28	-0,13	-0,19	-0,03	-0,11
pH				-0,06	-0,22	-0,05	-0,01	0,09	0,01
Ácido Cítrico					0,19	-0,80*	-0,16	0,14	-0,13
Brix						0,37	0,87*	-0,81*	0,70*
SST/ATT							0,65	-0,34	0,56
Vitamina C								-0,89*	0,91*
Antocianinas									-0,92*
Fenólicos Totais									

*, significativo a 5% de probabilidade de erro.

3.7 Avaliações pós-colheita

Frutos armazenados para serem comercializados não apresentaram perda de massa em função da ausência e presença do inoculante, bem como da época que foi inoculado, em relação as cultivares. Também não houve significância em cada fator. Entretanto, observou-se que da colheita até a comercialização houve uma perda de 3,53%, considerando a média dos dois fatores.

Houve uma resposta positiva entre a ausência de inoculante e a presença deste, aplicado em duas épocas e três cultivares para avaliações de antocianinas e fenólicos totais (Tabelas 10 e 11). O conteúdo de antocianinas avaliado na colheita foi superior em frutos da cultivar Splendor oriundos de plantas inoculadas no transplante (259,77 mg 100 g⁻¹ fruto fresco) e de frutos das plantas controle (256,43 mg 100 g⁻¹ fruto fresco). Durante a colheita observou-se que frutos das cultivares Sabrina e Fortuna destacaram-se no conteúdo de antocianinas, quando as plantas foram inoculadas 30 DAT. Após quatro dias de armazenamento, a cultivar Splendor nesse mesmo tratamento, apresentou maior teor de antocianinas. Já a cultivar Fortuna alterou o comportamento, pois os frutos, após o armazenamento, apresentaram efeito quando as plantas foram inoculadas durante o transplante. Contudo, observou-se que na pós-colheita, os teores de antocianinas aumentaram significativamente. Em frutos da cultivar Fortuna, inoculadas no transplante, o aumento foi de aproximadamente 300% e nos frutos da cultivar Splendor

inoculada 30 DAT o aumento foi maior que 200%. Frutos de plantas controle da cultivar Sabrina foram os únicos que apresentaram decréscimo nos conteúdos de antocianina no período pós-colheita, apresentando em média 18% menos que na colheita.

O comportamento do conteúdo de fenólicos foi semelhante ao observado para antocianinas. Durante a colheita Sabrina foi a cultivar com maior qualidade em compostos fenólicos, independente se foi ou não inoculada e a época em que a planta recebeu as micorrizas. Na pós-colheita essa cultivar também confere maior conteúdo de fenólicos, porém em frutos colhidos de plantas sem inoculação. Também Splendor tem essa qualidade, entretanto as plantas necessitam ser inoculadas 30 DAT. Observou-se que o incremento dos conteúdos pós-colheita foram menores, atingindo 59% a mais de ácido gálico em frutos cultivar Splendor inoculados 30 DAT (Tabela 11). Na colheita, os frutos da cultivar Sabrina apresentaram os maiores conteúdos de ácido gálico, tanto nos frutos das plantas controle como nos frutos das plantas inoculadas. No entanto, na pós-colheita, os frutos das plantas inoculadas 30 DAT da cultivar Splendor foram os que apresentaram o maior incremento de fenólicos (258 mg 100 g⁻¹ fruto fresco). Frutos das cultivares Sabrina e Fortuna oriundos de plantas inoculadas no transplante sofreram um decréscimo nos conteúdos de ácido gálico na pós-colheita, em média 12% e 4% respectivamente em relação à colheita.

Tabela 10 - Conteúdo de antocianinas* em frutos durante a colheita e pós-colheita em três cultivares de morangueiro com inoculação micorrízica e na ausência desta, produzidas no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

Tratamentos	Colheita		
	Splendor	Sabrina	Fortuna
Controle	A 256,43 ± 12,71 a	B 134,55 ± 12,79 a	B 108,65 ± 10,13 b
Inoculado no Transplante	A 259,77 ± 7,03 a	C 65,84 ± 15,38 b	B 125,07 ± 11,24 ab
Inoculado 30 DAT	A 172,16 ± 43,85b	A 158,69 ± 9,60 a	A 151,18 ± 7,73 a
Média	229,45 ± 21,86	119,69 ± 12,59	128,30 ± 9,70
Cultivar (cv)		*	
Tratamento (Trat)		*	
Trat x cv		*	
Tratamentos	Pós-colheita		
	Splendor	Sabrina	Fortuna
Controle	A 393,70 ± 44,01 b	B 110,87 ± 20,54 c	B 159,41 ± 14,26 c
Inoculado no Transplante	A 539,79 ± 2,01 a	B 195,72 ± 5,41 b	A 541,57 ± 7,00 a
Inoculado 30 DAT	A 572,08 ± 8,30 a	C 288,30 ± 9,60 a	B 449,12 ± 10,92 b
Média	501,85 ± 18,10	198,29 ± 11,85	383,36 ± 10,72
Cultivar (cv)		*	
Tratamento (Trat)		*	
Trat x cv		*	

*Expresso em cianidina-3-glicosídeo 100 g de fruto fresco⁻¹. Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra minúscula na coluna e antecedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 3$). NS – não significativo.

Tabela 11 - Conteúdo de fenólicos totais* em frutos durante a colheita e pós-colheita em três cultivares de morangueiro com inoculação micorrízica e na ausência desta, produzidas no cultivo fora do solo. Huelva, Univer. de Huelva, 2014.

Tratamentos	Colheita		
	Splendor	Sabrina	Fortuna
Controle	AB 171,22 ± 5,58 b	A 231,29 ± 37,61 a	B 111,80 ± 8,26 b
Inoculado no Transplante	B 184,58 ± 6,92 a	A 216,58 ± 13,11 a	C 152,89 ± 10,96 a
Inoculado 30 DAT	B 162,02 ± 6,31 c	A 211,54 ± 7,51 a	C 114,00 ± 9,83 b
Média	172,60 ± 6,27	219,80 ± 19,41	126,23 ± 9,68
Cultivar (cv)		*	
Tratamento (Trat)		*	
Trat x cv		*	
Tratamentos	Pós-colheita		
	Splendor	Sabrina	Fortuna
Controle	A 201,66 ± 9,78 b	A 230,45 ± 8,23 a	B 156,75 ± 23,74 a
Inoculado no Transplante	A 212,99 ± 6,17 b	AB 190,62 ± 23,93 a	B 146,61 ± 4,13 a
Inoculado 30 DAT	A 258,11 ± 3,20 a	B 213,37 ± 4,46 a	C 154,00 ± 4,81 a
Média	224,22 ± 6,38	211,48 ± 12,20	152,45 ± 10,89
Cultivar (cv)		*	
Tratamento (Trat)		*	
Trat x cv		*	

*Expresso em mg de ácido gálico L⁻¹. Médias ± desvio padrão seguidas de mesma letra minúscula na coluna e antecedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) ($n = 3$). NS – não significativo.

4 DISCUSSÃO

Os resultados desse experimento identificam a cultivar Fortuna como sendo beneficiada pela inoculação com o produto a base de micorrizas. A dependência micorrízica evidencia os benefícios da associação com fungos micorrízicos arbusculares, refletindo na produção de frutos. Por outro lado, a época da inoculação micorrízica, bem como, a presença dos fungos micorrízicos, não influenciam no crescimento, rendimento e produção de enzimas das plantas. Apesar de não obtermos influência significativa dos fungos micorrízicos no cultivo do morangueiro em fibra de coco, encontrou-se colonização em 52% das raízes quando foi inoculado aos 30 DAT. Entre as cultivares, Fortuna teve 73% das raízes colonizadas pelo fungo. Níveis de colonização similares foram obtidos por Vestberg (1992) em 10 cultivares de morangueiro com *G. mosseae* (22 – 42%) e por Varma & Schüepp (1994) na cultivar Avanta inoculada com *G. intraradices* (41%).

No presente trabalho as estruturas fúngicas mais presentes nas raízes foram hifas e esporos, não havendo a presença de estruturas do tipo arbusculares. Também Alarcón et al. (2001) observaram baixa incidência de arbúsculos e presença de esporos intrarradiciais na ordem de 50,6%, em plantas matrizes de morangueiro, o que foi muito similar ao nosso estudo. Entretanto, a percentagem de colonização nem sempre é uma característica segura para definir o efeito que o endófito causa no crescimento de sua planta hospedeira (MOREIRA-

SOUZA & CARDOSO, 2002). Em plantas de cacau, valores de colonização micorrízica de 5 % demonstraram ser suficientes para um bom desenvolvimento (EZETA & SANTOS, 1981). A principal forma de intercâmbio bidirecional de nutrientes entre ambos simbioses foi proposta por Smith & Gianinazzi-Pearson (1988), para o estabelecimento da interfase arbuscular nas células corticais do hospedeiro. No entanto, Bago et al. (2003), mencionam que não são somente os arbúsculos que realizam as trocas de nutrientes, há indícios de que também as hifas intercelulares contribuem de forma significativa na liberação de nutrientes nas células do hospedeiro.

É importante salientar que nem sempre o estabelecimento da associação simbiótica garante eficiência micorrízica elevada (MOREIRA-SOUZA & CARDOSO, 2002). Muitas vezes, as espécies de FMAs com mecanismos evoluídos de infectividade não fornecem benefícios para a planta, pois são ineficientes nas trocas, e, conseqüentemente, não favorecem o crescimento da planta (HETRICK & WILSON, 1991).

Por outro lado, a utilização de inoculantes comerciais a base de fungos micorrízicos pode ter sido um dos problemas da baixa colonização e influência nos parâmetros avaliados em nosso estudo. O uso desses inoculantes, segundo Garland et al. (2011), traz como principal desvantagem a presença de apenas uma ou algumas poucas espécies do fungo que podem ou não se adaptarem às condições do meio, onde serão utilizadas. Devendo ser, preferencialmente, empregados em casos onde as populações de fungos nativos são muito baixas ou ausentes. O cultivo em substratos, como o realizado em

nosso estudo, justificaria a utilização do inoculante, porém nenhum efeito da presença do inóculo foi observado, o que nos leva a crer que o tipo de substrato e as espécies utilizadas influenciam na maior eficiência do fungo. Por outro lado, a utilização de FMAs em cultivos hidropônicos necessitam de estudos mais direcionados sobre o manejo do sistema, quando na presença desses fungos.

Com relação aos substratos, de acordo com Gianinazzi et al. (1990) a inoculação pode ser realizada em materiais com maior fertilidade, no entanto, para que expresse seu benefício devem ser considerados aspectos relacionados ao conteúdo de matéria orgânica e fósforo, os quais podem refletir na funcionalidade e efetividade dos fungos micorrízicos. Dessa forma, a composição do substrato modula as respostas obtidas (POUYU-ROJAS et al., 2006). A fibra de coco utilizada em nosso experimento mostrou uma relação C:N de 1:80, matéria orgânica total de 94-98%, 45-50% de carbono orgânico e 20-30% de celulose, podendo ser este um dos problemas associados a efetividade das micorrizas. Segundo Doude et al. (1997), um composto com baixa relação C:N é preferível para o desenvolvimento dos fungos micorrízicos. Além disto, os microrganismos presentes na fibra de coco devem ser considerados. Apesar de não termos avaliado as populações microbianas do substrato em nosso estudo, outros trabalhos indicam que há populações antagonistas de bactérias e outros grupos de microrganismos na rizosfera que diferem entre as diferentes fibras de coco do mercado o que podem contribuir para resultados variáveis (LINDERMAN & DAVIS, 2003;

LINDERMAN et al., 2003). McAllister et al. (1994) concluíram que o acúmulo de substâncias tóxicas produzidas por saprófitas, por exemplo, podem inibir o crescimento de FMAs.

Estudos sobre a influência dos fungos micorrízicos nos atributos de crescimento, desenvolvimento e rendimento de frutos no cultivo de morangueiro são bastante controversos. Em nosso estudo, não houve qualquer influência destes microrganismos nas variáveis estudadas. Tal qual em nosso trabalho, Salgado-Barreiro et al. (2012) não observaram diferenças significativas em peso seco de raiz e de parte aérea associada à presença do inóculo micorrízico em plantas de Camino Real. Gryndler et al. (2002) observaram menor peso seco e comprimento de raiz nos tratamentos com inoculação e Alarcón et al. (2001) concluíram que não há diferenças significativas entre massa seca da parte aérea, havendo diferença no volume e massa seca radicial de plantas inoculadas, mesmo sendo significativamente menores que nas plantas controle. Em contra partida, em trabalho de Taylor & Harrier (2001) plantas colonizadas por *G. margarita* incrementaram significativamente o peso fresco e seco de raízes e as plantas colonizadas por *G. intraradices* apresentaram também incremento do peso seco da raiz. Martínez (2012) verificou aumento da área foliar nas cultivares Albion e Jacona inoculadas com micorrizas, ao mesmo tempo em que observou não haver influência sobre o número de folhas e peso fresco total. Em relação aos teores de SPAD, como em nosso trabalho, Martinez et al. (2013) não observaram efeito da micorrização sobre os teores de SPAD. Entretanto, há respostas entre cultivares, mostrando em Splendor

maior conteúdo de clorofila. Embora com maior potencial fotossintético não foi confirmada maior produção. Esse resultado pode estar ligado em ser esta cultivar não dependente da simbiose micorrízica. Já em alcachofra, os conteúdos de clorofila foram superiores em plantas micorrizadas em relação as não micorrizadas (CAMPANELLI et al., 2014).

Em relação a determinação da atividade enzimática em folhas de morangueiro, há poucos trabalhos. Em plantas que sofreram inoculação micorrízica este tipo de informação, no entanto, é incipiente. Os resultados encontrados pelo nosso trabalho demonstraram que estas duas enzimas não são influenciadas pelos fungos micorrízicos. Assim como em nosso estudo, Criquet et al. (2000) não encontraram atividade da enzima lacase em plantas micorrizadas, apesar da quantificação ter sido realizada em raízes e não em folhas. Sabe-se, por sua vez, que os fungos micorrízicos desempenham um papel essencial na tolerância ao estresse (JONER & LEYVAL, 2001). Eles induzem a um aumento da atividade de enzimas antioxidativas, como peroxidase, lacase, catalase e superóxido dismutase (LAMBAIS et al., 2003), enzimas essas capazes de eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs) que ocorrem naturalmente no metabolismo celular em condições de estresse. Dessa forma, poderia ter-se um acúmulo dessas enzimas de interesse biotecnológico.

Com respeito aos parâmetros de rendimento, encontramos dados corroborando com nosso estudo. Garland et al. (2011) e Cekic & Yilmaz (2011) observaram que a utilização de inoculantes comerciais ou o uso de fungos nativos

promoveram a infecção radicial, porém esta não influenciou significativamente em maior rendimento ou incremento de produção. Todavia, Martínez (2012) concluiu que a cultivar Albion quando inoculada com *G. clarum* teve um incremento de até 28,75% em rendimento em relação ao controle e a cultivar Jacona apresentou maior peso médio de fruto quando inoculada com um mix de fungos micorrízicos.

Analisando o comportamento produtivo das três cultivares de dias curtos empregadas no estudo, observou-se um comportamento linear ascendente (Figura 3).

Este é o primeiro trabalho que demonstra que a época de inoculação micorrízica em plantas de morangueiro cultivadas fora do solo, afeta as características físico-químicas e, principalmente antocianinas e compostos fenólicos em frutos. Quando a inoculação é realizada no transplante das mudas, os frutos apresentaram o maior teor de antocianina ($514 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e fenólicos totais ($235,6 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$). Benefícios em relação a produção de compostos fenólicos em morangueiro inoculado com FMAs, mas em outros sistemas de cultivo, também foram observados em outros estudos. Castellanos-Morales et al. (2010) demonstraram, pela primeira vez, que a simbiose, entre plantas de morangueiro e fungos micorrízicos, induz a um aumento de cianidina – 3 – glucosídio e de outros compostos fenólicos nos frutos. Lingua et al. (2013) trabalhando com a cultivar Selva e fungos micorrízicos do genero *Glomus* obtiveram concentrações de $350 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de pelargonidina-3-glucosídeo e $4,5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de cianidina – 3 – glicosídeo. Resultados positivos da inoculação de micorrizas em aspectos de qualidade de frutos,

principalmente compostos bioativos, também foram obtidos em outras culturas. Em estudo realizado por Giovannetti et al. (2012), com tomateiro inoculado com fungos micorrízicos em casa de vegetação, observou-se que a simbiose afetou positivamente o valor nutricional dos frutos, aumentando os níveis de licopeno. Baslam et al. (2011) em alface micorrizadas observaram que após a inoculação o conteúdo de sólidos solúveis totais (SST) nas folhas aumentou, assim como os teores de compostos fenólicos e antocianinas, principalmente nas folhas mais internas.

A qualidade física e sensorial de morangos está associada com características como tamanho, firmeza, cor, pH, relação açúcar/ácidos, sabor e aroma. Em nosso estudo, as maiores diferenças encontram-se entre as cultivares de morangueiro. A cultivar Sabrina apresenta frutos mais doces, firmes, com maior teor de vitamina C, quando cultivada em fibra de coco. Apesar dessa cultivar apresentar maiores conteúdos de açúcar (graus Brix), permanece abaixo do considerado ideal para frutos destinados ao consumo *in natura*, valores acima de 7% (MITCHELL et al., 1996; NAMESNY, 1999).

A influência dos fungos micorrízicos sobre os aspectos básicos de qualidade foram observados somente para os atributos firmeza e acidez total titulável, quando as plantas foram inoculadas 30 DAT e no início do período produtivo, o que compreende até a vigésima segunda semana de produção. Castellanos-Morales et al. (2010), verificaram na cultivar Aromas cultivada em fibra de coco e perlita (1:3 v/v), que a

inoculação de fungos micorrízicos não afetou o diâmetro dos frutos, acidez total titulável e graus Brix, corroborando com resultados obtidos em nosso trabalho.

Os frutos dos morangos são uma importante fonte de compostos bioativos devido aos altos níveis de vitamina C e de metabólitos secundários de plantas, substâncias relacionadas por ter potenciais propriedades benéficas para a saúde (AKHATOU & FERNÁNDEZ-RECAMALES, 2014; PINELI et al., 2011; TULIPANI et al., 2008; VAN De VELDE et al., 2013).

Em nosso estudo a presença dos fungos micorrízicos não afetou os conteúdos de vitamina C, havendo diferença somente dentre as cultivares. Os conteúdos de ácido ascórbico encontrados no presente estudo (44, 2 a 67,6 mg 100g⁻¹) foram semelhantes a outros estudos com morangueiro. Flores-Cantillano et al. (2012) encontraram níveis de 55, 56 mg 100g⁻¹ e 53,50 mg 100g⁻¹ de ácido ascórbico para as cultivares Camino Real e Camarosa, respectivamente. Enquanto que Mazur et al. (2014) obtiveram para as cultivares Blink, Polka e Senga, 49 mg 100g⁻¹, 43 mg 100g⁻¹ e 44 mg 100g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente.

Buscando verificar quais características estão associadas entre si, de acordo com o fator inoculação, realizou-se análise de Pearson (Tabela 9). Constatou-se que frutos mais firmes associam-se positivamente a teores mais elevados de açúcar, que por sua vez correlaciona-se com os conteúdos de vitamina C e compostos fenólicos, porém com menor teor de antocianinas. Esses resultados são semelhantes na presença ou ausência de inoculantes micorrízicos.

Comparando com outros autores (SOUZA et al., 2014; MALACRIDA & MOTTA, 2005) que também obtiveram resultados adversos ao presente estudo. Os autores verificaram, em suco de uva, que houve correlação entre fenólicos totais e antocianinas, porém de ordem positiva. No entanto, identificaram que houve uma correlação negativa entre a contribuição das antocianinas poliméricas à cor do suco e as concentrações de fenólicos totais, e explicam que isso ocorre provavelmente devido a polimerização das antocianinas monoméricas. Nesse caso, uma alta polimerização das antocianinas provoca uma redução nos teores de compostos fenólicos totais.

Em nosso estudo, pode-se verificar que a correlação negativa entre fenólicos e antocianinas, no ato da colheita, é claramente visualizada na Figura 4. Independente da cultivar utilizada, quando há inoculação micorrízica essa relação é mais acentuada.

No comportamento pós-colheita, frutos da cultivar Splendor oriundos de plantas micorrizadas, expressam maior conteúdo de antocianinas após o período de refrigeração em detrimento aos teores determinados na colheita. Nos conteúdos de fenólicos totais a interferência da inoculação é menos evidenciada.

De uma forma geral, há influência comprovada dos FMAs em relação a qualidade dos frutos, principalmente na produção de compostos fitoquímicos. Castellanos-Morales et al. (2010), Rivera-Chávez et al. (2012) e Lingua et al. (2013) demonstraram que a simbiose, entre plantas de morangueiro e

fungos micorrízicos, induz a um aumento de antocianinas e de outros compostos fenólicos nos frutos. Contudo, não há estudos que visam identificar se essa tendência se mantém no período pós-colheita. Sabe-se que os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) afetam vários aspectos fisiológicos das plantas, como crescimento, absorção de nutrientes e aumento na tolerância a fatores de estresses ambientais os quais são amplamente estudados mundialmente. No entanto, outros efeitos dos FMAs às vezes são desconsiderados, como por exemplo, sua possível influência no comportamento pós-colheita dos frutos. Em nosso estudo, a inoculação micorrízica influenciou nos teores de compostos fitoquímicos não somente na colheita, mas após o período pós-colheita. Independente da cultivar utilizada, a inoculação micorrízica no transplante proporcionou um incremento de aproximadamente 200% nos teores de antocianinas em frutos na pós-colheita em relação a colheita. Enquanto para fenólicos, a inoculação 30 DAT foi mais eficiente, provocando um aumento de ácido gálico pós-colheita em torno de 47%. Trabalhos similares, porém, sem a utilização de fungos micorrízicos, foram realizados visando quantificar os teores de antocianinas e fenólicos em frutos de morangos pós-colheita. Nesse sentido, Flores-Cantillano et al. (2012) observaram que depois de oito dias de armazenamento a 1 °C os níveis de fenólicos totais nos frutos da cultivar Camino Real e Camarosa aumentaram em 14% e 18%, respectivamente em relação ao dia da colheita. Da mesma forma, Ayala-Zavala et al. (2004) observaram que o conteúdo de fenólicos totais aumentam em até 61% quando os frutos são submetidos a 10°C. Ambos

autores observaram também aumento significativo nos níveis de antocianinas em frutos armazenados sob refrigeração. Holcroft & Kader, (1999) determinaram um ganho de 35% nos níveis de antocianinas em frutos armazenados a 5 °C por 10 dias. Os resultados encontrados em nosso estudo podem ser advindos de possíveis estresses mecânicos ou biológicos, exposição a luz, disponibilidade de oxigênio (NACZK & SHAHIDI, 2004), exposição as baixas temperaturas (BOO et al., 2011), pela influencia dos fungos micorrízicos ou uma mescla de todos fatores.

A perda de água é um acelerador da senescência das frutas, acarretando em uma maior rapidez na taxa de desintegração da membrana e perda do conteúdo celular e, conseqüentemente, murchamento e perda de succulência (BRACKMANN et al., 2011). Estudos anteriores sugerem que os FMAs influenciam na distribuição dos fotoassimilados para os frutos, além de melhorarem sua firmeza (RIVERA-CHÁVEZ et al., 2012), influenciando conseqüentemente em uma menor perda de massa fresca. Segundo Medina et al. (1997) o impacto dos FMAs sobre a firmeza dos frutos de morango provavelmente seja conseqüência da diminuição da atividade de enzimas pécticas sobre a parede celular do fruto. No presente estudo, durante o período de armazenamento, não se observou diferenças quanto à perda de massa fresca entre cultivares e épocas de inoculação, assim como no estudo realizado por Brackmann et al. (2011). Porém há uma tendência em menor perda de massa pelos frutos oriundos de plantas que sofreram inoculação micorrízica. No entanto, nossos resultados são

satisfatórios, uma vez que, de acordo com García et al. (1998), a máxima perda de massa fresca tolerada para morangos é de 6% e a determinada no presente estudo permaneceu abaixo dos 4%.

5 CONCLUSÕES

A cultivar Fortuna de morangueiro estabelece associações simbióticas com o inoculante comercial, refletindo em rendimento.

A época de inoculação micorrízica não influencia no desenvolvimento, rendimento e produção de enzimas em plantas de morangueiro cultivadas fora do solo.

A inoculação micorrízica interfere nos teores de antocianinas e compostos fenólicos de morango na colheita e na pós-colheita.

Há maior acúmulo de antocianinas em frutos de morangos, pós-colheita, quando a inoculação micorrízica é realizada no transplante e de fenólicos totais aos 30 DAT.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos com fungos micorrízicos arbusculares, na cultura do morangueiro, em sistema de cultivo fora do solo iniciaram com um grupo de pesquisa espanhol. A professora Fátima Martínez, o professor Carlos Weiland, ambos da Universidade de Huelva e o professor Pedro Palencia, da Universidade de Oviedo, foram os precursores desse tipo de pesquisa. Instigados pelo grupo espanhol, nosso grupo brasileiro, resolveu se unir a eles e, formou-se também um grupo de pesquisa sobre o tema.

Para o cultivo em substrato do morangueiro na Espanha utiliza-se o substrato fibra de coco como meio de cultivo. Além disso, as cultivares mais utilizadas em todo o país são cultivares de Dias Curtos. Ao contrário do Sul do Brasil, onde os substratos empregados são a base de casca de arroz carbonizada ou misturados a substratos comerciais. As cultivares empregadas no sistema de cultivo em substrato são de Dias Curtos como de Dias Neutros.

Em ambas as localidades e manejos, verificou-se que a utilização de FMAs no cultivo do morangueiro é viável e traz benefícios para as plantas.

No entanto, após a realização dos experimentos, tanto no Brasil como na Espanha, verificou-se a necessidade de maiores estudos referentes a alguns aspectos. Por exemplo, maiores estudos com relação à nutrição das plantas, irrigação e fertirrigação. Além disso, observou-se que o substrato utilizado

exerce influência sobre o estabelecimento e efetividade da simbiose. Nesse sentido, estudos com relação às características químicas, físicas e principalmente microbiológicas dos substratos, são importantes aspectos a serem pesquisados.

Outra observação realizada pelo grande grupo de pesquisa foi à necessidade da realização de trabalhos onde a inoculação micorrízica fosse realizada previamente nos viveiros. Dessa forma, as mudas chegariam aos produtores com um índice de colonização radicial, aumentando as chances desses inóculos se multiplicarem no ambiente definitivo e promoverem a simbiose de forma positiva.

A identificação de espécies de fungos micorrízicos oriundos de campos produtores de morangueiro, sua purificação e multiplicação para posterior reinoculação em cultivo sem solo, também são sugestões de trabalhos a serem realizados. Geralmente, inóculos oriundos de campos produtores (*on farm*), já estão adaptados à cultura, aumentando as chances destes inóculos, promoverem benefícios a cultura.

Diante disso, ambos grupos estão formando recursos humanos visando ampliar os estudos, na utilização de fungos micorrízicos arbusculares em cultivo sem solo de morangueiro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, K.; MAZUR, S.; NES, A.; SKREDE, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, New York, v. 132, n. 1, p. 86–97, 2012.

ABELES, F. B.; TAKEDA, F. Cellulase Activity and Ethylene in Ripening Strawberry and Apple Fruits. *Scientia Horticulturae*, New York, v. 42, p. 269–275, 1990.

AKHATOU, I.; FERNÁNDEZ-RECAMALES, A. Nutritional and nutraceutical quality of strawberries in relation to harvest time and crop conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, Washington, v. 62, n. 25, p. 5749–60, 2014.

ALARCÓN, A.; FERRERA-CERRATO, R.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; VILLEGAS-MONTER, A. Hongos micorrízicos arbusculares en la dinámica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa cv. Fern obtenidas por cultivo in vitro. *Terra*, v. 18, n. 3, p. 211–218, 2001.

ANTUNES, L. E. C.; PERES, N. A. Strawberry Production in Brazil and South America. *International Journal of Fruit Science*, United Kingdom, v. 13, n. 1-2, p. 156–161, 2013.

ANTUNES, L. E. C.; REISSER JÚNIOR, C. Produção de morangos. *Jornal da Fruta*, Lajes, v. 15, n. 191, p. 22–24, 2007a.

ANTUNES, L. E. C.; REISSER JÚNIOR, C. Fragole, i produttori brasiliani mirano all'esportazione in Europa. *Frutticoltura*, Bologna, v. 69, p. 60-65, 2007b.

AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th ed. Maryland: AOAC International, 2000. 300 p.

ARAIM, G.; SALEEM, A.; ARNASON, J. T.; CHAREST, C. Root colonization by an arbuscular mycorrhizal (AM) fungus increases growth and secondary metabolism of purple

coneflower, *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Journal of agricultural and food chemistry*, Washington, v. 57, n. 6, p. 2255–2258, 2009.

ARANHA, F. .; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; et al. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 13, n. 2, p. 89–97, 2000.

ATKINSON, C. J.; DODDS, P. A A; FORD, Y. Y.; et al. Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria x ananassa* productivity and fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations. *Annals of botany*, Leicester, v. 97, n. 3, p. 429–441, 2006.

AYALA-ZAVALA, J. F.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT - Food Science and Technology*, New York, v. 37, n. 7, p. 687–695, 2004.

AZCÓN, R., & OCAMPO, J. A. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytologist*, United Kingdom, 87, 677–685, 1981.

BAGO, B.; PFEFFER, P. E.; ABUBAKER, J.; et al. Carbon Export from Arbuscular Mycorrhizal Roots Involves the Translocation of Carbohydrate as well as Lipid. *Plant Physiology*, New York v. 131, n. 3, p. 1496–1507, 2003.

BALDRIAN, P. Fungal laccases - occurrence and properties. *FEMS Microbiology Review*, Oxford, v. 30, n. 2, p. 215–242, 2006.

BASLAM, M.; GARMENDIA, I.; GOICOECHEA, N. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved growth and nutritional quality of greenhouse-grown lettuce. *Journal of agricultural and food chemistry*, Washington, v. 59, n. 10, p. 5504–5515, 2011.

BASLAM, M.; GOICOECHEA, N. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing

the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. *Mycorrhiza*, Cham, v. 22, n. 5, p. 347–359, 2012.

BENÍTEZ, A.; ANTONIO, M.; GARZA, I.; BLANCA, M. Diseño de un sistema para la desinfección de sustrato utilizado en la producción de micorrizas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Texcoco, n. 4, p. 624–635, 2012.

BOO, H.-O.; HEO, B.-G.; GORINSTEIN, S.; CHON, S.-U. Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. *Plant science*, New York, v. 181, n. 4, p. 479–84, 2011.

BOROWICZ, V. A. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi on strawberry tolerance to root damage and drought stress. *Pedobiologia*, New York, v. 53, n. 4, p. 265–270, 2010.

BRACKMANN, A.; PAVANELLO, E. P.; BOTH, V.; et al. Avaliação de genótipos de morangueiro quanto à qualidade e potencial de armazenamento. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 58, n. 5, p. 542–547, 2011.

BULLOCK, D. G.; ANDERSON, D. S. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. *Journal of Plant Nutrition*, United Kingdom, v. 21, p. 741–755, 1999.

CALVETE, E. O.; NIENOW, A. A.; WESP, C. D. L.; et al. Produção hidropônica de morangueiro em sistema de colunas verticais, sob cultivo protegido. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 524–529, 2007.

CALVETE, E. O.; ROCHA, H. C.; ANTUNES, O. T.; NIENOW, A. A. *Morangueiro polinizado pela abelha jataí em ambiente protegido*. Passo Fundo: UPF, 2005. 53 p.

CAMPANELLI, A.; RUTA, C.; TAGARELLI, A.; MORONE-FORTUNATO, I.; DE MASTRO, G. Effectiveness of mycorrhizal fungi on globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus*) micropropagation. *Journal of Plant Interactions*, United Kingdom, v. 9, n. 1, p. 100–106, 2014.

CARVALHO, A.; BLUM-SILVA, C. H.; CALVETE, E.; REGINATTO, F. H.; SIMÕES, C. M. O. Anti HSV-1 Activity of Five Strawberry Cultivars. *Latin American Journal of Pharmacy*, Buenos Aires, v. 31, n. 1, p. 133–137, 2012.

CASSELLS, A.; MARK, G.; PERIAPPURAM, C. Establishment of arbuscular mycorrhizal fungi in autotrophic strawberry cultures in vitro. Comparison with inoculation of microplants in vivo. *Agronomie*, Rennes, v. 16, n. 10, p. 625–632, 1996.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNÁNDEZ, M. D. L.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E.; RODRÍGUEZ, J. A.; GALÁN-VIDAL, C. A. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, New York, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CASTELLANOS-MORALES, V.; VILLEGAS, J.; WENDELIN, S.; et al. Root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* alters the quality of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch.) at different nitrogen levels. *Journal of the science of food and agriculture*, United Kingdom, v. 90, n. 11, p. 1774–1782, 2010.

CASTELLANOS-MORALES, V.; VILLEGAS-MORENO, J.; VIERHEILIG, H.; CÁRDENAS-NAVARRO, R. Nitrogen availability drives the effect of *Glomus intraradices* on the growth of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants. *Journal of the science of food and agriculture*, United Kingdom, v. 92, n. 11, p. 2260–2264, 2012.

CASTRO, R. . *Diversidade genética, adaptabilidade e estabilidade do morangueiro (Fragaria x ananassa Duc.) em cultivo orgânico*. 2002. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade de Viçosa, Viçosa, 2002. 145 p.

CECATTO, A. P.; CALVETE, E. O.; ESCOSTEGUY, P. A. V.; DE NARDI, F. S.; LIMA, F. Effect of substrate sterilization with mycorrhizal inoculation on growth strawberry. In: VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas. *Anais...* . Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, p.389,

2013a. Disponível em: <<http://sechaging-madrid2013.org/index.php?go=comunicaciones>>.

CECATTO, A. P.; CALVETE, E. O.; ESCOSTEGUY, P. A. V.; DE NARDI, F. S.; PEDERSEN, A.C.; LIMA, F. Avaliação da esterilização em substratos na presença de fungos micorrízicos em morangueiro. In: XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Ciência do Solo: Para que e para quem? Programa & Resumos. Florianópolis: Epagri e SBCS, 2013b.

CECCARELLI, N.; CURADI, M.; MARTELLONI, L.; et al. Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant and Soil*, Cham, v. 335, n. 1-2, p. 311–323, 2010.

CEKIC, C.; YILMAZ, E. Effect of arbuscular mycorrhiza and different doses of phosphor on vegetative and generative components of strawberries applied with different phosphor doses in soilless culture. *African Journal of Agricultural Research*, Nigeria, v. 6, n. 20, p. 4736–4739, 2011.

CHANG, S. X.; ROBISON, D. J. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management*, New York, v. 181, n. 3331-338, 2003.

CHÁVEZ, M. C. G.; FERRERA-CERRATO, R. Effect of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae on Tissue Culture-derived Plantlets of Strawberry. *HortScience*, New York, v. 25, n. 8, p. 903–905, 1990.

CHEYNIER, V.; COMTE, G.; DAVIES, K. M.; LATTANZIO, V.; MARTENS, S. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, New York, p. 1–20, 2013.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. *Pós-colheita de frutose hortaliças: fisiologia e manuseio*. 2.ed. ed. Lavras: Editora UFLA, 2005. 783p.

CLAUS, H. Laccases and their occurrence in prokaryotes. *Archives of microbiology*, New York, v. 179, n. 3, p. 145–150, 2003.

CONSEJERÍA DE AGRICULTURA. Cambio varietal en la fresa de Huelva. Campañas 2011/12 y 2012/13. *Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente*, p. 1–2, 2013. Huelva. Disponível em: <<http://www.juntadeandalucia.es/index.html>>. Acesso em: 20/7/2014.

CONSEJERÍA DE AGRICULTURA. Evaluación de la Campaña de Fresa: Huelva 2013/14. Disponível em: <<http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/observatorio>>. Acesso em: 10/8/2014.

COPETTA, A.; LINGUA, G.; BERTA, G. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza*, Cham, v. 16, n. 7, p. 485–494, 2006.

COSTA, R. C.; CALVETE, E. O.; REGINATTO, F. H.; et al. Telas de sombreamento na produção de morangueiro em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 98–102, 2011.

COSTA, R. C. DA. *Teores de clorofila, produção e qualidade de frutos de morangueiro sob telas de sombreamento em ambiente protegido*. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009. 126 p.

COSTA, R. C. DA. *Ecofisiologia, rendimento e qualidade de morangueiro de dias neutros cv. Albion em diferentes substrato*. 2012. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Universidade de Passo Fundo, 2012. 147 p.

CRIQUET, S.; JONER, E. J.; LEGLIZE, P.; LEYVAL, C. Anthracene and mycorrhiza affect the activity of oxidoreductases in the roots and the rhizosphere of lucerne

(*Medicago sativa* L.). *Biotechnoly Letters*, New York, v. 22, p. 1733–1737, 2000.

CRIQUET, S.; TAGGER, S.; VOGT, G.; IACAZIO, G.; PETIT, J. LE. Laccase activity of forest litter. *Soil Biology and Biochemistry*, New York, v. 31, p. 1239–1244, 1999.

CRIQUET, S.; TAGGER, S.; VOGT, G.; PETIT, J. LE. Endoglucanase and b - glycosidase activities in an evergreen oak litter: annual variation and regulating factors. *Soil Biology and Biochemistry*, New York, v. 34, p. 1111–1120, 2002.

DAFT, M. J.; OKUSANYA, O. Effect of endogonoe mycorrhiza on plant growth. *New Phytologist*, United Kingdom, v. 72, p. 1333–1339, 1973.

DA SILVA, F. L.; ESCRIBANO-BAILÓN, M. T.; PÉREZ ALONSO, J. J.; RIVAS-GONZALO, J. C.; SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT - Food Science and Technology*, Campinas, v. 40, n. 2, p. 374–382, 2007.

DECLERCK, S.; PLENCHETTE, C.; STRULLU, D. G. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil*, New York, v. 176, n. 1, p. 183–187, 1995.

DOUDS, D. D.; GALVEZ, L.; FRANKESNYDER, M.; REIDER, C.; DRINKWATER, L. E. Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, New York, v. 65, p. 257–266, 1997.

DOUDS DD, NAGAHASHI G, SHENK JE, D. K. Inoculation of strawberries with AM fungi produced on-farm increased yield. *Biological Agriculture and Horticulture*, London, v. 26, p. 209–219, 2008.

EZETA, F. N.; SANTOS, O. M. Importância da endomicorriza na nutrição mineral do cacauero. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 5, p. 22–27, 1981.

FAOSTAT. Statistical of strawberry production in world. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>>. Acesso em: 4/6/2014.

FAZEELAT, T.; AFZAL, W.; ASIF, M.; ZAMIR, M.; SALEEM, H. HPLC analysis of strawberry anthocyanins at partially ripe and ripe levels. *Journal of The Chemical Society Of Pakistan*, Pakistan, v. 29, n. 3, p. 243–246, 2007.

FERRARESE, L.; TRAINOTTI, L.; MORETTO, P.; et al. Differential ethylene-inducible expression of cellulase in pepper plants. *Plant Molecular Biology*, New York, v. 29, p. 735–747, 1995.

FLORES-CANTILLANO, F. *Morango: pós-colheita*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 47 p.

FLORES-CANTILLANO, R. F.; ÁVILA, J. M. M.; PERALBA, C. R.; MARA, T.; TORALLES, R. P. Actividad antioxidante, compuestos fenólicos y ácido ascórbico de frutillas en dos sistemas de producción. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 30, p. 620–626, 2012.

FLORES-CANTILLANO, R. F.; CASTAÑEDA, L. M. F.; TREPTOW, R. DE O.; SCHUNEMANN, A. P. P. *Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 29 p.

FLORES-CANTILLANO, R. F. F. Fisiologia e manejo na colheita e pós-colheita de morangos. In: S. P. Carvalho (Ed.); *Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico*. p. 97–105, 2006. Belo Horizonte: FAEMG.

FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S. A.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYA, M. C. M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 1663–1679, 2012.

GARCÍA, J. M.; MEDINA, R. J.; OLÍAS, J. . Quality of Strawberries Automatically Packed in Different Plastic Films. *Journal of Food Science*, Perúgia, v. 63, n. 6, p. 2–6, 1998.

GARCÍA-RUIZ, A.; PALMERO, D.; VALERA, D. Control de la fusariosis vascular en clavel en el suroeste de España mediante la biodesinfección del suelo. *Información Técnica Económica Agraria*, Zaragoza, v. 109, n. 1, p. 13–24, 2013.

GARLAND, B. C.; SCHROEDER-MORENO, M. S.; FERNANDEZ, G. E.; CREAMER, N. G. Influence of Summer Cover Crops and Mycorrhizal Fungi on Strawberry Production in the Southeastern United States. *HortScience*, United Kingdom, v. 46, n. 7, p. 985–992, 2011.

GENDERMANN, J. W. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: D. T. TORREY, J.G.; CLARCSO (Ed.); *The development and Function of Roots*. p.575–591, 1975. London: Academic Press.

GIANINAZZI, S.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. *Advances in Horticultural Science*, Firenze, v. 25, p. 903–905, 1990.

GIARDINA, P.; FARACO, V.; PEZZELLA, C.; et al. Laccases: a never-ending story. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, New York, v. 67, n. 3, p. 369–85, 2010.

GIMÉNEZ, G.; ANDRIOLO, J.; GODOI, R. Cultivo sem solo do morangueiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 273–279, 2008.

GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; BARALE, R.; et al. Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. *The British Journal Of Nutrition*, Cambridge, v. 107, n. 2, p. 242–51, 2012.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, United Kingdom, v. 84, p. 489–500, 1980.

GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, United Kingdom, p. 1–13, 2001.

GRYNDLER, M.; VOSÁTKA, M.; HRŠELOVÁ, H.; CHVÁTALOVÁ, I.; JANSA, J. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and cellulose in growth substrate. *Applied Soil Ecology*, New York, v. 19, p. 279–288, 2002.

GUPTA, M. L.; PRASAD, A.; RAM, M.; KUMAR, S. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus Fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource technology*, New York, v. 81, p. 77–79, 2002.

HAKKINEN, S. H.; TORRONEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site, and technique. *Food Research International*, New York, v. 33, p. 517–524, 2000.

HANNUN, S. M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, United Kingdom, v. 44, p. 1–17, 2004.

HARRISON, M. J. Molecular and Cellular Aspects of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, Palo Alto, v. 50, p. 361–389, 1999.

HETRICK, B. A. D.; WILSON, G. W. T. Effects of mycorrhizal fungus species and metalaxil application on microbial suppression of mycorrhizal symbiosis. *Mycologia*, Stanford, v. 83, n. 97-102, 1991.

HOLCROFT, D. M.; KADER, A. A. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, New York, v. 17, p. 19–32, 1999.

HRSELOVÁ, H.; VEJSADOVÁ, H.; PRIKRYL, Z.; VÁCHOVÁ, J.; VANCURA, V.; VÍT, A. Effect of inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of strawberries. In: Vancura, V.; Kunc, F. (Eds), *Interrelationships between Plants and Micro-organisms in Soil*. Academia, Prague, 1988.

JESUS, S. V. DE; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 38, n. 4, p. 815–818, 2008.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Arbuscular mycorrhizal influence on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mycorrhiza*, Cham, v. 10, n. 4, p. 155–159, 2001.

KAPOOR, R.; GIRI, B.; MUKERJI, K. G. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Washington, v. 82, n. 4, p. 339–342, 2002.

KHAOSAAD, T.; VIERHEILIG, H.; NELL, M.; ZITTERLEGLSEER, K.; NOVAK, J. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza*, Cham, v. 16, n. 6, p. 443–446, 2006.

KIERNAN, J. M.; HENDRIX, J. W.; STOLTZ, L. P.; MARONEK, D. M. Characterization of strawberry plants produced by tissue culture and infected with specific mycorrhizal fungi. *HortScience*, United Kingdom, v. 19, p. 883–885, 1984.

LAMBAIS, M. R.; RIOS-RUIZ, W. F.; ANDRADE, R. M. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, United Kingdom, v. 160, n. 2, p. 421–428, 2003.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential

Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, California, v. 88, n. 5, p. 1269–1278, 2005.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, New York, v. 20, p. 207–220, 2000.

LIMA, L.C. de O. Qualidade, colheita e manuseio pós-colheita de frutos de morangueiro. Informe Agropecuário. Morango: tecnologia inovadora, Belo Horizonte, v. 20, n.198, p. 80-83, 1999.

LINDERMAN, R. G. ; DAVIS, E. A. Arbuscular Mycorrhiza and Growth Responses of Several Ornamental Plants Grown in Soilless Peat-based Medium Amended with Coconut Dust (Coir). *HorTechonoly*, United Kingdom, v. 13, n. 3, p. 482–487, 2003.

LINDERMAN, R. G.; DAVIS, E. A.; MARLOW, J. L. Effects of organic amendments to soil and soilless potting media on arbuscular mycorrhizae and their microbial associates. Proceedings 4th International Conference on Mycorrhizae. *Anais...* , 2003. Montreal, Canadá.

LINGUA, G.; BONA, E.; MANASSERO, P.; et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads increases anthocyanin concentration in strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* var. Selva) in conditions of reduced fertilization. *International Journal Of Molecular Sciences*, Basel, v. 14, n. 8, p. 16207–16225, 2013.

LOCATELLI, L. M.; LOVATO, P. E. Inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de macieira micropropagados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 2, p. 177–184, 2002.

LÓPEZ-RÁEZ, J. A; FLORS, V.; GARCÍA, J. M.; POZO, M. J. AM symbiosis alters phenolic acid content in tomato roots. *Plant signaling & behavior*, New York, v. 5, n. 9, p. 1138–1140, 2010.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. DA. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva 1. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n. 4, p. 659–664, 2005.

MARTINEZ, F.; WEILAND, C.; PALENCIA, P. The Influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation Method on Growth of Strawberry Plants in a Soilless Growing System. *Acta Horticulturae*, v. 1013, p. 487–492, 2013.

MARTÍNEZ, L. F. S. *Calidad y Rendimiento de Fresa Inoculada con Hongos Micorrízicos Arbusculares*. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências en Producción Agrícola Sustentable) - Instituto Politécnico Nacional, Colegio De Profesores De Estudios De Posgrado E Investigación, Jiquilpan Mich, 2012.

MATSUBARA, Y.; ISHIGAKI, T.; KOSHIKAWA, K. Changes in free amino acid concentrations in mycorrhizal strawberry plants. *Scientia Horticulturae*, New York, v. 119, n. 4, p. 392–396, 2009.

MAYER, A. M.; STAPLES, R. C. Laccase : new functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, New York, v. 60, p. 551–565, 2002.

MAZUR, S. P.; NES, A.; WOLD, A.-B.; et al. Effects of ripeness and cultivar on chemical composition of strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) fruits and their suitability for jam production as a stable product at different storage temperatures. *Food chemistry*, New York, v. 146, p. 412 – 422, 2014.

MCALLISTER, C. B.; GARCÍA-ROMERA, I.; GODEAS, A.; OCAMPO, J. . Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. *Soil Biology and Biochemistry*, New York, v. 26, n. 10, p. 1363–1367, 1994.

MEDINA, E. N.; CÁRDENAS, J.; MOYANO, E.; CABALLERO J, L.; J., M. B. Cloning, molecular characterization and expression pattern of a strawberry ripening-specific cDNA with sequence homology to pectate lyase from

higher plants. *Plant Molecular Biology*, New York, v. 34, p. 867–877, 1997.

MENDONÇA, H. F. C. *Produção e qualidade de morangos em cultivo protegido consorciado com a figueira*. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2011. 137 p.

MENGE, B. J. A.; JOHNSON, E. L. V; PLATTF, R. G. MYCORRHIZAL *Dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes*. *New Phytologist*, United Kingdom, v. 81, p. 553–559, 1978.

MIKOLASCH, A.; SCHAUER, F. Fungal laccases as tools for the synthesis of new hybrid molecules and biomaterials. *Applied microbiology and biotechnology*, New York, v. 82, n. 4, p. 605–624, 2009.

MINOSSO, M. V. P. ; CALVETE, E. O. ; PEDERSEN, A. C. ; CECATTO, A. P. ; DE NARDI, F. S. ; SANTOS, F.L. dos . Avaliação de diferentes doses de inoculante micorrízico em morangueiro. In: Mostra de Iniciação Científica. Ciência: reescrevendo a história, 2013, Passo Fundo. *Anais da XXIII Mostra de Iniciação Científica*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2013.

MITCHELL, F. G.; MITCHAM, E. .; THOMPSON, J. E.; WELCH, N. *Handling strawberries for fresh market*. Oakland, CA, 1996. 14 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Micorrizas. In: F. M. S. MOREIRA (Ed.); *Microbiologia e bioquímica do solo*. 2.ed. , Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA-SOUZA, M.; CARDOSO, E. J. B. N. Dependência micorrízica de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O.KTZE. sob doses de fósforo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 26, n. 4, p. 905–912, 2002.

MURPHY, J. G.; RAFFERTY, S. M.; CASSELLS, A. C. Stimulation of wild strawberry (*Fragaria vesca*) arbuscular

mycorrhizas by addition of shellfish waste to the growth substrate: interaction between mycorrhization, substrate amendment and susceptibility to red core (*Phytophthora fragariae*). *Applied Soil Ecology*, New York, v. 15, n. 2, p. 153–158, 2000.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, New York, v. 1054, n. 1-2, p. 95–111, 2004.

NAMESNY, A. *Posrecolección de hortalizas: III Hortalizas de fruto*. España, 1999. 302 p.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *The Journal of Biological Chemistry*, Rockville, v. 153, p. 375–380, 1944.

NIEMI, M.; VESTBERG, M. Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, New York, v. 144, p. 133–142, 1992.

NORMAN, J. R.; HOOKER, J. J. E. Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycological Research*, United Kingdom, v. 104, n. 9, p. 1069–1073, 2000.

NORMAN, JR; ATKINSON, D.; HOOKER, J.E. Arbuscular mycorrhizal fungal-induced alteration to root architecture in strawberry and induced resistance to the root pathogen *Phytophthora fragariae*. *Plant and Soil*, New York, v. 185, p. 191 - 198, 1996.

OLIVEIRA, R. P. DE; SCIVITTARO, W. B. Produção de frutos de morango em função de diferentes períodos de vernalização das mudas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 27, p. 91–95, 2009.

OLIVEIRA NETO, C. T. ; CALVETE, E. O. ; CECATTO, A. P. ; PEDERSEN, A. C. ; DE NARDI, F. S. ; FERRAO, M. . Efeito da inoculação de micorrizas em mudas de morangueiro oriundas de ponta de estolão. In: Mostra de Iniciação Científica.

Ciência: reescrevendo a história, 2013, Passo Fundo. *Anais da XXIII Mostra de Iniciação Científica*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2013.

PALENCIA, P., MARTINEZ, F., & WEILAND, C. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Quality of Strawberry Fruit in Soilless Growing System. *Acta Horticulturae*, 1013, 493–498, 2013.

PASSOS, F. A. Melhoria do morangueiro no Instituto Agrônomo de Campinas. **Anais - Simpósio Nacional do Morango**, 1999. Caudas: EPAMIG – FECD.

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

PINELI, L. D. L. D. O.; MORETTI, C. L.; DOS SANTOS, M. S.; et al. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, New York, v. 24, n. 1, p. 11–16, 2011.

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J. A.; FURLAN, V. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, New York, v. 70, p. 199–209, 1983.

POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, J. G. D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 413–424, 2006.

REISSER-JÚNIOR, C.; VIZZOTTO, M.; BARBIERI, R. L.; et al. *Palestras e resumos. V Simpósio Nacional do Morango e IV Encontro Sobre Pequenas Frutose Frutos Nativas do Mercosul*. Embrapa: Pelotas, 2010.

REQUENA, N.; SERRANO, E.; OCÓN, A.; BREUNINGER, M. Plant signals and fungal perception during arbuscular

mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*, New York, v. 68, n. 1, p. 33–40, 2007.

REVILLA, E.; RYAN, J.-M.; MARTÍN-ORTEGA, G. Comparison of Several Procedures Used for the Extraction of Anthocyanins from Red Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 46, n. 11, p. 4592–4597, 1998.

RIVERA-CHÁVEZ, F. H.; VÁZQUEZ-GÁLVEZ, G.; CASTILLEJO-ÁLVAREZ, L. E.; et al. Efecto de hongos micorrízicos arbusculares y extracto acuoso de vermicompost sobre calidad de fresa. *Ra Ximhai*, v. 8, n. 3, p. 119–130, 2012.

ROCHA, D. A.; ABREU, C. M. P. DE; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D. DOS; FONSECA, E. W. N. DA. Análise comparativa de nutrientes funcionais em morangos de diferentes cultivares da região de Lavras-MG. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 1124–1128, 2008.

SALGADO-BARREIRO, C. S.; BRAVO-PATIÑO, A.; WANG, E. T.; CÁRDENAS-NAVARRO, R. Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria*, Trujillo, v. 2, p. 171–179, 2012.

SANTOS, A. M. DOS; RIOS, S. A. Melhoramento genético do morangueiro. *Informe Agropecuário: Morango: conquistando fronteira*, Viçosa, v. 20, n. 198, p. 80–83, 1999.

SILVA, M. C. C.; FONTES, P. C. R.; MIRANDA, G. V. Índice SPAD e produção de batata, em duas épocas de plantio, em função de doses de nitrogênio. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 27, p. 17–22, 2009.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, New York, v. 299, p. 152–178, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Tirol, n. 25, p. 12–21, 2002.

SMITH, S. E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, New York, v. 39, p. 221–244, 1988.

SOMOGYI, M. Note on sugar determination. *The Journal of Biological Chemistry*, Rockville, v. 195, p. 19–23, 1952.

SOUZA, F. A. D.; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; TRUFEN, S. F. B. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: S. M. SIQUEIRA, J.O; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J.B.N.; TSAI (Ed.); *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil*. Lavras: Editora UFLA, 2010. 716 p.

SOUZA, V. R. DE.; PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. . DA.; et al. Determination of the bioactive compounds , antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry , red raspberry , strawberry , blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, New York, v. 156, p. 362–368, 2014.

STEWART, L. I.; HAMEL, C.; HOGUE, R.; MOUTOGLIS, P. Response of strawberry to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi under very high soil phosphorus conditions. *Mycorrhiza*, Cham, v. 15, n. 8, p. 612–9, 2005.

SUN, J., CHU, Y.-F., WU, X., & LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, 50 (25), 7449–7454, 2002.

TAHMATSIDOU, V.; O’SULLIVAN, J.; CASSELLS, A. C.; VOYIATZIS, D.; PAROUSSI, G. Comparison of AMF and PGPR inoculants for the suppression of *Verticillium* wilt of strawberry (*Fragaria×ananassa* cv. Selva). *Applied Soil Ecology*, New York, v. 32, n. 3, p. 316–324, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3.ed. ed. São Paulo: Artmed, 2004. 719 p.

TAYLOR, J.; HARRIER, L. A comparison of nine species of arbuscular mycorrhizal fungi on the development and nutrition of micropropagated *Rubus idaeus* L. cv. Glen Prosen (Red Raspberry). *Plant and Soil*, New York, v. 225, p. 53–61, 2000.

TAYLOR, J.; HARRIER, L. A. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria* × *ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology*, New York, v. 18, n. 3, p. 205–215, 2001.

TRINDADE, A. V.; SIQUEIRA, J. O.; ALMEIDA, F. P. DE. Dependência micorrízica de cultivars comerciais de mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1485–1494, 2001.

TULIPANI, S.; MEZZETTI, B.; CAPOCASA, F.; et al. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of agricultural and food chemistry*, Washington, v. 56, n. 3, p. 696–704, 2008.

VARMA, A.; SCHÜEPP, H. Infectivity and effectiveness of *Glomus intraradices* on micropropagated plants. *Mycorrhiza*, Cham, v. 5, p. 29–37, 1994.

VAN DE VELDE, F.; TAROLA, A.; GÜEMES, D.; PIROVANI, M. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Camarosa and Selva Strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Foods*, v. 2, n. 2, p. 120–131, 2013.

VESTBERG, M. Arbuscular mycorrhizal inoculation of micropropagated strawberry and field observations in Finland. *Agronomie*, Rennes, v. 12, p. 865–867, 1992.

VESTBERG, M. .; KUKKONEN, S.; NEUVONEN, E.L.; UOSUKAINEN, M. Mycorrhizal inoculation of micropropagated strawberry – case studies on mineral soil and a mined peat bog. *Acta Horticulturae*, v. 530, p. 297–304, 2000.

VESTBERG, M.; KUKKONEN, S.; SAARI, K.; et al. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology*, New York, v. 27, n. 3, p. 243–258, 2004.

VIZZOTTO, M. Propriedades funcionais das pequenas frutas. *Informe Agropecuário*, Viçosa, v. 33, n. 268, p. 84–88, 2012.

VOS, C.; VAN DEN BROUCKE, D.; LOMBI, F. M.; DE WAELE, D.; ELSSEN, A. Mycorrhiza-induced resistance in banana acts on nematode host location and penetration. *Soil Biology and Biochemistry*, New York, v. 47, p. 60–66, 2012.

WU, J.; WANG, D.; ROSEN, C. J.; BAUER, M. E. Comparison of petiole nitrate concentrations, SPAD chlorophyll readings, and QuickBird satellite imagery in detecting nitrogen status of potato canopies. *Field Crops Research*, New York, v. 101, n. 1, p. 96–103, 2007.

ZENG, Y.; GUO, L.-P.; CHEN, B.-D.; et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and active ingredients of medicinal plants: current research status and perspectives. *Mycorrhiza*, Cham, v. 23, n. 4, p. 253–65, 2013.

ZHANG, R.-Q.; ZHU, H.-H.; ZHAO, H.-Q.; YAO, Q. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. *Journal of plant physiology*, New York, v. 170, n. 1, p. 74–79, 2013.

ZHANG, X.; ZHANG, Y. P. Cellulases: characteristics, sources, production, and applications. In: Y. Shang-Tian; A. Hesham (Eds.); *Bioprocessing Technologies in Biorefinery for Sustainable Production of Fuels, Chemicals, and Polymers*. 1^o ed., p.131–146,. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2013.

APÊNDICES

Apêndice I - Resumo da análise de variância do número de frutos totais (NF) número de frutos comerciais (NFC), massa fresca de frutos total (MFT), massa fresca de frutos comercial (MFFC), peso médio de frutos totais (PMFT) e peso médio de frutos comerciais (PMFC). Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

		Albion							
		Quadrado médio							
Fatores de variação	GL	NFT	NFC	NFD	MFF	MFFC	MFFD	MFMT	MFMC
		(n° planta ⁻¹)			(g planta ⁻¹)		(g fruto ⁻¹)		
Bloco	3	15,34	10,30*	18,47	2978,78	2888,03*	1139,87	41,16*	30,68*
Inóculo	5	13,33	9,79*	3,27	1125,16	1285,22	170,97	21,10*	13,92
Erro(A)	15	12,39	2,67	7,28	1897,7	679,11	782,75	9,17	8,74
Meses de cultivo	3	235,62*	112,58*	48,44*	28864,57*	15147,87*	5788,53*	97,41*	93,81*
Inóculo x meses	15	2,85	3,15	3,00	496,29	488,73	263,26	4,314	7,05
Erro (B)	54	6,29	3,92	3,46	749,11	617,93	770,23	4,16	5,41
Total	95								
Média		6,43	4,26	3,91	76,1	59,47	38,54	12,45	14,62
CV%		39,04	46,43	47,5	35,96	41,8	46,09	18,42	16,96

		Aromas							
		Quadrado médio							
Fatores de variação	GL	NF	NFC	NFD	MFF	MFFC	MFFD	MFMT	MFMC
		(n° planta ⁻¹)			(g planta ⁻¹)		(g fruto ⁻¹)		
Bloco	3	41,33	117,84*	20,13	11017,55	21139,26*	592,02	23,45	7,05
Inóculo	5	25,81	29,56	5,97	4597,71	5833,1	970,73	3,38	5,82
Erro(A)	15	12,84	28,34	8,25	3930,13	5490,06	457,2	7,4	3,91
Meses de cultivo	3	821,05*	326,96*	160,25*	61520,57*	33102,77*	7769,19*	150,12*	165,19*
Inóculo x meses	15	22,17	16,57	4,93	3088,92	2447,9	583,21	2,95	3,97
Erro (B)	54	22,58	18,64	5,99	3599,44	3068,24	590,16	4,93	7,05
Total	95								
Média		10,12	6,39	5,72	110,26	79,37	51,13	11,59	13,2
CV%		46,94	67,5	42,77	54,41	69,79	47,51	19,15	20,11

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice II – Resumo da análise de variância do diâmetro, sólidos solúveis totais (SST), pH, acidez total titulável (ATT), relação SST/ATT, antocianinas e fenólicos totais em frutos de morangueiro em cultivo sem solo. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

Albion									
Quadrado médio									
Fatores de variação	GL	Diâmetro (mm)	SST (°Brix)	pH	ATT (% ác. Cítrico)	Relação SST/ATT	GL	Fenólicos Totais	Antocianinas
Bloco	3	119,46	2,45	0,03	0,08*	20,5	2	14,56*	1321,82
Inóculo	5	105,65	3,91	0,11	0,06*	18,8	5	162,42*	7991,00*
Erro(A)	15	45,55	3,62	0,04	0,01	9,99	10	1,98	419,48
Meses de cultivo	3	239,74*	121,23*	1,59*	1,44*	396,77*	3	8239,82*	136810,61*
Inóculo x meses	15	61,94	2,7	0,10	0,01	7,2	15	227,13	1658,71
Erro (B)	54	60,85	3,86	0,06	0,01	9,46	90	156,36	2627,3
Total	95						125		
Média		32,2	7,57	3,46	0,88	9,33		33,46	220,5
CV%		24,22	25,98	7,42	12,69	32,94		37,36	23,24

Aromas									
Quadrado médio									
Fatores de variação	GL	Diâmetro (mm)	SST (°Brix)	pH	ATT (% ác. Cítrico)	Relação SST/ATT	GL	Fenólicos Totais	Antocianinas
Bloco	3	112,28	2,16	0,01	0,19	4,01	2	19,86*	1260,16
Inóculo	5	55,8	1,11	0,02	0,13	9,07	5	146,13*	16078,60*
Erro(A)	15	178,87	2,45	0,01	0,08	7,16	10	3,11	2299,76
Meses de cultivo	3	470,60*	61,93*	0,68*	0,75*	173,09*	3	4233,68*	81301,35*
Inóculo x meses	15	68,14	1,78	0,01	0,11	3,25	15	79,48	14217,47
Erro (B)	54	114,33	2,29	0,01	0,12	6,82	90	42,92	8264,59
Total	95						125		
Média		35,04	6,55	3,4	0,88	8,19		42,75	247,32
CV%		30,5	23,08	3,83	39,39	31,85		16,19	36,75

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice III – Resumo análise de variância de volume de raiz (VR), número de folhas (NF), diâmetro de coroa (DC), altura de parte aérea (APA), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de coroa (MFC), massa fresca total (MFT), massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de coroa (MSC), massa seca total (MST) de plantas de morangueiro inoculadas com micorrizas. Passo Fundo, FAMV/UPF, 2013.

		Quadrado médio							
		VR (cm ³)		NF		DC (mm)		APA (cm)	
Fatores de variação	GL	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas
Bloco	3	138,58	101,58	1,49	12,81*	0,86	8,64	4,72	3,43
Inóculos	5	31,94	42,61	12,46	9,77	0,53	7,33	4,12	3,84
Erro	15	43,11	86,56	10,94	3,77	0,78	5,29	7,88	6,00
Total	23								
Média		17,50	18,65	14,38	15,90	13,44	14,89	23,67	24,67
CV%		37,52	49,88	23,00	12,21	6,58	15,45	11,86	9,93
		MFR		MFPA		MFC		MFT	
		(g)							
Fatores de variação	GL	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas
Bloco	3	145,42	230,08	325,20	397,80	0,17	21,90	877,85	1184,34
Inóculos	5	43,54	36,44	171,82	144,54	3,36	2,63	270,93	252,76
Erro	15	45,00	95,48	273,67	120,85	5,62	7,18	526,67	486,42
Total	23								
Média		17,43	18,88	48,36	41,53	8,28	8,56	74,07	68,98
CV%		38,47	51,75	34,21	26,47	28,65	31,30	30,98	31,97
		MSR		MSPA		MSC		MST	
		(g)							
Fatores de variação	GL	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas	Albion	Aromas
Bloco	3	3,99	7,51	10,28	22,06	2,09	1,13	32,66	50,82
Inóculos	5	1,92	1,82	7,71	6,39	2,69	0,04	24,12	11,26
Erro	15	1,35	3,61	7,95	5,19	2,35	0,36	16,50	19,81
Total	23								
Média		3,12	3,43	11,26	9,68	2,27	1,96	16,65	15,15
CV %		37,29	55,42	25,06	23,34	67,59	30,96	24,40	29,38

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice IV – Resumo da análise de variância da colonização micorrízica.

Fatores de variação	GL	Quadrado médio	
		Albion	Aromas
Bloco	3	0,21	0,04
Inóculos	5	0,04	0,02
Erro	15	0,06	0,04
Total	23		
Média		1,20	1,14
CV%		21,44	18,75

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice V – Resumo da análise de variância da percentagem de colonização micorrízica. Experimento: Espanha.

Fatores de Variação	GL	Quadrado médio
		Colonização Micorrízica
Bloco	2	0,02
Inoculação	2	1,845*
Cultivar	2	0,263*
Inoculação x cultivar	4	0,076*
Erro	16	0,008
Total	26	
Média		0,52
CV %		17,25

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice VI – Resumo da análise de variância dos parâmetros de crescimento vegetativo do morangueiro. Experimento: Espanha.

Fatores de variação	GL	Quadrado Médio										
		MFT	MST	MFR	MSR	MFPA	MSPA	DC	NF	APA	CR	VR
Bloco	2	102,69	30,78	2,6	0,347	60,98	1,99	1,88	2,23	0,869	8,59	2,9
Inoculação (In)	2	57,67	6,4	14,67	0,025	29,39	0,725	4,09	3,86	4,647	7,92	29,88
Cultivar (cv)	2	208,05	363,72*	18,17	1,04	200,37	22,617*	3,98	73,68*	25,30*	98,14*	19,01
In x cv	4	84,91	24,38	9,05	0,263	77,95	4,03	3,4	1,5	0,77	9,44	7,71
Erro	16	123,3	55,75	13,25	0,431	79,71	5,96	3,04	5,65	2,73	16,47	14,8
Total	26											
Média		42,69	32,59	12,35	3,22	20,71	7,5	16,42	9,48	19,53	29,56	13,78
CV %		26	22,9	29,47	20,37	30,05	32,55	10,62	25,08	8,45	13,72	27,91

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação. DC (diâmetro de coroa); APA (altura da parte aérea); CR (comprimento de raiz); VR (volume de raiz); MFT (massa fresca total); MST (massa seca total); MFR (massa fresca de raiz); MSR (massa seca de raiz); MFPA (massa fresca de parte aérea); MSPA (massa seca da parte aérea).

Apêndice VII – Resumo da análise de variância do rendimento de frutos. Experimento: Espanha.

Fatores de variação	GL	Quadrado Médio		
		NF	MFF	PMF
Bloco	2	0,827	6429,24	2,26
Inoculação (In)	2	57,81	14201,9	45,79
Cultivar (cv)	2	644,33*	97424,66*	1747,32*
In x cv	4	10,05	3410,39	58,4
Erro	232	123,28	16890,97	81,37
Total	242			
Média		12,76	133,7	12,79
CV %		86,97	97,2	70,53

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação. NF – número de frutos totais, MFF – massa fresca de frutos totais, PMF – peso médio de frutos

Apêndice VIII – Resumo análise de variância do teor relativo de clorofila (TRC), índice de área foliar (IAF), nitrogênio peciolar (NP), celulase e lacase. Experimento: Espanha.

Fatores de variação	Quadrado Médio		Quadrado Médio		Quadrado Médio			
	GL	TRC	GL	IAF	GL	NP	Celulase	Lacase
Bloco	2	11,78	2	5099,17	2	430890,12	534,76	3167,14
Inoculação (In)	2	1,10	2	59604,29	2	27667,90	7871,54	1319,77
Cultivar (cv)	2	541,50*	2	46062,14	2	771504,94	2278,11	8928,61
Semana (sem)	6	5695,93*	4	43573,84	2	11857516*	221278,19*	3849,39
In x cv	4	22,03	4	63436,15	4	695391,98	3880,05	2730,13
cv x sem	12	18,81	8	19840,64	4	435514,20	4365,56	3965,74
In x sem	12	24,43	8	61251,50	4	367412,35	8502,58	330,65
In x cv x sem	24	24,52	16	31908,08	8	562546,60	7988,51	3049,39
Erro	124	29,20	88	34604,50	52	428817,05	4489,99	3353,40
Total	188		134		80			
Média		61,32		787,98		1121,60	216,00	59,24
CV %		8,81		58,38		58,38	31,02	97,74

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice IX – Resumo da análise de variâncias dos aspectos de qualidade de frutos. Experimento: Espanha.

Fatores de Variação	GL	Quadrado Médio								
		Diâmetro			Firmeza			pH		
		Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total
Bloco	2	6,62	546,96	230,84	219,88	68,06	208,86	0,00	0,06*	0,02
Inoculação (In)	2	22,27	662,17	246,62	610,62*	32,23	285,90	0,02	0,04	0,01
Cultivar (cv)	2	50,38*	434,70	185,42	1207,72*	4737,97*	3886,21*	0,00	0,08*	0,03*
In x cv	4	15,09	548,67	223,26	85,68	338,82	691,76	0,00	0,03	0,01
Erro	16	10,00	493,45	222,98	63,69	391,05	255,73	0,00	0,01	0,01
Total	26									
Média		24,57	32,83	30,23	294,98	239,33	256,83	3,02	3,00	3,00
CV %		12,87	67,66	49,38	2,70	8,26	6,22	1,96	4,03	2,87

Fatores de Variação	GL	Acidez total titulável								
		Sólidos solúveis totais			Relação SST /ATT					
		Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total	Precoce	Tardia	Total
Bloco	2	0,02	0,00	0,00	0,31	0,02	0,20	2,28	87,80	29,19
Inoculação (In)	2	0,09*	0,00	0,01*	0,56	0,20	0,32	4,46	80,32	29,04
Cultivar (cv)	2	0,00	0,02*	0,01	4,05*	2,81*	3,54*	3,46	168,41	77,50
In x cv	4	0,02	0,01	0,00	0,97	0,44	0,64	3,55	83,87	34,09
Erro	16	0,01	0,01	0,00	0,99	0,10	0,17	3,17	84,70	30,41
Total	26									
Média		0,79	0,65	0,69	6,52	5,83	6,07	8,72	11,25	10,22
CV %		13,74	11,39	8,05	15,28	5,55	6,94	20,40	81,78	53,96

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.

Apêndice X – Resumo da análise de variância de vitamina C, da perda de peso dos frutos pós colheita e de antocianinas e fenólicos totais de frutos na colheita e pós-colheita. Experimento: Espanha.

Quadrado Médio				
Fatores de variação	GL	Vitamina C	Antocianinas (colheita)	Fenólicos Totais (colheita)
Bloco	2	42,14	673,32	112,96
Inoculação (In)	2	27,76	8176,95*	3871,13*
Cultivar (cv)	2	766,85*	187652,15*	19607,49*
In x cv	4	85,91	28779,71*	668,78*
Erro	16	31,68	1043,02	193,44
Total	26			
Média		52,29	327,94	188,18
CV %		9,82	9,85	7,39

Perda de				
Fatores de variação	GL	massa fresca pós-colheita	Antocianinas (pós - colheita)	Fenólicos Totais (pós - colheita)
Bloco	1	1,07	177,50	311,38
Inoculação (In)	2	0,41	132273,96*	1416,57*
Cultivar (cv)	2	0,27	210666,38*	13202,54*
In x cv	4	1,31	18858,22*	1269,64*
Erro	44	1,77	343,55	137,22
Total	53			
Média		3,55	361,17	196,06
CV %		37,44	5,13	5,97

*: significativo a 5% ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. CV – coeficiente de variação.