

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

GIOVANA RITTER

**BIOESTIMULANTES EM OLIVEIRA, DO VIVEIRO AO CAMPO:
JARDIM CLONAL, PRODUÇÃO DE MUDAS E ÓLEO ESSENCIAL**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2022**

GIOVANA RITTER

**BIOESTIMULANTES EM OLIVEIRA, DO VIVEIRO AO CAMPO:
JARDIM CLONAL, PRODUÇÃO DE MUDAS E ESSENCIAL**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Fabíola Villa

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Farinelli

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ
2022**

Ritter, Giovana

Bioestimulantes em oliveira, do viveiro ao campo: jardim clonal, produção de mudas e óleo essencial / Giovana Ritter; orientadora Fabíola Villa; coorientadora Daniela Farinelli. - Marechal Cândido Rondon, 2022.

75 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2022.

1. *Olea europaea* L.. 2. *Azospirillum brasilense*. 3. Substâncias húmicas. 4. Taxa de crescimento absoluto. I. Villa, Fabíola, orient. II. Farinelli, Daniela, coorient. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

GIOVANA RITTER

Bioestimulantes em oliveira, do viveiro ao campo: jardim clonal, produção de mudas e óleo essencial

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Manejo de Culturas, APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientadora - Fabiola Villa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Daniele Guarienti Rorato

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Elcio Silvério Klosowski

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Glacy Jaqueline da Silva

Universidade Paranaense - UNIPAR (UNIPAR)

Ellen Toews Doll-Hojo

Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz (FAG)

Daniel Fernandes da Silva

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Marechal Cândido Rondon, 22 de fevereiro de 2022

À Deus,
pelo dom da vida. E à minha família que apoia,
acredita e torce pela minha vitória.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), pela oportunidade de realização do curso de Mestrado e Doutorado. Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À orientação e amizade da professora Dr^a. Fabíola Villa, sempre disponível em ensinar, auxiliar e ajudar.

Aos amigos do Grupo de Estudos em Fruticultura e Floricultura (GEFF), que me ensinaram a viver e lidar com as diferenças, proporcionaram boas risadas e me ajudaram em todas as etapas dos experimentos.

Ao meu marido Fernando Corti Zaminhan, pela sua generosidade, compreensão, otimismo e amor.

À minha família, Roque e Bernadete (pais), Suzana e Jordana (irmãs) e Diogo (cunhado), que torceram por mim e me estimularam nessa jornada.

Aos meus primos gêmeos preferidos, Henrique Marsaro Thomé e Heloísa Marsaro Thomé, que me acolheram em sua moradia durante anos.

MUITO OBRIGADA.

“A sabedoria é a coisa principal; adquira, pois, a sabedoria; sim, com tudo o que possui, adquira o conhecimento.”

Provérbios 4:7

RESUMO

RITTER, Giovana. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro - 2022. **Bioestimulantes em oliveira, do viveiro ao campo: jardim clonal, produção de mudas e óleo essencial.** Orientadora: Dr^a. Fabíola Villa. Coorientadora: Dr^a. Daniela Farinelli.

O crescimento da olivicultura nacional aumenta a demanda por produção de mudas e o resíduo dessa produção pode agregar valor. O objetivo do presente trabalho foi verificar crescimento de mudas de oliveira em viveiro e desempenho de jardim clonal a campo com bioestimulantes utilização de bioestimulantes, aplicados em diferentes métodos, além de determinar o rendimento de óleo essencial extraído das folhas de oliveiras de diferentes cultivares. Neste sentido, quatro experimentos foram realizados, sendo os dois primeiros com mudas, o terceiro com jardim clonal e o quarto com extração de óleo essencial. No experimento I as mudas receberam os tratamentos com *Azospirillum brasilense* e substâncias húmicas, nas concentrações de 0,4 e 0,5 mL por planta. No experimento II, aplicou-se o mesmo produto do experimento I, em diferentes modos de aplicação (pulverização foliar, via solo e imersão de raízes), na concentração de 0,5 mL por planta. As aplicações foram realizadas mensalmente, bem como as avaliações fitotécnicas de altura (cm), diâmetro do colo (mm) e número de nós. Ao final de 210 dias, após a primeira aplicação, foram selecionadas 15 plantas por tratamento para avaliação de biomassa fresca e seca da parte aérea e radicular. O experimento III se referiu ao jardim clonal, sendo implantado em setembro de 2019, com mudas de um ano, das cultivares Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki e Picual, em espaçamento de 0,50 x 1,0 m. Após o plantio, foi realizada nas plantas a poda apical em 50 cm de altura. Aplicou-se mensalmente os tratamentos na rizosfera: T1 - testemunha, T2 - 0,5 mL de *Azospirillum brasilense*, T3 - 0,4 mL de substâncias húmicas e T4 - substâncias húmicas + *A. brasilense*. As avaliações ocorreram mensalmente por dois anos, como altura (cm), taxa de crescimento acumulado (cm dia⁻¹), diâmetro do colo (mm) e comprimento médio do entrenó (cm). Ao final do primeiro ano, avaliações de biomassa total de planta (kg), comprimento do maior ramo (m), rendimento de estacas, biomassa fresca e seca das folhas (g) e taxa de crescimento. Ao final do segundo ano, biomassa total da planta (kg), comprimento do maior ramo (m), rendimento de estacas e Taxa de Crescimento. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 4 (cultivares x bioestimulantes), com 4 repetições e 5 mudas por repetição (experimento I) e fatorial 3 x 4 (cultivares x modos de aplicação de *A. brasilense*), com 3

repetições e 5 mudas por repetição (experimento II), ambos com parcela subdividida no tempo. No experimento III, o delineamento experimental foi blocos casualizados, em esquema fatorial 4 x 4, com 3 repetições e 3 plantas por repetição, subdividida no tempo e a extração de óleo essencial realizada em triplicata pelas repetições. Mudas da cultivar Maria da Fé obtiveram maior crescimento com o uso do bioestimulante pulverizado. Para a cultivar Ascolano 315, não foi recomendado utilizar bioestimulantes. A imersão das raízes da cultivar Arbequina no bioestimulante foi eficiente no desenvolvimento do sistema radicular. O modo de aplicação por imersão não foi eficiente na formação de mudas das três cultivares estudadas. As substâncias húmicas favoreceram os atributos agronômicos. A cultivar Maria da Fé apresentou maior rendimento de estacas. As cultivares Maria da Fé e Koroneiki foram as mais vigorosas no estudo. O rendimento de óleo essencial foi superior para a cultivar Picual com o uso dos bioestimulantes em conjunto. O composto mais abundante encontrado no óleo essencial das folhas foi o trans- β -damascenone.

Palavras-chave: *Olea europaea* L., *Azospirillum brasilense*, Substâncias húmicas, Taxa de crescimento, Mudas, Composição química.

ABSTRACT

RITTER, Giovana. Western Paraná State University - Unioeste, Marechal Cândido Rondon. February 2022. **Biostimulants in olive trees from the nursery to the field: seedling production, growth in a clonal garden and essential oil yield.** Advisor: Dr.Sc. Fabíola Villa. Co-Advisor: Dr.Sc. Daniela Farinelli.

The growth of national olive cultivation increases the demand for seedling production and the residue of this production can add value. The objective of the present work was to evaluate the growth of olive seedlings in a nursery and the performance of a clonal garden in the field with the use and application of biostimulants, as well as to evaluate the yield of essential oil extracted from the leaves. In this sense, four experiments were carried out, the first two with seedlings, the third with a clonal garden and the fourth with essential oil extraction. In experiment I, the seedlings received treatments with *Azospirillum brasilense* and humic substances, at concentrations of 0.4 and 0.5 mL per plant. In experiment II, the same product as in experiment I was applied, in different modes of application (foliar spraying, via soil and immersion), at a concentration of 0.5 mL per plant. Applications were performed monthly, as well as phytotechnical assessments of height (cm), neck diameter (mm) and number of nodes. At the end of 210 days, after the first application, 15 plants were selected per treatment for evaluation of fresh and dry biomass of the shoot and root. Experiment III referred to the clonal garden, being implemented in September 2019, with one-year-old seedlings of the cultivars Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki and Picual, in a spacing of 0.50 x 1.0 m. After planting, the plants were pruned at a height of 50 cm. The treatments were applied monthly to the rhizosphere: T1 - control, T2 - 0.5 mL of *A. brasilense*, T3 - 0.4 mL of humic substances and T4 - humic substances + *A. brasilense*. The evaluations took place monthly for two years, as height (cm), accumulated growth rate (cm day^{-1}), neck diameter (mm) and mean internode length (cm). At the end of the first year, evaluations of total plant biomass (kg), length of the largest branch (m), cutting yield and fresh and dry leaf biomass (g). At the end of the second year, total plant biomass (kg), length of the largest branch (m) and cuttings yield. The experimental design used was randomized blocks, in a 3 x 4 factorial scheme (cultivars x biostimulants), with 4 repetitions and 5 seedlings per repetition (experiment I) and a 3 x 4 factorial (cultivars x application modes of *A. brasilense*), with 3 repetitions and 5 seedlings per repetition (experiment II), both with split plot in time. In experiment III, the experimental design used was randomized blocks, in a 4 x 4 factorial scheme, with 3 repetitions and 3 plants per

repetition, subdivided in time and essential oil extraction performed in triplicate by repetitions. Seedlings of the cultivar Maria da Fé obtained greater growth with the use of the sprayed biostimulant. For the Ascolano 315 cultivar, the use of biostimulants was not recommended. The immersion of the roots of the cultivar Arbequina in the biostimulant was efficient in the development of the root system. The method of application by immersion was not efficient in the formation of seedlings of the three cultivars studied. Humic substances favored agronomic attributes. The cultivar Maria da Fé showed the highest yield of cuttings. The cultivars Maria da Fé and Koroneiki were more vigorous.

Keywords: *Olea europaea* L., *Azospirillum brasilense*, Humic substances, Growth rate, Seedlings, chemical composition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1.

Figura 1. Taxas de crescimento absoluto (TCA) para altura e número de nós, em função dos bioestimulantes e cultivares de oliveira nas avaliações mensais de 0 a 150 dias.....24

Figura 2. Taxas de crescimento absoluto (TCA) para altura, e número de nós, em função dos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense* nas avaliações mensais de 0 a 150 dias. 32

Artigo 2.

Figura 3. Médias mensais de temperatura e umidade do ar e somatório mensal de precipitação durante os meses de avaliação do jardim clonal. Dados coletados no Núcleo de Estações Experimentais da Unioeste (NEE), *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR..... 40

Figura 4. Taxa de crescimento absoluto (TCA) para a altura das cultivares de oliveira, submetidas aos bioestimulantes no ano de 2020.....47

Figura 5. Taxa de crescimento absoluto (TCA) para a altura das cultivares de oliveira, submetidas aos bioestimulantes no ano de 2021.....49

Artigo 3.

Figura 6. Médias mensais de temperatura e umidade do ar e somatório mensal de precipitação, durante os meses de condução do jardim clonal. Dados coletados no Núcleo de Estações Experimentais (NEE) da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR.....56

LISTA DE TABELAS

Artigo 1.

Tabela 1. Resultados analíticos indicadores de fertilidade presentes no substrato e condicionador de solo e análise física do Latossolo.	18
Tabela 2. Análise de variância contendo os valores do quadrado médio para a altura das mudas (H), diâmetro do colo (D), número de nós (NN) e biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e sistema radicular (BFSR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e sistema radicular (BSSR).	21
Tabela 3. Números de nós das três cultivares avaliadas.	21
Tabela 4. Biomassa fresca do sistema radicular (BFSR) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR) em função dos bioestimulantes e nas três cultivares avaliadas.	22
Tabela 5. Análise de variância contendo os valores do quadrado médio para as variáveis: Altura (H), diâmetro (D), número de nós (NN) e biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e sistema radicular (BFSR) biomassa seca da parte aérea (BSPA) e sistema radicular (BSSR).	25
Tabela 6. Altura (cm) das plantas em interação das cultivares e modo de aplicação de <i>Azospirillum brasilense</i>	26
Tabela 7. Diâmetro do colo (mm) das mudas de oliveiras em função do modo de aplicação de <i>Azospirillum brasilense</i>	28
Tabela 8. Número de nós em mudas de oliveiras em interação das cultivares e o modo de aplicação de <i>Azospirillum brasilense</i>	28
Tabela 9. Biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e sistema radicular (BFSR) e biomassa seca do sistema radicular (BFSR) das mudas de oliveiras em interação com os modos de aplicação.	30
Tabela 10. Biomassa seca da parte aérea (BSPA) em função do modo de aplicação.	31

Artigo 2.

Tabela 11. Resultados analíticos indicadores de fertilidade presentes no solo e análise física.	40
Tabela 12. Médias de altura (H), biomassa total de planta (BTP), comprimento do maior ramo (CMR), número de estacas (E), biomassa de folhas frescas (BFF) e biomassa de folhas	

secas (BFS), das quatro cultivares de oliveira, em função dos bioestimulantes aplicados no ano de 2020.	43
Tabela 13 . Médias de diâmetro (D), comprimento de entrenós (EM), biomassa total de planta (BTP), número de estacas (E), biomassa de folhas frescas (BFF) e biomassa de folhas secas (BFS), das quatro cultivares avaliadas de oliveira, no ano de 2020.....	44
Tabela 14. Médias de altura (H), diâmetro (D), comprimento de entrenó (EM), biomassa total de planta (BTP), comprimento do maior ramo (CMR) e número de estacas (E), das quatro cultivares de oliveira, avaliadas no ano de 2021	45
 Artigo 3.	
Tabela 15 . Resultados analíticos indicadores de fertilidade presentes no solo e análise física.	57
Tabela 16. Rendimento de óleo essencial (OE) em interação entre cultivares e bioestimulantes.	59
Tabela 17. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Ascolano 315.	60
Tabela 18. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Maria da Fé.	62
Tabela 19. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Koroneiki.	64
Tabela 20. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Picual.	66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 ARTIGO 1.....	15
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	20
EXPERIMENTO I.....	20
EXPERIMENTO II	25
CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	33
3 ARTIGO 2.....	37
RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS.....	39
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS	49
4 ARTIGO 3.....	53
RESUMO	53
ABSTRACT	54
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAL E MÉTODOS.....	56
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	59
CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS	67
CONCLUSÕES GERAIS	71

1 INTRODUÇÃO GERAL

A oliveira (*Olea europaea* L.) pertence à família Oleaceae e é a única espécie da família que possui fruto comestível, denominado azeitonas. Apesar de ser uma cultura antiga, a olivicultura tem ganhado cada vez mais espaço no cenário brasileiro em virtude do alto consumo de azeite e azeitonas na alimentação, proporcionando benefícios à saúde. A produção brasileira ainda é pequena quando comparada com a da Itália, Espanha, Argentina e Grécia, mas está ganhando destaque justamente por seus pomares serem jovens e seus produtos apresentarem frescor e qualidade.

Atualmente, o mundo cultiva 10 milhões de hectares com pomares de oliveiras. O Brasil apresenta condições favoráveis para o cultivo de oliveiras, plantas naturalmente de clima temperado que se adaptaram e puderam ser domesticadas por meio de intenso trabalho e pesquisa. Hoje o Brasil possui em torno de 10 mil hectares produtivos divididos entre a região Sul e Sudeste principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, mas com capacidade de ampliação dos pomares.

A produção de mudas é um fator muito importante na cadeia de produção. As mudas de oliveira são formadas por meio de propagação vegetativa pelo método de estaquia e para que se tenha sucesso no pomar, é preciso a disponibilidade de mudas por parte dos viveiristas e é primordial a implantação de mudas com alta qualidade. Aliado a isso, a implantação de jardins clonais é benéfica pois é possível retirar material vegetal o ano inteiro sem importar se nessas plantas haverá produção de frutos ou não, visto que, não é essa a função do jardim.

Para que uma planta forneça material vegetativo ela deve crescer rapidamente e desenvolver ramos juvenis com padrão de sanidade e qualidade. Depois de enraizada, é importante que a muda encurte o máximo possível o tempo de viveiro com boas características agronômicas para ir a campo. Nesse contexto, utilizar bioestimulantes para promover crescimento das plantas, atendendo os requisitos de atributos agronômicos para a qualidade, tem se tornado uma alternativa para uma agricultura sustentável.

Como bioestimulante, a bactéria promotora de crescimento vegetal *Azospirillum brasilense* é muito utilizada em plantas cultivadas. Embora o benefício mais relatado do *A. brasilense*, seja a fixação biológica de nitrogênio, existe estudos comprovando o crescimento

de plantas por meio da liberação de fitohormônios, como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno.

Na matéria orgânica do solo, vermicomposto e águas naturais estão presentes as substâncias húmicas, bioestimulante capaz de promover efeitos diretos sobre o crescimento das plantas. Dividem-se em ácidos húmicos, fúlvicos e humina e apresentam uma atividade hormonal, promotora do crescimento de plantas, além de fornecer nutrientes para as plantas por meio da mineralização. Esses efeitos são dependentes das fontes de obtenção, doses utilizadas e espécie de planta estudada.

Ao trabalhar com produção de mudas por jardim clonal, existe uma grande quantidade de resíduos gerados pelo processo. Entre eles, estão as folhas, um produto com benefícios comprovados para a saúde e que, além de tudo, é possível extrair óleos essenciais para uso na indústria farmacêutica, alimentícia e controle de pragas. A composição dos óleos pode ser diferente pelo ambiente, genética e manejo das plantas e por isso, podem sofrer interferências pelo uso dos bioestimulantes.

Tendo como base os fatores supracitados, é importante o estudo dos bioestimulantes e os modos de aplicação dos mesmos em interação com cada cultivar antes de recomendá-los aos produtores de mudas. Também, conhecer bem os efeitos de cada um para que possa se tornar uma prática difundida na agricultura, visando o sucesso na produção de mudas, e para agregar valor no processo, o uso ou não dos bioestimulantes para a produção dos óleos essenciais.

2 ARTIGO 1

BIOESTIMULANTES E MODOS DE APLICAÇÃO NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE OLIVEIRA

(Artigo elaborado segundo as normas da Revista Caatinga)

GIOVANA RITTER^{1*}, FABÍOLA VILLA¹, MICHEL ANDERSON MASIERO¹, LARISSA HIROMI KIAHARA², DANIEL FERNANDES DA SILVA¹, EDVAN COSTA DA SILVA¹

RESUMO: Os bioestimulantes promovem o crescimento de espécies de interesse. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi definir o uso de bioestimulantes e o modo de aplicação para o crescimento das mudas de oliveira em viveiro. Foram desenvolvidos dois experimentos com mudas de três meses das cultivares Arbequina, Maria da Fé e Ascolano 315. No experimento I as mudas receberam tratamentos com *Azospirillum brasilense* e substâncias húmicas na concentração de 0,5 e 0,4 mL por planta, respectivamente. No experimento II foi utilizado o *A. brasilense* em diferentes modos de aplicação (pulverização foliar, via solo e imersão de raízes). Os tratamentos foram aplicados mensalmente, bem como avaliações de altura, diâmetro e número de nós. Ao final de 210 dias após a primeira aplicação foi retirado 15 plantas por tratamento para avaliação de biomassa fresca e seca. O delineamento experimental foi blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 4 (cultivares x bioestimulantes) com 4 repetições de 5 plantas no experimento I e fatorial 3 x 4 (cultivares x modos de aplicação de *A. brasilense*) e 3 repetições de 5 plantas no experimento II, ambos com parcela subdividida no tempo. Mudas da cultivar Maria da Fé obtiveram maior crescimento com o uso do bioestimulante pulverizado. Para a cultivar Ascolano 315, não foi recomendado utilizar bioestimulantes. O modo de aplicação por imersão não foi eficiente na formação de mudas das três cultivares estudadas.

Palavras-chave: *Olea europaea* L. *Azospirillum brasilense*. Substâncias húmicas. Taxa de crescimento.

BIOSTIMULANTS AND APPLICATION MODES IN THE OLIVE PLANTS FORMATION

ABSTRACT: The use of biostimulants has become widespread among crop species. The objective of the work was evaluating the development of olive tree seedlings in a nursery with biostimulants. Two experiments were carried out with three-month seedlings of Arbequina, Maria da Fé and Ascolano 315 cultivars. In experiment I, the seedlings were treated with *Azospirillum brasilense* and humic substances at a concentration of 0.5 and 0.4 mL per plant. In experiment II, *A. brasilense* was used in different forms of application (foliar, via soil and immersion). The treatments were applied monthly, as well as evaluations of height, diameter and nodes number. At the end of 210 days, 15 plants were removed per treatment to evaluate fresh and dry biomass. The experimental design was randomized blocks in a 3 x 4 factorial scheme (cultivars x biostimulants) with 4 replicates of 5 plants in experiment I and a 3 x 4 factorial (cultivars x application modes of *A. brasilense*) and 3 replicates of 5 plants in the experiment II, both with split plot over time. Seedlings of the cultivar Maria da Fé had greater growth and development with the use of sprayed biostimulant. For cultivar Ascolano 315, it was not recommended to use biostimulants. The immersion of the roots of the Arbequina cultivar in the biostimulant was efficient in the development of the root system. The method of application by immersion was not efficient in the formation of seedlings of the three cultivars studied.

Keywords: *Olea europaea* L. *Azospirillum brasilense*. Humic Substances. Growth Rate.

INTRODUÇÃO

O interesse nacional pela olivicultura vem crescendo e as cultivares mais implantadas nos olivais são Arbequina, Ascolano, Barnea, Grappolo e Koroneiki (SILVA et al., 2021). As mudas de oliveira são formadas pelo método de estaquia e para que se obtenha êxito nas áreas de produção é primordial a implantação de mudas de qualidade, garantindo homogeneidade, rápida formação e o início precoce de produção (CASARIN et al., 2020).

Nesse contexto, o uso de bioestimulante promove o crescimento de plantas, melhorando muitas características agronômicas e ainda fornecem uma tecnologia para a agricultura sustentável (PEREIRA et al., 2021). Nessa categoria podem ser incluídos produtos com ou sem microrganismos (ROUPHAEL; COLLA, 2020).

As substâncias húmicas são compostos orgânicos condensados produzidos pela ação microbiana durante o processo de degradação e são constituídas pelas frações ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014). Esse bioestimulante pode alterar o metabolismo hormonal da planta resultando na aceleração do crescimento e desenvolvimento da planta, alongamento da raiz, aumento na disponibilidade de nutrientes, e aumento na biomassa (OLIVARES et al., 2017).

Outro bioestimulante muito utilizado é a bactéria promotora de crescimento vegetal *Azospirillum brasilense*. Embora o benefício relatado mais prevalente do *A. brasilense* tenha sido sua capacidade de fixar nitrogênio, um número crescente de estudos descreve outras propriedades que implicam na promoção do crescimento das plantas, como síntese de auxinas citocininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno e ácido salicílico. Os fitohormônios afetam muito o crescimento da raiz, resultando em melhorias na absorção de água e nutrientes (HUNGRIA et al., 2016).

O uso de bioestimulantes em mudas de oliveira ou em pomares jovens ainda é pouco estudado, mas tem apresentado bons resultados no crescimento de plantas e sua aplicação é muito importante, pois acelerando o crescimento das mudas reduz-se tempo de viveiro e de campo para atingir a fase adulta e, conseqüentemente, a plena produção (COSTA; MELLONI, 2019).

Estudos envolvendo modo de aplicação de bioestimulantes em plantas de trigo (PEREIRA et al., 2017), milho (SILVA et al., 2015), arroz (GARCIA et al., 2015), entre outras, têm sido bastante visados. No entanto, dados sobre o modo de atuação e a forma de aplicação dos bioestimulantes em mudas de oliveira são escassos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi definir o uso de bioestimulantes e o modo de aplicação dos mesmos para a formação de mudas de oliveira em viveiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos e conduzidos de abril a outubro de 2020 e abril a outubro de 2021, no viveiro de mudas da Estação Experimental de Horticultura e Cultivo Protegido “Professor Mário César Lopes”, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR). O viveiro situa-se nas coordenadas geográficas de latitude 24° 32’ 22” S, longitude 54° 03’ 24” S e altitude de 420 metros.

De acordo com a classificação climática proposta por Köppen, o clima é do tipo *Cfa*, mesotérmico, subtropical úmido³, com chuvas bem distribuídas durante o ano e verões quentes. As temperaturas médias do trimestre mais frio variam entre 17 e 18 °C, do trimestre mais quente entre 28 e 29 °C e a anual 22 e 23 °C (ALVARES et al., 2013). A umidade relativa está entre 70 a 75%. Os totais médios normais e precipitação pluvial para a região variam entre 1600 e 1800 mm, com o trimestre mais chuvoso apresentando totais variando entre 400 e 500 mm (NITSCHE et al., 2019). A condução dos experimentos ocorreu sob condições de telado com 30% de retenção da radiação solar.

Foram utilizadas mudas das cultivares Arbequina, Maria da Fé e Ascolano 315 com três meses de idade, provenientes de estaquia semilenhosa enraizadas com 3000 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico e plantadas em sacos de polietileno com dimensões de 13 x 19 cm e volume total de 910 ml, com quatro perfurações na parte inferior e seis perfurações nas laterais, preenchidos com substrato latossolo acrescido de condicionador de solo com base em esterco bovino (1:1, v/v). Os resultados das análises químicas do substrato e condicionador de solo encontra-se nas Tabelas 1 bem como a análise física do solo.

Tabela 1. Análise química do substrato e condicionador de solo e análise física do latossolo.

A	P	MO	phCaCl ₂	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V	Al
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	0,01 mol L ⁻¹			-----cmolc dm ⁻³ -----					%	
A1	443,04	39,63	6,32	2,91	0,09	1,30	9,98	3,96	15,24	15,33	83,96	0,50
A2	298,44	42,38	6,37	2,79	0,00	2,42	7,73	5,72	15,87	18,66	85,05	0,00
A	Areia			-----%-----				Silte		Argila		
A1	23,79							13,51		62,70		

Classificação: Tipo 3
 A = amostra, A1 = Latossolo Vermelho Eutroférico + condicionador de solo (esterco bovino curtido), na proporção 1:1 (v:v), A2 = condicionador de solo.

Para o experimento I, os tratamentos aplicados foram: T1 - testemunha (apenas água de irrigação do viveiro), T2 - aplicação de 0,5 mL por planta de inoculante contendo *A. brasilense*, T3 - aplicação de 0,4 mL de substância húmica por planta e T4 - aplicação de ácidos húmicos

+ *A. brasilense* (nas mesmas concentrações dos tratamentos anteriores). O produto comercial utilizado de substâncias húmicas foi fornecido pela empresa SoloHumics[®], com 25% de substâncias húmicas (253 g L⁻¹) na composição e o inoculante foi fornecido pela empresa Nitro 1000[®] (contém estirpes AbV5, AbV6 e 200 milhões de células mL⁻¹). Em cada tratamento utilizou-se 30 mL de inoculante e 24 mL de substância húmica, diluídos em água, formando 3000 mL de volume final de calda. Assim, cada planta recebeu 50 mL da solução.

Para o experimento II, foi utilizado apenas o inoculante com dose de 22,5 mL em cada tratamento de diferentes modos de aplicação na concentração de 0,5 mL de *A. brasilense* por planta. Os tratamentos utilizados foram: T1 - testemunha (apenas água de irrigação do viveiro), T2 - aplicação por pulverização foliar nas plantas, T3 - aplicação por inoculação via solo e T4 - aplicação por imersão de raízes antes do plantio em substrato. No T2 o inoculante foi diluído, formando um volume final de calda de 200 mL e aplicado nas plantas com o uso de um pulverizador manual. No T3 o inoculante foi diluído em água, formando volume final de calda de 2250 mL para aplicar 50 mL de solução em cada planta e no T4 o inoculante foi diluído em água, formando volume final de 2250 mL de calda para imersão das raízes das mudas por 1 hora. Todos os tratamentos eram compostos por 45 plantas, 15 de cada cultivar.

Para ambos os experimentos, as mudas receberam mensalmente os tratamentos bem como as avaliações de altura de planta (cm), diâmetro de colo (mm) e número de nós para a análise da taxa de crescimento absoluto (TCA). Para a avaliação de altura utilizou-se uma régua graduada e o diâmetro do colo foi medido com auxílio de paquímetro digital à cinco centímetros acima do solo. O número de nós foi contabilizado manualmente, da primeira brotação da estaca até o ápice da muda. Demais manejos de cultivo como a aplicação de inseticida para o controle de mosca branca (*Bemisia tabaci*) e desbaste de brotações laterais para manter a condução da planta em haste única foram realizados quando necessário.

Em torno de 210 dias após a primeira aplicação dos tratamentos foi realizada a última avaliação mensal e a retirada de 15 plantas por tratamento para ambos os experimentos como amostra para realização de biomassa fresca (g) de parte aérea e radicular. As plantas foram retiradas do substrato, as raízes lavadas em água corrente e separadas da parte aérea da planta. Cada parte foi depositada em sacos de papel devidamente identificados, pesados em balança de precisão e levados para a estufa de secagem a 65°C até manter peso constante (quatro dias). Posteriormente, foram pesados para quantificação da biomassa seca (g).

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, em esquema fatorial 3 x 4 (3 cultivares x 4 tratamentos) com parcela subdividida no tempo, contendo quatro repetições de 5 plantas e três repetições de 5 plantas, para o experimento I e II, respectivamente.

Os dados foram tabulados e aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com transformação para $(Y+1,0)^{0,5}$ quando necessário. Posteriormente foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2019).

Os dados coletados das variáveis altura e número de nós das cultivares de oliveira também foram utilizados para o cálculo da Taxa de Crescimento Absoluto (TCA), seguindo a equação de Benincasa, 2003:

$$TCA = \frac{P2 - P1}{\Delta T}$$

Onde:

TCA = taxa de crescimento absoluto,

P2 = altura, diâmetro e número de nós da coleta atual,

P1 = altura, diâmetro e número de nós da coleta anterior e

Δt = intervalo de tempo entre as coletas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

EXPERIMENTO I

Por meio da análise de variância do experimento I (Tabela 2), são apresentados resultados significativos para o número de nós nas cultivares (Tabela 3) e na biomassa fresca e seca do sistema radicular (Tabela 4) para os bioestimulantes e as cultivares.

A Tabela 3 apresenta os resultados das médias dos números de nós correspondentes as cultivares de oliveira, em que a Ascolano 315 apresentou a menor quantidade. As cultivares Arbequina e Maria da Fé não diferiram estatisticamente entre si apresentando a maior média na variável analisada.

Tabela 2. Análise de variância com valores dos quadrados médios para a altura das mudas (H), diâmetro do colo (D), número de nós (NN), biomassa fresca da parte aérea (BFPA), biomassa fresca do sistema radicular (BFSR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR) de cultivares de oliveira.

FV	GL	H	D	NN	BFPA	BFSR	BSPA	BSSR
		(cm)	(mm)		(g)	(g)	(g)	(g)
Bloco	3							
B	3	78,48 ^{ns}	0,09 ^{ns}	4,52 ^{ns}	37,34 ^{ns}	2,80*	5,71 ^{ns}	9,53*
C	2	25,28 ^{ns}	0,17 ^{ns}	110,45*	231,20 ^{ns}	2,22*	77,5 ^{ns}	135,25*
B x C	6	42,03 ^{ns}	0,08 ^{ns}	3,97 ^{ns}	107,9 ^{ns}	0,73 ^{ns}	16,46 ^{ns}	40,15 ^{ns}
Resíduo	33	46,55	0,12	5,23	95,10	0,42	28,36	18,43
Total	47							
CV (%)		9,03	8,18	6,93	25,76	32,81 ^(a)	22,68	24,60

*Significativo a 5% de probabilidade de erro, ns = não significativo, FV = fator de variação, B = bioestimulantes, C = cultivares de oliveira, GL = graus de liberdade, CV = coeficiente de variação, ^(a) = dados transformados para $(Y+1,0)^{0,5}$.

Tabela 3. Números de nós das três cultivares de oliveira.

Cultivares de oliveira	Número de nós
Arbequina	33,66 a*
Maria da Fé	35,28 a
Ascolano 315	30,14 b
CV(%)	6,93

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV= Coeficiente de variação.

Dentre as inúmeras características possíveis de ser estudada em uma planta, os atributos de crescimento de vigor como altura, diâmetro e número de nós são os melhores para se usar como critério na decisão da seleção de mudas com menor período de juvenilidade (JIMENEZ-RUIZ et al., 2015). Essa diferença estatística, pode ser pela própria característica intrínseca das cultivares, pois, a Ascolano 315 é uma cultivar que apresenta o entrenó mais longo entre essas estudadas, conseqüentemente, menor quantidade de nós. A espécie *Olea europaea* L. pode

apresentar diferentes comportamentos de crescimento e desenvolvimento entre os genótipos, devido aos muitos anos de seleção empírica e coletas de espécimes de diferentes regiões ao domesticar a planta (TRUJILLO et al., 2014). Nesse experimento, o número de nós não seria considerado um critério de escolha de cultivar a não ser que houvesse diferença relacionada entre a interação dos tratamentos.

A Tabela 4 mostra os resultados biomassa fresca do sistema radicular (BFSR) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR) dos diferentes bioestimulantes e das cultivares de oliveira. Tanto para a BFSR quanto para BSSR, quanto submetidas aos diferentes bioestimulantes, foram maiores no tratamento testemunha e, se apresentaram iguais e menores perante a estatística quando submetidos ao uso de *A. brasilense*, substâncias húmicas e a conciliação deles.

Essa diferença pode ter ocorrido devido à alta dose utilizada em cada planta ou, à aplicação mensal de produtos. A síntese de fitormônios e outros compostos promotores de crescimento pelos bioestimulantes, pode ter gerado um excesso de substâncias concentradas no sistema radicular da planta, causando um efeito contrário ao crescimento e aumento de biomassa.

Tabela 4. Biomassa fresca do sistema radicular (BFSR) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR), em função dos bioestimulantes e nas três cultivares de oliveira avaliadas.

Bioestimulantes	BFSR (g)	BSSR (g)
Testemunha	5,46 a*	21,32 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	4,53 b	16,15 b
Substâncias Húmicas	4,63 b	16,17 b
A + SH	4,64 b	16,18 b
CV(%)	13,53	24,60
Cultivares	BFSR(g)	BSSR(g)
Arbequina	5,18 a	20,36 a
Maria da Fé	4,74 ab	16,65 b
Ascolano 315	4,52 b	15,35 b
CV(%)	13,53	24,60

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de Variação, A + SH = *A. brasilense* + Substâncias Húmicas.

Os resultados de BFSR e BSSR se opõem a inúmeros estudos com bactérias promotoras de crescimento vegetal e substâncias húmicas que resultaram em incremento de raízes pelo uso de bactérias de crescimento vegetal (PIETERSE et al., 2014; BACKER et al., 2018) e substâncias húmicas (PEREIRA et al., 2021; OLIVARE S et al., 2017) em oliveira (TEKAYA et al., 2014; BIZOS et al., 2020).

Também no uso de dois ou mais tipos de bioestimulante em conjunto, são relatados incrementos significativos no crescimento de plantas devido ao efeito sinérgico (PEREIRA et al., 2021) melhorando e aumentando o sistema radicular (OLIVARES et al., 2017), porém, a sinergia entre a combinação dos bioestimulantes nem sempre é positiva para variáveis isoladas, podendo ser benéfica para a planta como um todo em termos de produção, qualidade nutricional da planta e de marcadores de qualidade do solo (PEREIRA et al., 2021).

Perante as cultivares, a variável BFSR na cultivar Arbequina foi superior a Ascolano 315, porém não diferiu estatisticamente da Maria da Fé, que por sua vez, apresentou média igual a Ascolano 315. A cultivar Arbequina obteve a maior média de BSSR enquanto, as cultivares Maria da Fé e Ascolano 315 obtiveram médias menores e iguais entre si.

De acordo com Rosati et al. (2018), ainda não há informações disponíveis que comprovam e afirmam o quanto a biomassa seca das oliveiras é influenciada pela característica intrínseca das cultivares. Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com Paoletti et al. (2021), que afirmaram que a cv. Arbequina também apresenta biomassa seca superior a outras cultivares estudadas, como Frantoio e Leccino, mesmo sendo considerada uma planta de baixo vigor (ROSATI et al., 2018).

As taxas de crescimento absoluto (TCA) das cultivares de oliveira para cada bioestimulante são apresentadas na Figura 1. Embora a taxa de crescimento absoluto indique a velocidade de crescimento da planta, é mais interessante expressar a taxa de crescimento, pela biomassa da planta coletada de forma periódica. Porém, o conceito de análise de crescimento estabelece que a taxa de crescimento de uma planta ou de qualquer órgão dela é uma função do tamanho inicial (BENINCASA, 2003).

No presente estudo, optou-se por realizar apenas a taxa de crescimento absoluto (Figuras 1 e 2) com altura e número de nós tendo em vista que a coleta de biomassas foi realizada apenas no final do experimento.

O incremento do número de nós mais expressivo para as três cultivares foi com a combinação das substâncias húmicas no período de 120 a 150 dias após a implantação do

experimento e a cultivar Ascolano 315, mesmo apresentando a menor média de nós, apresentou grande diferença entre o incremento inicial e final. Quanto ao incremento de altura, a cultivar Ascolano 315 obteve uma recuperação ao final do experimento, com incremento de centímetros em todos os bioestimulantes, sua combinação e testemunha.

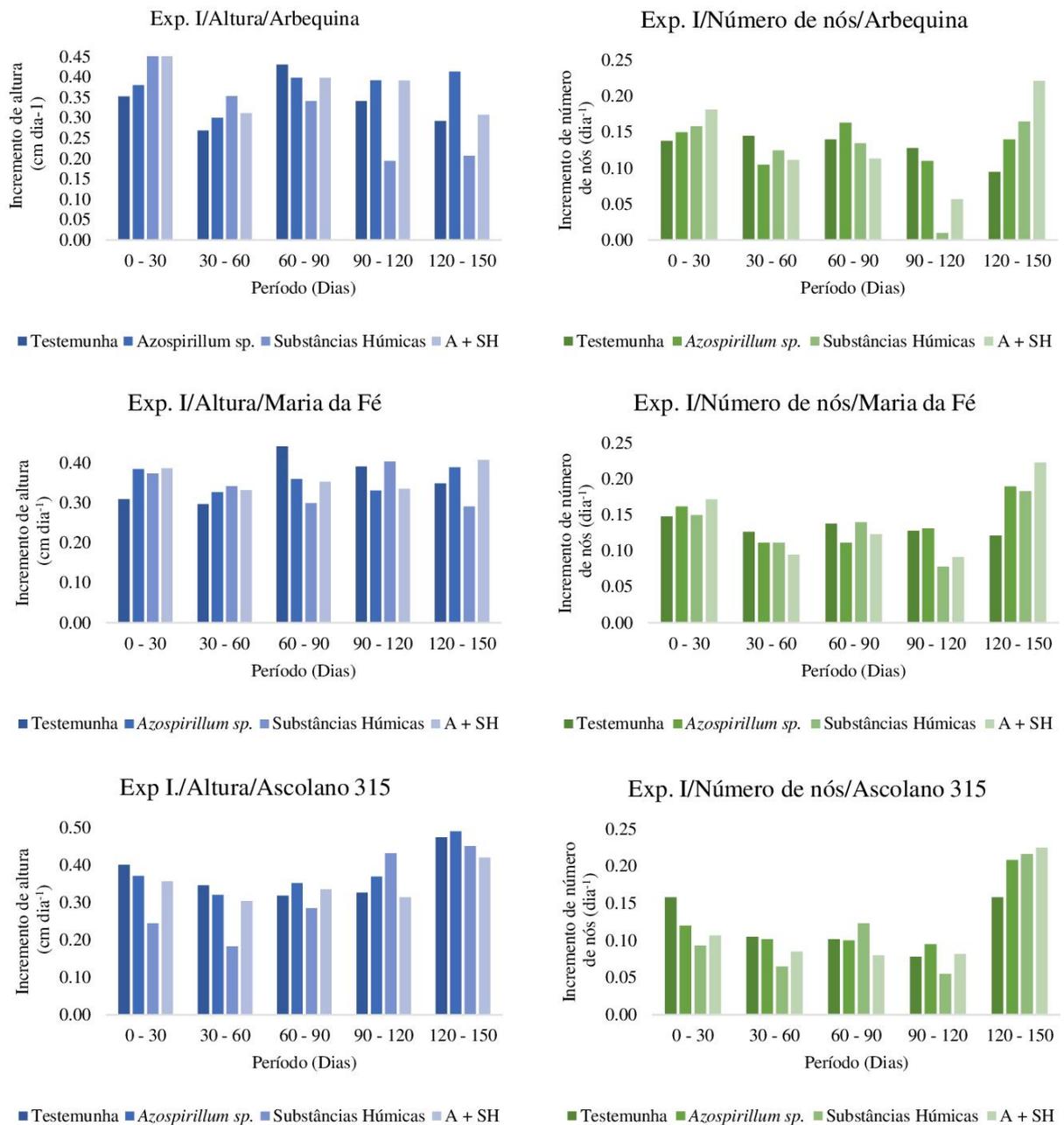


Figura 1. Taxas de crescimento absoluto (TCA) para altura, e número de nós, em função dos bioestimulantes e cultivares de oliveira nas avaliações mensais de 0 a 150 dias. A + SH = *Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas.

EXPERIMENTO II

A Tabela 5 apresenta a análise de variância do experimento II com as mudas de oliveiras, em que todas as variáveis obtiveram resultado significativo em alguma fonte de variação. Houve uma interação significativa entre os modos de aplicação do bioestimulante e as cultivares para a altura de plantas (Tabela 6), número de nós (Tabela 8), biomassa fresca da parte aérea e radicular e biomassa seca do sistema radicular (Tabela 9). Para o diâmetro de colo (Tabela 7) e a biomassa seca da parte aérea (Tabela 10), os valores foram significativos no tratamento dos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Tabela 5. Análise de variância com valores dos quadrados médios para altura de muda (H), diâmetro de colo (D), número de nós (NN), biomassa fresca da parte aérea (BFPA), biomassa fresca do sistema radicular (BFSR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR) de cultivares de oliveira.

FV	GL	H	D	NN	BFPA	BFSR	BSPA	BSSR
		(cm)	(mm)		(g)	(g)	(g)	(g)
Bloco	3							
M	2	1111,20 ^{ns}	0,95*	171,0 ^{ns}	37,20 ^{ns}	4,25 ^{ns}	19,29 *	4,27 ^{ns}
C	2	1119,99 ^{ns}	0,01 ^{ns}	373,5 ^{ns}	16,39 ^{ns}	1,68 ^{ns}	2,07 ^{ns}	2,97 ^{ns}
M x C	6	83,41*	0,18 ^{ns}	11,97*	22,56*	17,47*	3,64 ^{ns}	2,30*
Resíduo	22	28,63	0,09	4,15	6,88	4,74	2,83	0,54
Total	35							
CV(%)		9,03	6,92	7,14	14,01	18,69	13,76	7,78

*Significativo a 5% de probabilidade de erro, ns = não significativo, FV = fator de variação, GL = graus de liberdade, M = modos de aplicação, C = cultivares de oliveira, CV = coeficiente de variação.

As médias da altura das cultivares apresentaram interação com os modos de aplicação do inoculante e cultivar conforme a Tabela 6. Para a Arbequina, tanto a aplicação por pulverização quanto o não uso de inoculante mostraram maiores alturas das mudas, mas também não diferiram do modo de aplicação via solo que por sua vez, também apresentou média inferior, mas não diferente do modo de imersão de raízes. Na maioria das espécies na horticultura, a

aplicação de bioestimulante via foliar ou pela inoculação de solo, aumenta as características agrônômicas devido a eficiência fotossintética que o inoculante pode proporcionar à planta (COLLA et al., 2015).

As cultivares Maria da Fé e Ascolano 315 obtiveram menores médias quando submetidas ao modo de aplicação por imersão, mas, apesar dos maiores resultados na aplicação por meio da pulverização e via solo, não apresentaram diferença estatística para com a testemunha. Resultado esse, que pode ser interpretado como dispensável o uso do inoculante para essas cultivares, quando o objetivo for atingir um padrão de altura mais rápido.

O tratamento por imersão manteve as raízes das plantas por 1 hora em contato com a solução, o que pode ter causado o efeito inibitório de crescimento, pela exposição direta a alta concentração de microrganismos do inoculante, uma vez que o *A. brasilense* é um sintetizador de auxinas, as quais em grande quantidade podem agir de forma oposta ao esperado (RUZZI; AROCA, 2015). Da mesma forma, a retirada da muda do substrato e posterior replantio também justifica o atraso no processo de desenvolvimento.

Tabela 6. Altura (cm) das plantas em interação das cultivares de oliveira e modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Modos de aplicação	Cultivares de oliveira		
	Arbequina	Maria da Fé	Ascolano 315
Testemunha	67,77 aA*	69,18 aA	58,60 aA
Pulverização	69,83 aAB	75,13 aA	59,63 aB
Via solo	65,60 abA	64,73 aA	50,57 aB
Imersão	53,82 bA	52,47 bA	23,65 bB
CV(%)	9,03		

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna e maiúsculas na linha, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Quanto aos modos de aplicação, a testemunha manteve resultados iguais perante as três cultivares e, por meio da pulverização foliar, maiores médias resultaram na cultivar Maria da Fé e na cultivar Arbequina, que também não difere estatisticamente na média da altura na Ascolano 315. Resultados iguais foram obtidos na aplicação do inoculante via solo e por

imersão, nos quais apresentaram menores médias quando aplicados na cultivar Ascolano 315 e, médias maiores e iguais na Arbequina e Maria da Fé.

A variável altura pode entrar como um dos parâmetros de escolha de cultivares para a formação do pomar (JIMENEZ-RUIZ et al., 2015), ainda mais se tiver algum produto ou forma de aplicação eficiente para maximizar o crescimento desta. Mas a escolha de cultivares também leva em consideração o propósito da produção, qualidade do azeite, adaptação na região de cultivo entre outros quesitos. A Ascolano 315 é considerada uma cultivar do grupo de plantas com alto vigor vegetativo (OLIVEIRA et al., 2012), porém, no presente trabalho, ela respondeu de forma contrária quando recebeu a aplicação do bioestimulante.

De acordo com Marino et al. (2017), muda de qualidade para implantação de pomares italianos deve ser formada por estaca enraizada, ter no mínimo de 50 a 70 cm de altura, até um ano de idade e conduzida em haste única, sem brotações. Para os pomares argentinos, as exigências são mudas com no mínimo 60 cm de altura, 4 mm de diâmetro até nove meses de idade e que apresente todas as folhas verdes e sem amarelecimento, com indícios de pleno crescimento e bom vigor (BUENO; OVIEDO, 2014).

Com resultados parecidos com os da variável altura, o diâmetro do colo também apresentou a menor média nas plantas que receberam o tratamento por imersão e as médias dos demais modos de aplicação foram maiores, porém iguais a testemunha (Tabela 7). Esse resultado complementa o questionamento da necessidade do uso de *A. brasilense* nas mudas de oliveira em fase de crescimento nos viveiros pois a testemunha apresenta médias superiores ou iguais para essas cultivares. Da mesma forma que a variável altura, o menor diâmetro no tratamento por imersão de raízes, pode ser resultado do tempo e contato com a solução de bioestimulante *A. brasilense* (RUZZI; AROCA, 2015) ou também resultado do estresse causado pelo replantio nas mudas.

Mudas com baixo diâmetro do colo apresentam dificuldades de se manterem eretas após o plantio, e o tombamento decorrente dessa característica pode resultar em morte ou deformações que comprometem o valor das plantas no pomar. Mudanças que apresentam diâmetro do colo pequeno e alturas elevadas são consideradas de qualidade inferior às menores e com maior diâmetro do colo (MARINO et al., 2017).

Tabela 7. Diâmetro do colo (mm) das mudas de oliveira, em função dos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Modos de aplicação	Diâmetro do colo (mm)
Testemunha	4,56 a*
Pulverização	4,54 a
Via solo	4,26 a
Imersão	3,86 b
CV(%)	6,92

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

A Tabela 8 dispõe das médias de número de nós com interação entre as cultivares de oliveira e os tratamentos de modos de aplicação. Para todos os modos de aplicação, inclusive a testemunha, os comportamentos foram iguais quando aplicados nas cultivares em que as menores médias estão na cultivar Ascolano 315 e as maiores médias na Arbequina e Maria da Fé sem diferença estatística.

Tabela 8. Número de nós em mudas de oliveiras em interação das cultivares e modos de aplicação de *A. brasilense*.

Modos de aplicação	Cultivares de oliveira		
	Arbequina	Maria da Fé	Ascolano 315
Testemunha	33,87 aA*	33,53 abA	26,07 aB
Pulverização	34,40 aA	35,40 aA	26,52 aB
Via solo	31,67 abA	30,60 bcA	23,20 aB
Imersão	27,18 bA	27,47 cA	12,62 bB
CV(%)	7,14		

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna e maiúsculas na linha, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Esses resultados são diversos daqueles apresentados por Paskovi'c et al. (2019) e Tekaya et al. (2014), nos quais a aplicação foliar de bioestimulantes em oliveira em crescimento tem vantagens no crescimento da planta e melhora o status nutritivo dela quanto a macro e

micronutrientes. Um fato observado durante a condução do experimento é uma característica intrínseca a cultivar Ascolano 315 possuir o entrenó mais alongado em comparação às demais cultivares desse estudo, logo, o número de nós se torna inferior quando a altura não difere entre elas.

Dentro do desdobramento do modo de aplicação em cada cultivar, a Arbequina apresentou maiores médias de número de nós na testemunha, por meio de pulverização e via solo, que por sua vez, não diferiu do tratamento por imersão de mudas no inoculante. Na cultivar Maria da Fé, o tratamento de pulverização foi superior aos tratamentos de imersão e via solo, porém, não difere da testemunha. Quando não se utilizou o inoculante, o número de nós foi maior perante o tratamento por imersão.

Para a Ascolano 315, o tratamento do modo de aplicação por imersão foi o responsável pela menor média de número de nós enquanto os demais tratamentos se apresentaram superiores e iguais estatisticamente. Apesar de não diferenciar da testemunha o uso de bioestimulante na forma de pulverização nas mudas, alguns autores têm relatado o uso de bioestimulante na forma de pulverização foliar com efeitos significativos na qualidade do azeite (TEKAYA et al., 2014; MAHMOUD et al., 2017), conteúdos minerais e até na produtividade das cultivares Koroneiki, Picholine e Hojiblanca.

As médias de BFPA estão na Tabela 9, e na cultivar Ascolano 315 a testemunha e a pulverização resultaram em médias maiores do que no tratamento com imersão, porém não foram estatisticamente diferentes da aplicação via solo que também não diferiu da imersão. Com os modos de aplicação de *A. brasilense*, os resultados foram iguais para a testemunha, pulverização e via solo nas cultivares, apenas a imersão apresentou uma média de BFPA, quando aplicada na cultivar Ascolano 315.

Para a BFSR, a Ascolano 315 apresentou médias superiores na testemunha em comparação com a imersão e aplicação via solo e não diferem da pulverização. Quando não se utilizou o bioestimulante, a cultivar Ascolano 315 apresentou média de BFSR maior do que a Maria da Fé e, a Arbequina não diferiu das outras duas cultivares. Também na aplicação por imersão, a Arbequina apresentou melhor resposta para BFSR perante a Ascolano 315 enquanto, a cultivar Maria da Fé possui médias estatisticamente igual às duas anteriores.

Mesmo com interação dos tratamentos cultivares e modo de aplicação, as diferenças com maiores destaques nas tabelas estão relacionadas com a menor média de massa fresca e seca da cultivar Ascolano e do tratamento por imersão. O que pode ter ocorrido pela não

compatibilidade da cultivar com o bioestimulante a base de *A. brasilense* ou também pelo fato de a imersão ser realizada apenas uma vez durante a condução do experimento e não mensalmente como os demais modos de aplicação.

Tabela 9. Biomassa fresca da parte aérea (BFPA) , biomassa fresca do sistema radicular (BFSR) e biomassa seca do sistema radicular (BSSR) das mudas de oliveiras, quanto aos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Modos de aplicação	BFPA (g)		
	Arbequina	Maria da Fé	Ascolano 315
Testemunha	20,85 aA*	17,54 aA	19,21 aA
Pulverização	18,95 aA	21,78 aA	21,30 aA
Via solo	18,46 aA	18,40 aA	17,03 abA
Imersão	19,03 aA	18,91 aA	13,19 bB
CV (%)	14,01		
Modos de aplicação	BFSR (g)		
	Arbequina	Maria da Fé	Ascolano 315
Testemunha	12,14 aAB	10,50 aB	14,50 aA
Pulverização	10,9 aA	12,04 aA	11,45 abA
Via solo	10,94 aA	11,9 aA	10,43 bA
Imersão	13,75 aA	12,1 aAB	9,01 bB
CV(%)	18,69		
Modos de aplicação	BSSR (g)		
	Arbequina	Maria da Fé	Ascolano 315
Testemunha	10,30 aA	9,33 aA	10,45 aA
Pulverização	9,70 aA	10,02 aA	9,39 abA
Via solo	9,30 aA	9,64 aA	8,61 bcA
Imersão	9,89 aA	8,91 aA	7,68 dB
CV(%)	7,78		

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna e maiúsculas na linha, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV= coeficiente de variação.

Da mesma forma, em BSSR a Ascolano 315 teve a menor média com o tratamento por imersão, e a testemunha foi maior perante a aplicação via solo, mas não diferiu da pulverização. A pulverização obteve média sem diferenciar da testemunha e da aplicação via solo.

Das variáveis de biomassa, a biomassa seca da parte aérea (Tabela 10) não apresentou interação entre os fatores estudados, mas foi significativa para os modos de aplicação de *A. brasilense*. A testemunha apresenta média maior do que os tratamentos via solo e de imersão, mas não difere da pulverização. A aplicação por pulverização resultou em uma média maior de BSPA em comparação com a imersão, mas não difere da testemunha e do modo via solo. Diferente do observado por Almadi et al. (2020) onde a biomassa seca de mudas de oliveira da cultivar Leccino, que receberam tratamento com bioestimulante, foi maior do que a apresentada pelo tratamento testemunha.

Tabela 10. Biomassa seca da parte aérea (BSPA), em função do modo de aplicação de *Azospirillum brasilense*.

Modos de aplicação	BSPA (g)
Testemunha	13,54 a*
Pulverização	12,65 ab
Via solo	11,85 bc
Imersão	10,88 c
CV(%)	6,92

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de Variação.

As taxas de crescimento absoluto (TCA) das cultivares são apresentadas na Figura 2. Nesse experimento, os incrementos de altura e número de nós variaram entre os períodos e as cultivares. Para a altura, todas as cultivares tiveram um incremento maior no período de 30 – 60 dias de avaliação nos tratamentos de pulverização, via solo e testemunha. No incremento de número de nós, a cultivar Ascolano 315 obteve picos de incremento com a aplicação por pulverização, hora com o maior incremento, hora com o menor.

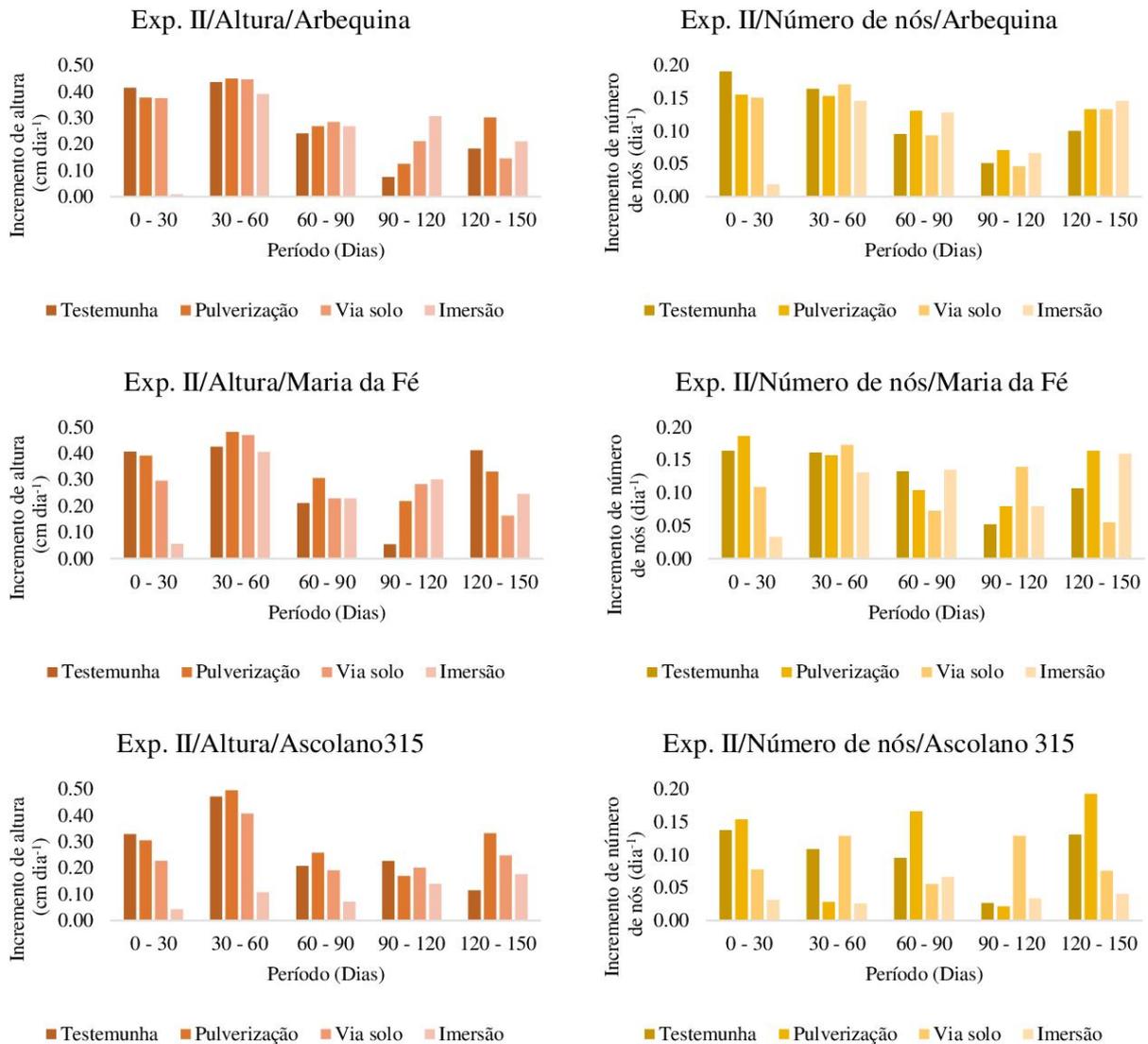


Figura 2. Taxas de crescimento absoluto (TCA) para altura, e número de nós, em função dos modos de aplicação de *Azospirillum brasilense* nas avaliações mensais de 0 a 150 dias.

No geral, efeitos positivos dos bioestimulante no crescimento e desenvolvimento de plantas tem se obtido em muitas outras espécies de cultivo (FAHEED et al., 2018; GRAZIANI et al., 2020; TREVISAN et al., 2019). Os bioestimulantes têm se mostrado eficientes no crescimento e desenvolvimento de plantas, mas, por não ter muitos estudos com o uso e a melhor forma de aplicação no crescimento de mudas de oliveira em viveiro, demais pesquisas ainda podem ser realizadas com outros bioestimulantes em outras doses, como outras bactérias promotoras de crescimento vegetal, fungos micorrízicos, algas marinhas e enzimas, a fim de afirmar os melhores tratamentos.

CONCLUSÃO

Mudas da cultivar Maria da Fé obteve maior crescimento e desenvolvimento com o uso do bioestimulante pulverizado. Para a cultivar Ascolano 315, não foi recomendado utilizar bioestimulantes. O modo de aplicação por imersão não foi eficiente na formação de mudas das três cultivares estudadas.

REFERÊNCIAS

ALMADI, L. et al. A Biostimulant Based on Protein Hydrolysates Promotes the Growth of Young Olive Trees. **Agriculture**, 10: 618, 2020.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 22: 711-728, 2013.

BACKER, R. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, 9: 1473, 2018.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, 61: 856-881, 2014.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal, SP, FUNEP, 2003, 41 p.

BIZOS, G. et al. The role of microbial inoculants on plant protection, growth stimulation, and crop productivity of the olive tree (*Olea europea* L.). **Plants**, 9: 743, 2020.

BUENO, L.; OVIEDO, A. **Plantación de olivo**. San Juan, Ediciones INTA, 2014, 30 p.

CASARIN, J. V. et al. Vegetative development of 'Arbequina' olive seedlings on different substrates. **Manglar**, 17: 141-146, 2020.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. Bioestimulants in horticulture. **Science Horticulture**, 196: 1-2, 2015.

COSTA, S. M. L.; MELLONI, R. Relação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de oliveira (*Olea europaea*). **Ciência Florestal**, 29: 169-180, 2019.

FAHEED, F. A.; ABD-EL FATTAH, Z. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. **Journal of Agriculture and Social Sciences**, 4: 165–169, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, 37: 529-535, 2019.

GARCIA, N. F. S. et al. Rendimento e qualidade de grãos de arroz de terras altas em função de doses e modo de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Centro Científico Conhecer**, 11: 1653-1661, 2015.

GRAZIANI, G. et al. Effects of biostimulants on Annurca fruit quality and potential nutraceutical compounds at harvest and during storage. **Plants**, 9: 775, 2020.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 221: 125-131, 2016.

JIMÉNEZ-RUIZ, J. et al. Transcriptional analysis of adult cutting and juvenile seedling olive roots. **Tree Genetics & Genomes**, 11: 4, 2015.

MAHMOUD, T. et al. Influence of foliar application with potassium and magnesium on growth, yield and oil quality of “Koroneiki” olive trees. **American Journal of Food Technology**, 12: 209-220, 2017.

MARINO, G. et al. Horticultural performance of 23 Sicilian olive genotypes in hedgerow systems: vegetative growth, productive potential and oil quality. **Scientia Horticulturae**, 217: 217-225, 2017.

NITSCHKE, P. R. et al. **Atlas Climático do Estado do Paraná**. Londrina (PR): Instituto Agronômico do Paraná, 2019, 210 p.

OLIVARES, F. L. et al. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 4: 1-13, 2017.

OLIVEIRA, M. C. et al. Enraizamento de estacas em cultivares de oliveiras promissoras para a Serra da Mantiqueira. **Revista Ceres**, 59: 147-150, 2012.

PAOLETTI, A.; ROSATI, A.; FAMIANI, F. Effects of cultivar, fruit presence and tree age on whole-plant dry matter partitioning in young olive trees. **Heliyon**, 7: e06949, 2021.

PASKOVIĆ, I. et al. Boron foliar application enhances oleuropein level and modulates volatile compound composition in olive leaves. **Scientia Horticulturae**, 257: 108688, 2019.

PEREIRA, L. C. et al. Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, 40: 105-113, 2017.

PEREIRA, R. V. et al. The effects of biostimulants on induced plant defense. **Frontiers Agronomy**, 3: 630596, 2021.

PIETERSE, C. M. et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, 52, 347-375, 2014.

ROSATI, A. et al. Partitioning of dry matter into fruit explains cultivar differences in vigor in young olive (*Olea europaea* L.) trees. **Hortscience**, 53: 491-495, 2018.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. **Frontiers Plant Science**, 11: 40, 2020.

RUZZI, M.; AROCA, R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196: 124-134, 2015.

SILVA, A. G. et al. Inoculação de sementes de milho safrinha com *Azospirillum* e aplicação de nitrogênio em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 14: 358-370, 2015.

SILVA, B. S.; SCHMIELE, M. 2021. From olive-to-olive oil: a general approach. **Research, Society and Development**, 10: 1-15, 2021.

TEKAYA, M. et al. Changes in the profiles of mineral elements, phenols, tocopherols and soluble carbohydrates of olive fruit following foliar nutrient fertilization. **Food Science and Technology**, 59: 1047-1053, 2014.

TREVISAN, S.; MANOLI, A.; QUAGGIOTTI, S. A Novel biostimulant, belonging to protein hydrolysates, mitigates abiotic stress effects on maize seedlings grown in hydroponics. **Agronomy**, 9: 28, 2019.

TRUJILLO, I. et al. Identification of the worldwide olive Germplasm Bank of Córdoba (Spain) using SSR and morphological markers. **Tree Genetics & Genomes**, 10: 141-155, 2014.

3 ARTIGO 2

BIOESTIMULANTES EM UM JARDIM CLONAL DE CULTIVARES DE OLIVEIRA: RENDIMENTO E ATRIBUTOS AGRONÔMICOS

(Artigo elaborado segundo as normas da Revista Caatinga)

GIOVANA RITTER¹, FABÍOLA VILLA¹, DANIEL FERNANDES DA SILVA², DANIELA FARINELLI³, LAÍS ROMERO DE PAULA¹, VANDEIR FRANCISCO GUIMARÃES¹

RESUMO: O crescimento da olivicultura nacional aumenta a demanda por mudas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho de jardim clonal com aplicação de bioestimulantes sob cortes sucessivos. O jardim clonal foi implantado em setembro de 2019 com mudas de um ano das cultivares Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki e Picual em espaçamento de 0,50 x 1,0 m. Após o plantio, foi realizada a poda apical em 50 cm de altura. Receberam os tratamentos: T1 - testemunha, T2 - 0,5 mL de *Azospirillum brasilense*, T3 - 0,4 mL de substâncias húmicas e T4 - substâncias húmicas + *A. brasilense*. Os tratamentos foram aplicados mensalmente na rizosfera. As avaliações foram mensais pela altura (cm) para o cálculo da taxa de crescimento acumulado (TCA), o diâmetro do colo (mm) e comprimento do entrenó (cm). Ao final do primeiro ano, avaliações de biomassa total de planta (kg), comprimento do maior ramo (m) rendimento de quantidade de estacas e biomassa fresca e seca de folhas (g). Ao final do segundo, biomassa total de planta (kg), comprimento do maior ramo (m) e rendimento de estacas. O delineamento experimental foi blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 4, com análises subdivididas no tempo, com 3 repetições e 3 plantas por repetição. As substâncias húmicas favoreceram os atributos agronômicos. A cultivar Maria da Fé apresentou maior rendimento de estacas. As cultivares Maria da Fé e Koroneiki foram as mais vigorosas no estudo.

Palavras- chave: *Olea europaea* L. *Azospirillum brasilense*. Substâncias Húmicas. Estacas.

BIOSTIMULANTS IN A CLONAL GARDEN OF OLIVE CULTIVARS: YIELD AND AGRONOMIC ATTRIBUTES

ABSTRACT: The growth of national olive growing increases the demand for seedlings. The objective of the present work was to evaluate the performance of a clonal garden with application of biostimulants under successive cuts in two years, to generate information on the growth rate, cultivar vigor and cuttings yield. The clonal garden was set up in September 2019 with one-year seedlings of the Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki and Picual cultivars in a spacing of 0.50 x 1.0 m. After planting, apical pruning was performed at a height of 50 cm. The following treatments were given: T1 - control, T2 - 0.5 mL of *Azospirillum brasilense*, T3 - 0.4 mL of humic substances and T4 - humic substances + *A. brasilense*. Treatments were applied monthly in the rhizosphere. The evaluations were monthly by height (cm) to calculate the accumulated growth rate (TCA), the collar diameter (mm) and internode length (cm). At the end of the first year, evaluations of total plant biomass (kg), length of the longest branch (m), cuttings quantity yield and fresh and dry leaf biomass (g). At the end of the second, total plant biomass (kg), length of the longest branch (m) and cuttings yield. The experimental design was randomized blocks in a 4 x 4 factorial scheme, with analyzes subdivided in time, with 3 replications with 3 plants each. Humic substances favored the agronomic attributes. Cultivar Maria da Fé had the highest cuttings yield. Cultivars Maria da Fé and Koroneiki were the most vigorous in the study.

Key- words: *Olea europaea* L. *Azospirillum brasilense*. Humic Substances. Cuttings.

INTRODUÇÃO

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma frutífera perene cultivada há milhares de anos na região do mediterrâneo, que depois se expandiu para outros países até chegar no Brasil. A olivicultura brasileira ainda é recente, ocupa em torno de 10 mil hectares com produção voltada a extração de azeite, e um grande potencial para amplificação de áreas produtivas (CRIZEL et al., 2020).

A produção de mudas é um fator importante na cadeia de produção, além de representar uma grande porcentagem do custo de implantação (COSTA; JORGE, 2018), a qualidade das mudas garante uniformidade e idoneidade varietal influenciando na vida toda do pomar, maximizando efeitos de clima, solo e tratos culturais (OLIVEIRA et al., 2010).

Os jardins clonais são pomares compostos por um ou vários grupos de plantas, que tem o propósito de produzir propágulos para a formação de mudas de qualidade sem intenção de produção de frutos (CASARIN et al., 2018). A implantação de jardins clonais para fornecer

material propagativo se torna uma vantagem pois permite coleta de ramos com caráter juvenil e alto vigor o ano todo, características essas, que são favoráveis ao enraizamento (CABALLERO, 1981). Em muitas espécies frutíferas (CAMARGO et al., 2019; CONCEIÇÃO et al., 2015) e florestais (FRAGOSO et al., 2016; BALDONI E TONINI, 2019), torna-se comum o uso de material propagativo advindo de jardim clonal.

Para que uma planta forneça material vegetativo ela deve crescer rapidamente e desenvolver ramos juvenis com alta sanidade e qualidade. O uso dos bioestimulantes pode promover o crescimento das plantas melhorando as características agrônômicas de interesse das plantas de cultivo (PEREIRA et al., 2021). Dentre vários componentes dessa classe, se incluem as substâncias húmicas e a bactéria promotora de crescimento vegetal *Azospirillum brasilense* (DU JARDIN, 2015).

As substâncias húmicas são compostos presentes na matéria orgânica e constituídas pelas frações ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (BALDOTTO E BALDOTTO, 2014). Em inúmeros estudos, as substâncias húmicas se apresentaram como responsáveis por aumento de biomassa, disponibilidade de nutrientes, desenvolvimento e crescimento de plantas e até mesmo alteração no metabolismo hormonal da planta (CANELLAS et al., 2015; ROUPHAEL e COLLA, 2020). Apesar do *A. brasilense* ser mais conhecido pelo benefício de fixação de nitrogênio, a inoculação dessa bactéria pode promover crescimento das plantas pela síntese de auxinas, citocininas, giberelinas e outros fitohormônios (FUKAMI et al., 2018; CASSÁN et al., 2020). Estudos com bioestimulantes em oliveira ainda são poucos e recentes, mas tem se apresentado eficiente para o crescimento e desenvolvimento dessas plantas (ALMADI et al., 2020; COSTA E MELLONI, 2019).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho de jardim clonal com aplicação de bioestimulantes sob cortes sucessivos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental “Professor Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Unioeste, *Campus Marechal Cândido Rondon* (PR), localizada sob coordenadas geográficas 24° 33’40” latitude sul, 54° 04’12” longitude oeste e 420 m de altitude.

O clima, segundo classificação de Köppen, é tipo *Cfa*, subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes, geadas pouco frequentes e concentração de chuvas nos meses de verão,

sem estação seca definida. Caracterizando-se como região subtropical (ALVAREZ et al., 2013). O solo predominante é LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico, com textura argilosa predominante. As temperaturas médias da região são inferiores a 18°C (mesotérmico), as médias máximas acima de 22°C, e a precipitação média de 1840 mm (NITSCHKE et al., 2019). Os dados de temperatura e umidade média do ar e precipitação acumulada estão presentes na Figura 1.

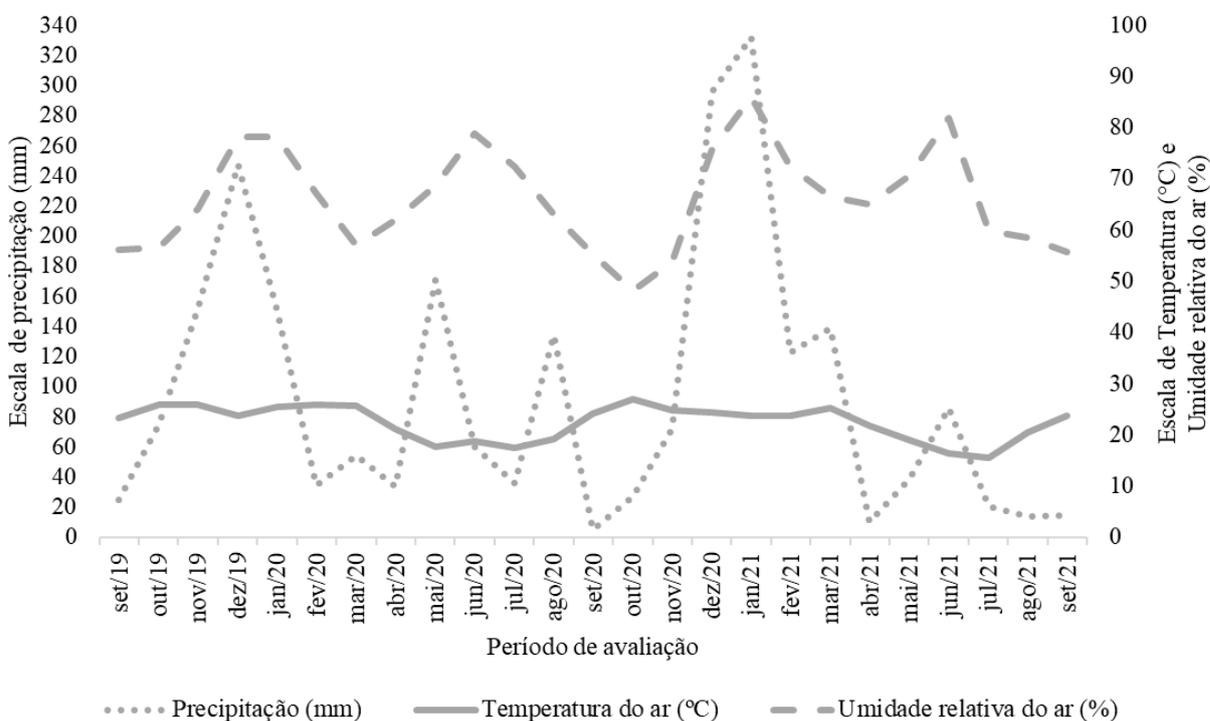


Figura 1. Médias mensais de temperatura do ar (°C) e umidade relativa do ar (%) e somatório mensal de precipitação (mm) durante setembro/2019 a setembro/2021. Dados coletados no Núcleo de Estações Experimentais da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR.

O jardim clonal foi instalado em setembro de 2019, em área previamente corrigida, de acordo com análise de fertilidade para pH, em torno de 6,0 e correção dos demais nutrientes conforme análise apresentada na Tabela 1.

Tabela 11. Resultados analíticos indicadores de fertilidade presentes no solo e análise física.

A	P mg dm ⁻³	MO g dm ⁻³	phCaCl ₂ 0,01 mol L ⁻¹	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V	Al
	-----cmol _c dm ⁻³ -----											
A1	23,81	24,85	5,58	4,52	0,15	0,49	6,87	3,61	10,98	15,49	70,85	0,97
A	Areia			Silte					Argila			
A2	23,79		13,51					62,70				

Classificação: Tipo 3

A = amostra, A1 = resultados de análise de macronutrientes do solo, A2 = resultados de análise física.

As mudas que foram utilizadas tinham um ano de idade e foram provenientes de propagação por estaquia das cultivares Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki e Picual. O plantio foi realizado em covas com 40 cm de profundidade, sendo adubados 60 dias antes com adubo orgânico: 15 L de mistura de esterco de curral + esterco de galinha na proporção de 1:1 (devidamente misturados com a terra de plantio) e espaçamento de 50 cm entre plantas e 1 m entre linhas. A irrigação do jardim ocorreu de forma manual diariamente, em torno de 15 dias, até o estabelecimento das mudas.

Após o plantio e estabelecimento das mudas, foi realizada a poda apical onde as plantas foram cortadas e padronizadas em 50 cm de altura. No mês de dezembro, quando as plantas apresentaram sinais de novas brotações receberam os tratamentos: T1 - testemunha, T2 - aplicação de 0,5 mL de *Azospirillum brasilense* por planta utilizando 18 mL de inoculante, T3 - aplicação de 0,4 mL de substância húmica por planta utilizando 14,4 mL do produto comercial e T4 - aplicação de ácidos húmicos + *A. brasilense* nas mesmas concentrações dos tratamentos anteriores.

O produto comercial utilizado de substâncias húmicas foi fornecido pela empresa SoloHumics[®], com 25% de substâncias húmicas (253,0 g L⁻¹) na composição e o inoculante foi fornecido pela empresa Nitro 1000[®] (contém estirpes AbV5, AbV6 e 200 milhões de células mL⁻¹). Os tratamentos foram diluídos em água formando volume final de calda de 3600 mL e cada planta recebeu 100 mL da solução.

Os tratamentos foram aplicados de forma mensal na rizosfera de cada planta por dois anos. Junto com a aplicação dos tratamentos foram avaliados a altura (cm) para o cálculo da taxa de crescimento acumulado (TCA), o diâmetro do colo (mm) e comprimento do entrenó (cm). A altura foi avaliada com régua graduada medindo do solo até o ápice do ramo mais alto da planta e o diâmetro do colo foi mensurado em 5 cm acima do solo com paquímetro digital. Para o comprimento de entrenó foi escolhido o ramo de maior destaque de cada planta e avaliado com régua três distâncias de nós, sendo do 4° ao 7° nó, do ápice para baixo (HAMMAMI et al., 2011).

Ao final do primeiro ano, foi realizado o primeiro corte das plantas a 30 cm acima do solo e o material vegetal retirado foi individualmente avaliado quanto a biomassa total de planta (kg), comprimento do maior ramo cortado(m) rendimento de quantidade de estacas de formato padrão utilizadas na propagação: em torno de 12 cm de comprimento, retilínea e sem brotações; também foi avaliada a biomassa fresca e biomassa seca

de folhas (g). Após o primeiro corte das plantas, os tratamentos e avaliações continuaram mensalmente e ao final do segundo ano, foi avaliada a biomassa total de planta (kg), comprimento do maior ramo cortado(m) e rendimento de estacas do jardim clonal. Demais manejos de cultivo foram a capina manual da área experimental e aplicação de inseticida para controle de pragas.

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 4, onde o primeiro fator se refere as cultivares e o segundo aos tratamentos. Com análises subdivididas no tempo. Os tratamentos foram compostos de 3 repetições com 3 plantas cada, totalizando 144 plantas.

Com base na altura, determinou-se a taxa de crescimento absoluto (TCA), segundo a equação de Benincasa (2003):

$$TCA = \frac{P2 - P1}{\Delta T}$$

Onde:

TCA = taxa de crescimento absoluto,

P2 = altura, diâmetro e número de nós da coleta atual,

P1 = altura, diâmetro e número de nós da coleta anterior e

Δt = intervalo de tempo entre as coletas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro Wilk ($P > 0,05$), posteriormente à análise de variância ($P < 0,05$) e a comparação de médias realizada pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade de erro, por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise de variância, não houve efeito de interação entre os bioestimulantes e as cultivares do presente trabalho nos dois anos de avaliação. No ano de 2020, as variáveis altura, biomassa total de planta, comprimento do maior ramo, número de estacas, biomassa de folhas frescas e biomassa de folhas secas foram significativos para o fator bioestimulantes (Tabela 2).

Tabela 12. Médias de altura de planta (H), biomassa total de planta (BTP), comprimento do maior ramo (CMR), número de estacas (NE), biomassa fresca foliar (BFF) e biomassa seca foliar (BSF), em função dos bioestimulantes aplicados em 2020.

Bioestimulantes	H (cm)	BTP (kg)	CMR (m)	NE	BFF (kg)	BFS (kg)
Testemunha	200,83 ab*	1,65 b	1,77 b	194,91 b	0,62 b	0,28 bc
<i>Azospirillum brasilense</i>	196,67 b	1,59 b	1,80 b	201,25 ab	0,61 b	0,26 c
Substâncias húmicas	211,25 a	2,06 a	1,93 a	238,5 a	0,74 a	0,34 a
A + SH	211,25 ab	1,79 b	1,83 ab	225,50 ab	0,68 ab	0,31 ab
CV(%)	5,74	13,65	6,36	17,91	13,96	14,38

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação, A + SH = *Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas.

De acordo com os resultados obtidos na variável altura, as plantas submetidas ao tratamento com substâncias húmicas obtiveram as maiores médias, porém não diferiram estatisticamente da testemunha e dos bioestimulantes em conjunto. O tratamento com uso de substâncias húmicas também proporcionou maior biomassa total de plantas, resultados que, associado as demais variáveis como comprimento, estacas e biomassas de folhas, indica plantas mais vigorosas pelo uso desse tratamento. A bactéria promotora de crescimento vegetal *A. brasilense* conta com muitos estudos que comprovam efeito benéfico no crescimento de plantas (FUKAMI et al., 2018; RUZZI; AROCA, 2015), porém, no presente trabalho a sua aplicação não se destacou no crescimento das plantas.

Ramos com maior comprimento também estavam presentes em plantas que receberam substâncias húmicas mensalmente de forma isolada ou associada ao *A. brasilense*, sendo esse último, não diferente da testemunha e da bactéria isolada.

A média do número de estacas foi maior nas plantas que receberam algum tipo de bioestimulante, embora o uso de *A. brasilense* sozinho e associado a substância húmica não diferiram estatisticamente da testemunha. E as biomassas de folhas se apresentaram de forma parecida, com maiores médias no tratamento de substâncias húmicas e na combinação de bioestimulantes.

Os efeitos bioestimulantes das substâncias húmicas no crescimento das plantas têm sido amplamente estudados, encontrando-se aumento na altura, comprimento de raízes, diâmetro de

caule e massas frescas e secas (ROUPHAEL; COLLA, 2020). A promoção do crescimento da planta pelas substâncias húmicas, definida aqui como bioestimulação, está bem documentada na literatura (DU JARDIN, 2015; CANELLAS et al., 2015) e dentre os processos metabólicos que contribuem para a promoção do crescimento e desenvolvimento das plantas está a estimulação da atividade de enzimas-chave no metabolismo do C e do N pela substância húmica (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014; VEOBIDES-AMADOR et al., 2018).

A Tabela 3 apresenta os resultados estatísticos para diâmetro de colo, comprimento médio do maior ramo de entrenós, biomassa total de plantas, número de estacas, biomassa fresca foliar e biomassa de folhas secas das quatro cultivares presentes no estudo.

Tabela 13 . Médias de diâmetro de colo (D), comprimento de entrenós (EN), biomassa total de planta (BTP), número de estacas (NE), biomassa de folhas frescas (BFF) e biomassa de folhas secas (BFS) das quatro cultivares avaliadas no ano de 2020.

Cultivares de oliveira	D mm	EN cm	BTP kg	NE	BFF kg	BFS kg
Ascolano 315	24,38 b*	3,32 ab	1,24 c	145,00 b	0,48 c	0,22 b
Maria da Fé	30,09 a	3,14 b	1,90 b	272,25 a	0,73 b	0,34 a
Koroneiki	32,90 a	3,19 b	2,24 a	266,08 a	0,86 a	0,37 a
Picual	29,48 a	3,60 a	1,70 b	176,83 b	0,58 c	0,26 b
CV(%)	12,55	10,77	13,65	17,91	13,96	14,38

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

O diâmetro se apresentou como uma variável de significância intrínseca a cultivar, onde a Ascolano 315 obteve a menor média, as demais foram maiores e iguais entre si. A média de comprimento entrenós foi maior para a cultivar Picual, porém sem diferir da Ascolano 315. Essa diferença pode ser pela característica intrínseca a cultivar, mas também pelo processo de adaptação e crescimento no primeiro ano do experimento. No primeiro ano de avaliação, a biomassa total da planta foi maior para a cultivar Koroneiki e menor para Ascolano 315, o que condiz com os resultados de diâmetro, número de estacas e biomassas de folhas.

O rendimento de estacas foi superior para as cultivares Maria da Fé e Koroneiki e inferior para Ascolano 315 e Picual, da mesma forma para as variáveis de biomassa fresca e seca de folhas. Resultados maiores do que encontrados por Vieira Neto et al. (2011), onde a média de

estacas pela cultivar Ascolano 315 foi de 99 unidades e a média de um dos três anos de corte foi de 137 estacas no jardim clonal.

Apesar da cultivar Ascolano 315 ser considerada na literatura como uma cultivar de alto vigor e inclusive recomendada para pomares em sistema superintensivo (SUMRAH et al., 2021; VIEIRA NETO et al., 2011), no presente estudo ela não se destacou perante as demais. Podemos relacionar esse fato ao ambiente climático em que a cultivar se encontra, ou até mesmo à juvenilidade das plantas, visto que, as mesmas estavam com dois anos de idade considerando o tempo de viveiro e ainda não apresentavam o mais alto potencial de vigor.

A Tabela 4 apresenta os dados de altura, diâmetro, comprimento de entrenós, biomassa total de planta, comprimento do maior ramo e número de estacas das quatro cultivares de oliveira no final do segundo corte, no ano de 2021. Nesse segundo ciclo, a altura média da cultivar Picual apresentou o menor valor perante as demais e no diâmetro, a Koroneiki se destacou com maior diâmetro. O comprimento de entrenós teve significância, porém não variou entre as cultivares.

Tabela 14. Médias de altura de planta (H), diâmetro de colo (D), comprimento de entrenó (EN), biomassa total de planta (BTP), comprimento do maior ramo (CMR) e número de estacas (NE) das quatro cultivares avaliadas no ano de 2021.

Cultivares de oliveira	H cm	D mm	EN cm	BTP kg	CMR m	NE
Ascolano 315	181,17 a*	38,72 b	2,39 a	1,52 b	1,58 a	193,75 bc
Maria da Fé	194,64 a	39,86 b	1,94 a	2,36 a	1,74 a	407,92 a
Koroneiki	184,45 a	46,08 a	1,92 a	2,17 a	1,62 a	245,17 b
Picual	139,85 b	37,85 b	2,41 a	1,23 b	1,16 b	142,42 c
CV(%)	13,37	12,06	20,64	21,98	13,20	31,63

*Letras diferem estatisticamente entre si na coluna, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. CV= Coeficiente de Variação.

A cultivar Picual é considerada de alto vigor e crescimento, inclusive alguns trabalhos buscam reduzir o crescimento da mesma (TORRES-SHANCHÉZ et al., 2021) não apresentou comportamento condizente perante as demais cultivares consideradas vigorosas. Essa cultivar pode ser uma que não permite cortes sucessivos da planta inteira em jardim clonal.

Para a biomassa total de planta, não houve alteração dos resultados do primeiro ciclo de corte no ano de 2020, as mesmas cultivares Maria da Fé e Koroneiki mantiveram as maiores biomassas totais. Quanto ao comprimento do maior ramo, seguindo os resultados de altura, a cultivar Picual obteve a menor média. O número de estacas apresentou uma diferença bem diversa ao ano anterior, com média de quantidade de estaca muito superior para a Maria da Fé e a menor média foi da Picual, porém, sem diferir da Ascolano 315.

Por meio das coletas mensais dos dados de altura, foram gerados os gráficos de taxa de crescimento absoluto (TCA) para as quatro cultivares nos dois ciclos de avaliação, ano 2020 (Figura 2) e 2021 (Figura 3).

Para as quatro cultivares, houve um comportamento parecido no incremento de altura no período de 60 a 90 dias, sendo o período de menor incremento de altura nas plantas. Fato que pode ser explicado pela Figura 1, onde houve um período de estiagem nos meses de fevereiro e março, e como as plantas ficaram em condições de campo sem irrigação não houve crescimento. Da mesma forma, a última avaliação do primeiro ciclo as cultivares apresentam um pico de incremento que condiz com o resultado de um período de chuvas no mês de agosto, mas para cada cultivar o incremento foi destacado em diferentes tratamentos com os bioestimulantes.

A cultivar Ascolano 315, teve maior incremento na última avaliação pela testemunha. A altura da Maria da Fé teve um incremento de aproximadamente 1 cm dia^{-1} com os tratamentos de testemunha e com a combinação dos bioestimulantes. Com a Koroneiki, o último pico de crescimento avaliado foi dentro do tratamento com *A. brasilense* e substâncias húmicas combinados. E, a Picual teve incremento maior nos usos isolados dos bioestimulantes. A taxa de crescimento absoluto (TCA) é um importante índice fisiológico usado para se ter ideia da velocidade média de crescimento ao longo do período de observação (BENINCASA, 2003).

Quanto a taxa de crescimento absoluto do segundo ciclo, as cultivares apresentaram comportamentos distintos nos períodos de avaliação e tratamentos. Para Ascolano 315, o maior pico de incremento em altura ocorreu no período de 210 a 240 dias com a testemunha e o menor crescimento ocorreu no período de avaliação de 240 a 270 dias com a inoculação de *A. brasilense*. Na cultivar Maria da Fé, o maior incremento em altura ocorreu no período de 60 a 90 dias, com a aplicação de substâncias húmicas, atingindo incremento acima de $1,0 \text{ cm dia}^{-1}$ e o menor valor no último período de avaliação com o uso do inoculante *A. brasilense* não havendo crescimento atingindo valores próximos ao zero.

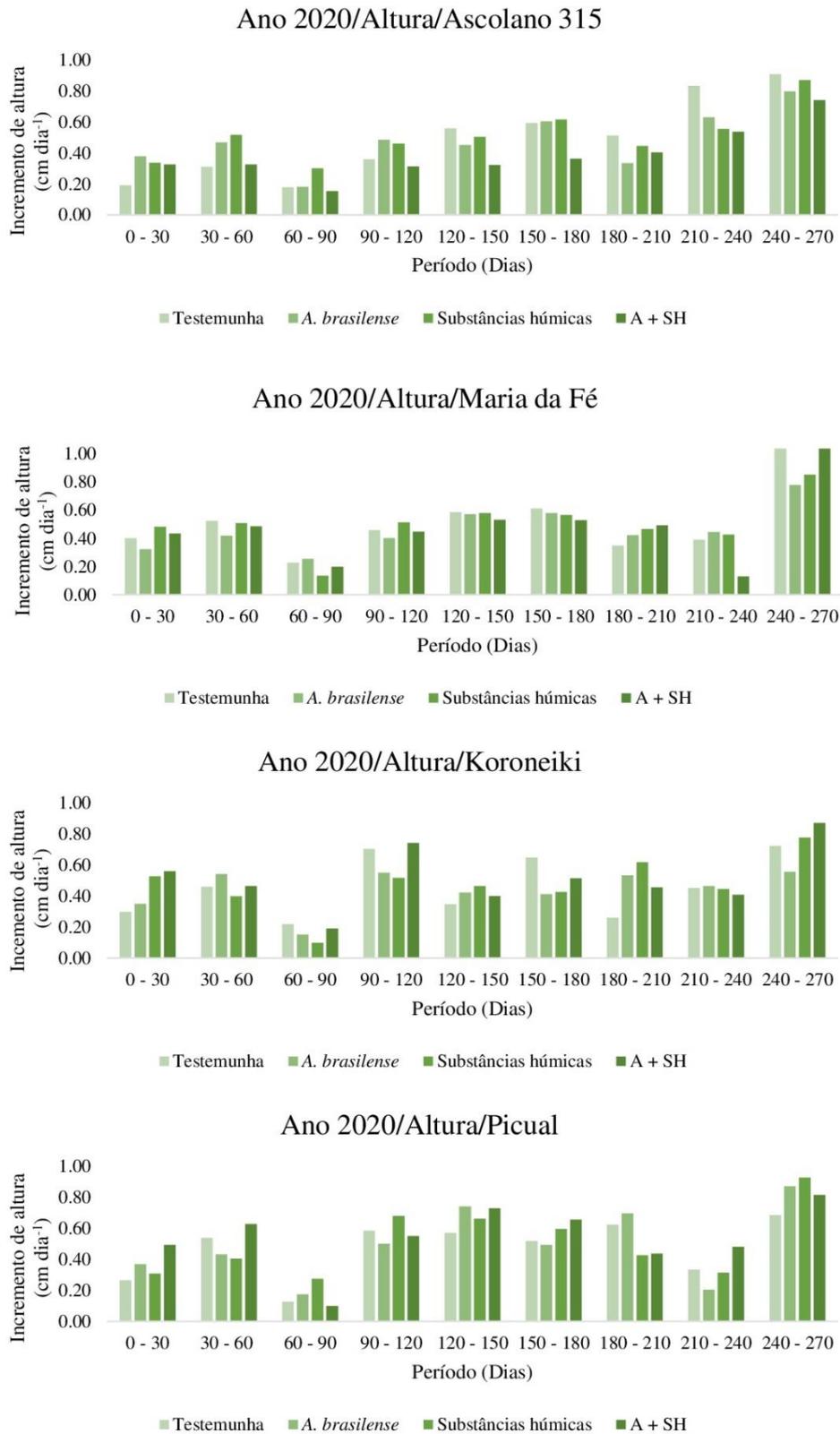


Figura 2. Taxa de crescimento absoluto (TCA) para a altura das plantas das cultivares de oliveira, submetidas aos bioestimulantes no ano de 2020. A + SH = *Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas.

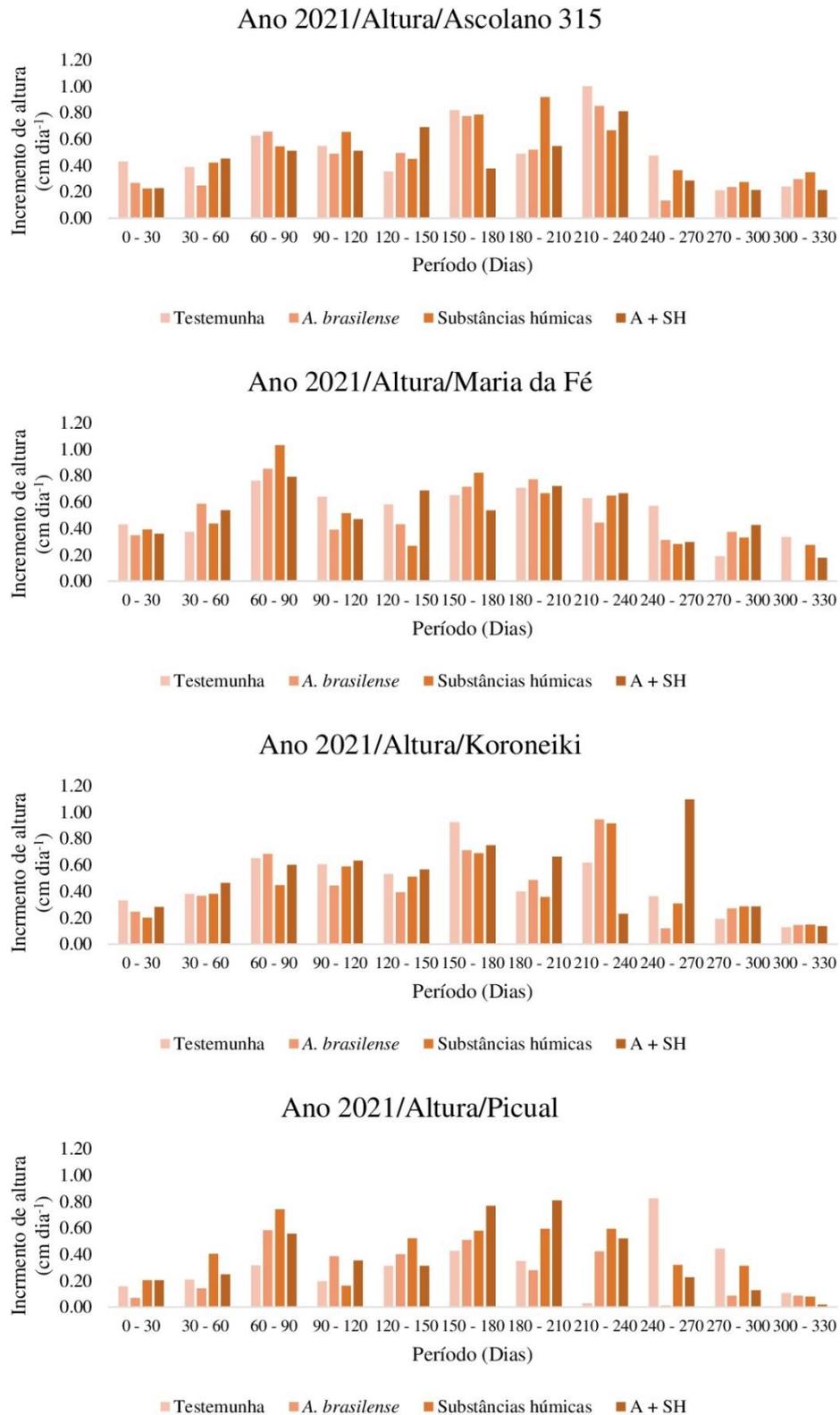


Figura 3. Taxa de crescimento absoluto (TCA) para a altura das plantas das cultivares de oliveira, submetidas aos bioestimulantes no ano de 2021. A + SH = *Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas.

No período de avaliação de 240 - 270, com o uso dos bioestimulantes combinados, a Koroneiki obteve maior incremento diário na altura e o menor incremento foi no último período de avaliação onde quase todos os tratamentos ficaram próximos de 0,10 cm dia⁻¹.

Em geral, os jardins clonais são eficientes para obtenção de material propagativo e o presente estudo obteve uma grande quantidade de estacas nos dois anos do ciclo, somando 30.654 no primeiro e 34.633 no segundo, sendo um jardim com 144 plantas. Os bioestimulantes se apresentam eficientes no crescimento das plantas e no rendimento de estacas, mas, ainda é preciso desenvolver mais estudos envolvendo diferentes doses, formas de aplicação e tipos de bioestimulantes para obter resultados específicos.

CONCLUSÕES

As substâncias húmicas favoreceram os atributos agronômicos. A cultivar Maria da Fé apresentou maior rendimento de estacas. As cultivares Maria da Fé e Koroneiki foram as mais vigorosas no estudo.

REFERÊNCIAS

ALMADI, L. et al. A biostimulant based on protein hydrolysates promotes the growth of young olive trees. **Agriculture**, 10: 618, 2020.

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 22: 711-728, 2013.

BALDONI, A. B.; TONINI, H. Pré-melhoramento da castanheira-do-brasil no Mato Grosso: propagação vegetativa e jardim clonal. In: FARIAS NETO, A. L. et al. **Embrapa Agrossolvipastoril: primeiras contribuições para o desenvolvimento de uma agropecuária sustentável**. Brasília, DF: Embrapa, 2019, 605 p.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, 61: 856-881, 2014.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal, SP, FUNEP, 2003, 41 p.

CABALLERO, J. M. **Multiplicación del olivo por etaquillado semileñoso bajo nebulización**. [S.l.]: INIA, 1981. (Comunicaciones INIA, Serie Producción Vegetal, 31:39).

CAMARGO, S. S. et al. Jardim clonal, técnica eficiente para a propagação de porta-enxerto de pereira. **Revista Científica Rural**, 21: 329 – 354, 2019.

CANELLAS, L. P. et al. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196, 15-27, 2015.

CASARIN, J. V. et al. Rooting of olive minicuttings at different seasons grown in clonal minigarden. **Comunicata Scientiae**, 9: 41-49, 2018.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility Soils**, 56: 461-479, 2020

CONCEIÇÃO, P. M. et al. Qualidade de sementes de porta-enxertos de citros do Jardim Clonal do centro APTA Citros Sylvio Moreira/IAC. **Citrus Research & Technology**, 36: 9-14, 2015.

COSTA, S. M. L.; MELLONI, R. Relação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de oliveira (*Olea europaea*). **Ciência Florestal**, 29: 169-180, 2019.

COSTA, V. B.; JORGE, R. O. Custos de implantação de olival na Metade Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Agronomia Brasileira**, 2: 1-4, 2018.

CRIZEL, R. L. et al. Characterization of extra virgin olive oil from Southern Brazil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 122: 1-12, 2020.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, 196: 3-14, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, 37: 529-535, 2019.

FRAGOSO, R. O. et al. Substratos renováveis de mudas de *Ficus enormis* proveniente de jardim clonal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, 36: 537-541, 2016.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, 8: 73, 2018.

HAMMAMI, S. B. M. et al. Early growth habit and vigor parameters in olive seedlings. **Scientia Horticulturae**, 129: 761-768, 2011.

MALHEIRO, R. et al. Electrophysiological response of *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) adults to olive leaves essential oils from different cultivars and olive tree volatiles. **Industrial Crops and Products**, 77: 81-88, 2015.

NITSCHKE, P. R. et al. **Atlas Climático do Estado do Paraná**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2019, 210 p.

OLIVEIRA, A. F. et al. Espaçamento entre plantas no desempenho de jardim clonal de cultivares de oliveira. **Scientia Agraria**, 11: 317-322, 2010.

PEREIRA, R. V. et al. The effects of biostimulants on induced plant defense. **Frontiers Agronomy**, 3: 630596, 2021.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. **Frontiers Plant Science**, 11: 40, 2020.

RUZZI, M.; AROCA, R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196: 124-134, 2015.

SHAHIN, S.; BILGIN, M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. **Science of Food and Agriculture**, 98: 1271-1279, 2018.

SUMRAH, M. A. et al. Evaluation of some promising varieties of olive (*Olea europaea* L.) for growth and yield under Pothwar Regions of Punjab, Pakistan, **Pakistan Journal of Agricultural Research**, 34: 446-453, 2021.

TORRES-SÁNCHEZ, J. et al. Quantification of dwarfing effect of different rootstocks in ‘Picual’ olive cultivar using UAV-photogrammetry. **Precision Agriculture**, 21: 1-12, 2021.

VEOBIDES-AMADOR, H.; GURIDI-IZQUIERDO, F.; VAZQUEZ-PADRON, V. Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. **Cultrop**, 39: 102-109, 2018.

VIEIRA NETO, J. et al. Desempenho de jardins clonais de oliveira (*Olea europaea*) em cortes sucessivos visando a sua propagação por estaquia, **Cerne**, 17: 117-122, 2011.

4 ARTIGO 3

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EXTRAÍDOS DE FOLHAS DE CULTIVARES DE OLIVEIRA

(Artigo elaborado segundo as normas da Revista Caatinga)

GIOVANA RITTER¹, FABÍOLA VILLA¹, ZILDA CRISTIANI GAZIM²,
DANIEL FERNANDES DA SILVA³, TATIANE EBERLING¹

RESUMO: A composição química de óleo essencial das folhas de oliveira muda conforme o manejo aplicado nas plantas. Objetivou-se com o presente trabalho realizar o rendimento e a caracterização química do óleo essencial de folhas provenientes de quatro cultivares de oliveira em interação com os bioestimulantes. O campo experimental foi instalado em setembro/2019 com mudas de 1 ano de idade das cultivares Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki e Picual. Mensalmente, receberam os tratamentos: T1 - testemunha, T2 - *A. brasilense*, T3 - substância húmica e T4 - ácidos húmicos + *A. brasilense*. Ao completar um ano, as plantas foram cortadas e as folhas foram separadas da planta e secadas em ambiente com luz indireta por 15 dias. Amostras foram enviadas ao laboratório Universidade Paranaense (UNIPAR), *Campus* Umuarama, PR para avaliação do rendimento, composição e predominância de grupos químicos. O delineamento experimental foi blocos casualizados em fatorial 4 x 4, de 3 repetições com 3 plantas, totalizando 144. As folhas foram fragmentadas em 3 L de água destilada, e os óleos essenciais extraídos pelo processo de hidrodestilação por 3 horas. O rendimento do óleo essencial foi determinado através da razão da massa das folhas (g) pela massa do óleo essencial (g). A Análise da composição química foi realizada por um cromatógrafo gasoso. Para cada amostra, os compostos químicos foram identificados e suas respectivas classes químicas, bem como a quantidade (% de área). O Rendimento de óleo essencial foi superior para a cultivar Picual com o uso dos bioestimulantes em conjunto. O composto mais abundante encontrado no OE das folhas foi o trans- β -damascenone.

Palavras-chave: *Olea europaea* L. Bioestimulantes. Cultivares. Cromatografia Gasosa.

YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS EXTRACTED FROM LEAVES OF OLIVE CULTIVARS

ABSTRACT: The chemical composition of essential oil from olive leaves changes according to the management applied to the plants. The objective of the present work was to perform the yield and chemical characterization of essential oil from leaves from four olive cultivars in interaction with biostimulants. The experimental field was installed in September/2019 with 1-year-old seedlings of the cultivars Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki and Picual. Monthly, they received the treatments: T1 - control, T2 - *A. brasilense*, T3 - humic substance and T4 - humic acids + *A. brasilense*. When completing one year, the plants were cut and the leaves were separated from the plant and dried in an environment with indirect light for 15 days. Samples were sent to the laboratory Universidade Paranaense (UNIPAR), *Campus* Umuarama, PR for evaluation of yield, composition and predominance of chemical groups. The experimental design was randomized blocks in a 4 x 4 factorial, with 3 replications with 3 plants, totaling 144. The leaves were fragmented in 3 L of distilled water, and the essential oils were extracted by the hydrodistillation process for 3 h. The essential oil yield was determined through the ratio of leaf mass (g) to essential oil mass (g). The chemical composition analysis was performed by a gas chromatograph. For each sample, the chemical compounds were identified and their respective chemical classes, as well as the amount (% area). The essential oil yield was higher for the Picual cultivar with the use of biostimulants together. The most abundant compound found in the EO of the leaves was trans- β -damascenone.

Key-words: *olea europaea* L. Biostimulants. Cultivars. Gas Chromatography.

INTRODUÇÃO

Os jardins clonais são pomares compostos por um ou vários grupos de plantas, que tem o propósito de produzir propágulos para a formação de mudas de qualidade sem intenção de produção de frutos (CASARIN et al., 2018). A implantação de jardins clonais para fornecer material propagativo se torna uma vantagem pois permite coleta de ramos com caráter juvenil e alto vigor o ano todo, características essas, que são favoráveis ao enraizamento (CABALLERO, 1981). Em muitas espécies frutíferas (CAMARGO et al., 2019; CONCEIÇÃO

et al., 2015) e florestais (FRAGOSO et al., 2016; BALDONI; TONINI, 2019), o uso de material propagativo advindo de jardim clonal já é comum.

Os óleos essenciais são produtos resultantes do metabolismo secundário dos vegetais e embora esses compostos sintetizados não aparentam ter função específica no crescimento e desenvolvimento das células, garantem vantagens para a sobrevivência e perpetuação das espécies no ecossistema (SAMUNI-BLANK et al., 2012). Quando ocorre o corte das oliveiras para retirada de material propagativo não se aproveita toda a planta, gerando resíduos, como folhas. Com benefícios comprovados à saúde (SAHIN E BILGIN, 2018; GUO et al., 2018), as folhas da oliveira são um material abundante e de baixo custo que podem agregar valor para o processo de extração de óleo essencial, sendo uma grande fonte de biofenóis geralmente usados pela indústria alimentar e farmacêutica (DJENANE et al., 2019), com potencial uso no controle de pragas (MALHEIRO et al., 2015) e atividade antimicrobiana (MUKESI et al., 2019).

A qualidade e a composição dos compostos metabólicos óleo essencial é resultado da formação e transformação em decorrência de três fatores: genéticos, ambientais e de diferentes manejos e, outro aspecto que pode influenciar o padrão do óleo essencial são os quimiotipos, isto é, de grupos quimicamente distintos de uma espécie, que se caracterizam por serem semelhantes, mas diferem nos seus constituintes químicos (FIGUEIREDO; BARROSO; PEDRO, 2014) e pela capacidade dos bioestimulantes atuarem no metabolismo das plantas, pode ocorrer essa diferenciação.

As substâncias húmicas são compostos presentes na matéria orgânica e constituídas pelas frações ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e huminas (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014). Em inúmeros estudos, as substâncias húmicas se apresentaram como responsáveis por alteração no metabolismo hormonal da planta (CANELLAS et al., 2015; ROUPHAEL E COLLA, 2020). Apesar do *A. brasilense* ser mais conhecido pelo benefício de fixação de nitrogênio, a inoculação dessa bactéria pode promover crescimento das plantas pela síntese de auxinas, citocininas, giberelinas e outros fitohormônios (FUKAMI et al., 2018; CASSÁN et al., 2020).

Até o presente momento, foram conduzidos poucos estudos com base na caracterização de óleo essencial de oliveira, principalmente no Brasil. Baseado no aspecto químicos e biológico da oliveira, objetivou-se com o presente trabalho determinar o rendimento e a caracterização química do óleo essencial de folhas provenientes de quatro cultivares de oliveira em interação com os bioestimulantes.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento em campo foi conduzido na Fazenda Experimental “Professor Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa”, pertencente ao Núcleo de Estações Experimentais da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon (PR) e localizada sob coordenadas geográficas 24° 33’40” latitude sul, 54° 04’12” longitude oeste e 420 m de altitude.

O clima segundo classificação de Köppen é tipo *Cfa* subtropical úmido mesotérmico com verões quentes, geadas pouco frequentes e concentração de chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida. Caracterizando-se como região subtropical (ALVAREZ et al., 2013). O solo predominante é LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico, com textura argilosa predominante. As temperaturas médias da região são inferiores a 18°C (mesotérmico), as médias máximas acima de 22°C, e a precipitação média de 1840 mm (NISTCHE et al., 2019). Os dados de temperatura e umidade média do ar e precipitação acumulada estão presentes na Figura 1.

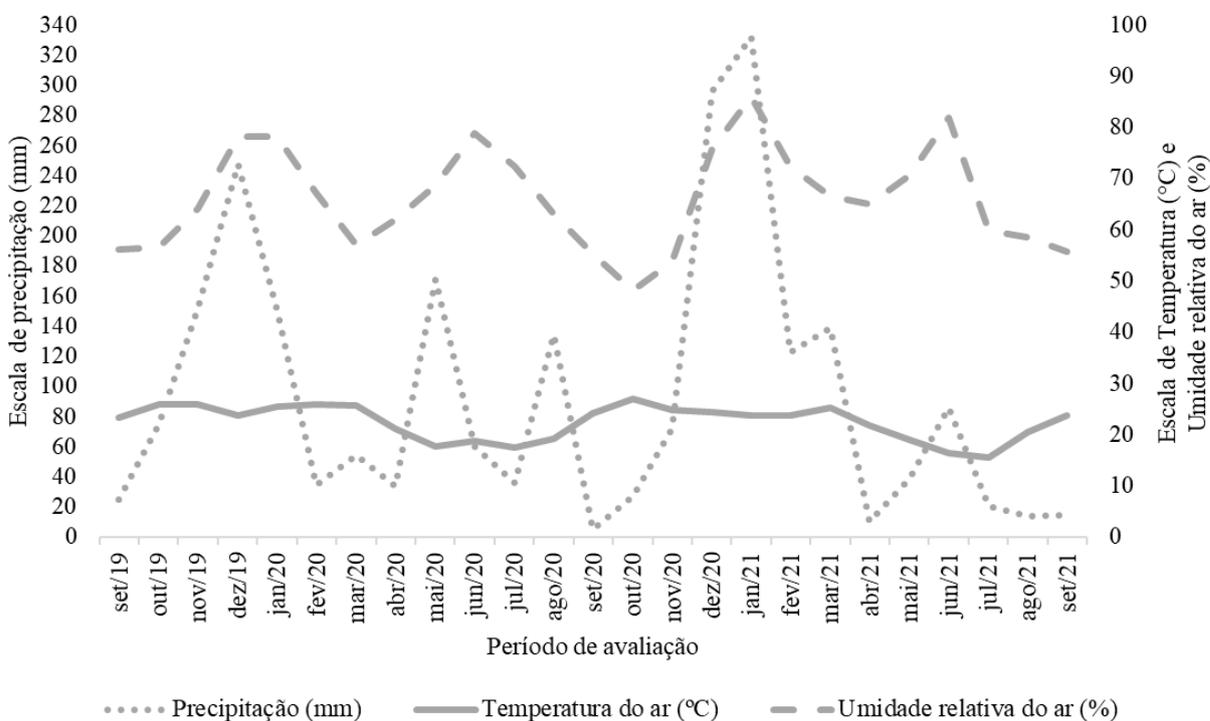


Figura 1. Médias mensais de temperatura e umidade do ar e somatório mensal de precipitação durante os meses de condução do jardim clonal. Dados coletados no Núcleo de Estações Experimentais (NEE) da Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR.

O campo experimental foi instalado em setembro de 2019, em área previamente corrigida de acordo com análise de fertilidade para pH em torno de 6,0 e correção dos demais nutrientes conforme análise (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados analíticos indicadores de fertilidade presentes no solo e análise física.

	P	MO	phCaCl ₂	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V	Al	
A	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	0,01 mol L ⁻¹	-----cmol _c dm ⁻³ -----								%	
A1	23,81	24,85	5,58	4,52	0,15	0,49	6,87	3,61	10,98	15,49	70,85	0,97	
A	Areia			Silte					Argila				
A2	23,79			-----%-----					13,51				62,70
Classificação: Tipo 3													

A = amostra, A1 = resultados de análise de macronutrientes do solo, A 2= resultados de análise física.

As mudas que foram utilizadas tinham 1 ano de idade e foram provenientes de propagação por estaquia das cultivares Ascolano 315, Maria da Fé, Koroneiki e Picual. O plantio foi realizado em covas com 40 cm de profundidade, sendo adubados 60 dias antes com 15 L de mistura de esterco de curral + esterco de galinha na proporção de 1:1 (devidamente misturados com a terra de plantio) e espaçamento de 50 cm entre plantas e 1 metro entre linhas.

Após o plantio e estabelecimento das mudas, foi realizada a poda apical onde as plantas foram cortadas e padronizadas em 50 cm de altura. No mês de dezembro, quando as plantas apresentaram sinais de novas brotações receberam os tratamentos: T1 - testemunha, T2 - aplicação de 0,5 mL de *A. brasilense* por planta utilizando 18 mL de inoculante, T3 - aplicação de 0,4 mL de substância húmica por planta utilizando 14,4 mL do produto comercial e T4 - aplicação de ácidos húmicos + *A. brasilense* nas mesmas concentrações dos tratamentos anteriores.

O produto comercial utilizado de substâncias húmicas foi fornecido pela empresa SoloHumics[®], com 25% de substâncias húmicas (253,0 g L⁻¹) na composição e o inoculante foi fornecido pela empresa Nitro 1000[®] (contém estirpes AbV5, AbV6 e 200 milhões de células mL⁻¹). Os tratamentos foram diluídos em água formando volume final de calda de 3600 mL e cada planta recebeu 100 mL da solução. Os tratamentos foram aplicados de forma mensal na rizosfera de cada planta por dois anos.

Ao final do primeiro ano, foi realizado o primeiro corte das plantas a 30 cm acima do solo, as folhas foram separadas da planta e permaneceram em ambiente com luz indireta por 15 dias para secagem e posterior peso de biomassa seca (g). Uma amostra de 250 g de folhas

secas de cada repetição foi enviada ao Laboratório de Análise de Óleos Essenciais, pertencente a Universidade Paranaense (UNIPAR), *Campus* Umuarama, PR para avaliação do rendimento, composição e predominância de grupos químicos.

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 4, onde o primeiro fator se refere as cultivares e o segundo aos tratamentos. Os tratamentos foram compostos de 3 repetições, com 3 plantas cada, totalizando 144.

As amostras levadas ao laboratório, foram fragmentadas em 3 L de água destilada, e os óleos essenciais (OE) extraídos pelo processo de hidrodestilação por 3 h, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. Os óleos essenciais foram removidos com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, secos com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), mantido sob refrigeração a 4°C até completa evaporação do solvente. A extração foi realizada de cada repetição do experimento, considerando uma triplicata, posteriormente os conteúdos foram agrupados e a composição de óleo analisada de acordo com a interação dos fatores.

O rendimento do óleo essencial foi determinado através da razão da biomassa das folhas secas (g) pela biomassa do óleo essencial obtido (g), expresso em porcentagem (%) e extrapolado pelo valor total de biomassa seca de folhas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Análise da composição química foi realizada por um cromatógrafo gasoso (Agilent 7890 B) acoplado ao espectrômetro de massa (Agilent 5977 A) utilizando as seguintes condições: temperatura do injetor de 250°C, volume de injeção 2 µL no modo split e razão de fluxo 1:20, temperatura inicial da coluna em 50°C por 1 min, após aquecimento de 5°C min⁻¹ até 180°C, permanecendo por 1 min, seguido de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 260°C, permanecendo por 1 min e finalizando com aquecimento de 40°C min⁻¹, até 260°C, por 1 min. O fluxo de gás de arraste (Hélio) foi fixado em 1 mL min⁻¹. As temperaturas de linha de transferência, e fonte de ionização e quadrupolo foram de 280, 230 e 150°C, respectivamente.

Os espectros de massas foram obtidos em um intervalo de 40-550 (m/z) fornecida através de modo varredura com o tempo permanência de solvente de 3 min. Os espectros de massas foram comparados com os espectros obtidos a partir da biblioteca de espectros Wiley 275L e de acordo com a literatura (ADAMS, 2017). Para cada amostra do OE das folhas, os compostos químicos majoritários foram identificados e suas respectivas classes químicas, bem como a quantidade (% de área) discriminados.

Os dados de rendimento de óleo essencial foram submetidos à análise de normalidade de Shapiro Wilk ($P > 0,05$), transformados para raiz quadrada de 0,5, posteriormente à análise de variância ($P < 0,05$) e a comparação de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro por meio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da análise de variância verificou-se interação significativa para a variável rendimento de óleo essencial (%) entre as cultivares de oliveira e os bioestimulantes (Tabela 2). Apesar da anova apresentar significância estatística para a interação entre as cultivares e os bioestimulantes, o rendimento de óleo essencial foi diferenciado apenas na cultivar Picual quando recebeu tratamento com a combinação dos bioestimulantes. O rendimento de OE pelas folhas da oliveira é baixo, necessitando de um grande volume de material vegetal para obter maior quantidade de óleo. Resultados com baixo rendimento de OE também foram encontrados por Ehsen et al. (2010) e Popovic et al. (2021).

Tabela 2. Rendimento de óleo essencial (OE) em interação entre cultivares e bioestimulantes.

Bioestimulantes	Cultivares de oliveira			
	Ascolano 315	Maria da Fé	Koroneiki	Picual
Testemunha	0,80 aA*	0,83 aA	0,87 aA	0,72 bA
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,72 aA	0,71 aA	0,72 aA	0,74 bA
Substâncias húmicas	0,78 aA	0,72 aA	0,74 aA	0,74 bA
A + SH	0,73 aB	0,74 aB	0,75 aB	1,12 aA
CV(%)	16,10 ^(a)			

*Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si na coluna e maiúsculas na linha, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. ^(a)Dados transformados para raiz quadrada de 0,5. A + SH = *Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas. CV = coeficiente de variação.

Os resultados da identificação química das amostras encontram-se discriminados nas tabelas 3, 4, 5 e 6. Cada tabela representa a composição química do OE de uma cultivar de oliveira e, dentro da tabela, estão a quantidade de picos encontrados na cromatografia, os tempos de retenção (TR), os índices de retenção (RI), as áreas relativas correspondente à

presença ou não dos compostos químicos encontrados nos bioestimulantes e também na testemunha. Cada letra representa um tratamento, sendo: A - testemunha, B - *Azospirillum brasilense*, C - substâncias húmicas, D - A + SH (*A. brasilense* + substâncias húmicas).

A Tabela 3 apresenta a identificação química e a área relativa dos compostos do OE encontrados as folhas da cultivar Ascolano 315 nos diferentes tratamentos com bioestimulantes mais a testemunha. Para essa interação entre a cultivar Ascolano 315 e os bioestimulantes foram encontrados 61 picos de área significativa durante as corridas cromatográficas.

Tabela 3. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Ascolano 315.

(Continua)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
1	7070	964	β -pineno	-	0,98	-	-
2	7534	975	n.i.	-	1,01	-	-
3	8326	981	mirreno	-	0,21	-	-
4	9091	1018	α -terpineno	1,22	0,22	-	-
5	9098	1031	1,8-cineol (eucaliptol)	1,19	3,96	3,68	4,16
6	9421	1063	α -terpinoleno ciclohexeno	0,83	-	1,08	0,89
7	9631	1078	n-octanol	1,77	-	2,04	-
8	9640	1087	thujona	0,67	1,19	1,29	1,14
9	9691	1102	nonanal	5,59	2,56	5,00	2,18
10	10441	-	n.i.	-	2,07	-	-
11	10904	1104	linalol	-	1,03	1,04	1,06
12	11265	1143	cânfora	2,11	1,85	2,20	1,66
13	11613	1224	β -ciclocitral	0,46	-	-	-
14	11614	1228	citronelol	0,58	2,64	0,2	1,64
15	11763	-	n.i.	-	2,77	-	-
16	11853	-	n.i.	-	0,64	-	-
17	11902	1258	ioneno	0,54	8,20	1,59	-
18	12288	1277	geraniol	-	-	2,17	1,36
19	13039	1298	theaspirane a	-	2,07	1,60	1,79
20	13294	1315	theaspirane b	1,16	-	-	-
21	13296	-	n.i.	-	-	-	-
22	13401	-	n.i.	-	7,63	-	-
23	13588	-	n.i.	-	-	-	-
24	13880	-	n.i.	0,74	0,74	-	-
25	13877	-	n.i.	-	-	0,84	0,47
26	13969	-	n.i.	-	0,64	-	-
27	14268	-	n.i.	-	-	-	-
28	14315	1384	trans - β -damascenona	17,65	17,40	18,15	6,86
29	14613	-	n.i.	5,59	-	4,74	4,5
30	14884	1403	junipeno	-	-	0,95	-
31	15197	1409	α -gurjuneno	-	0,74	0,57	0,29
32	15251	1418	β -cariofileno	-	1,37	-	-
33	15767	1437	α -guaieno	-	0,82	-	-
34	16017	1449	dihidro- β -ionol	1,16	1,87	-	1,63
35	16145	1452	geranil acetona	3,03	2,86	3,35	2,06
36	16774	1477	β -ionona	13,41	10,35	13,69	9,42
37	17156	1479	valenceno	-	1,46	1,24	-
38	17191	1505	α -farneseno	-	0,85	-	-

Tabela 3. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Ascolano 315.

(Conclusão)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
39	17501	1527	nerolidol	11,27	2,64	6,25	10,01
40	17930	1578	óxido de cariofileno	-	-	-	1,41
41	18041	-	n.i.	-	-	0,85	-
42	19426	1680	Adipato diisobutila	2,20	5,07	-	-
43	19645	396	n.i.	-	-	0,64	-
44	20188	1696	1-heptadeceno	-	0,47	-	-
45	20498	1750	drimenol	-	0,63	-	-
46	20499	1845	fitona	2,72	2,26	3,58	2,86
47	20590	1871	isobutil ftalato	-	-	-	1,82
48	21049	1927	farnesil acetona	1,72	-	-	1,15
49	21085	1964	ácido n-hexadecanóico/ ácido palmítico	0,48	2,85	4,28	13,3
50	21695	2179	vanicol/ácido octadecanóico	-	-	-	4,63
51	21872	-	n.i.	5,31	4	5,56	7,78
52	22964	-	n.i.	-	0,44	-	-
53	23082	2122	fitol	15,12	9,06	9,35	10,66
54	23555	2134	ácido linoleico	-	0,56	0,41	0,97
55	23904	356	docosano	-	0,47	-	-
56	24866	369	tricosano	0,59	0,5	-	0,61
57	25782	-	n.i.	-	0,26	-	-
58	26665	-	n.i.	-	0,42	0,6	0,76
59	28336	429	heptacosano	1,13	0,78	-	1,21
60	29483	2847	esqualeno	1,95	1,44	2,2	1,23
61	30103	454	nonacosano	-	-	2,35	-
Total identificado				88,55	89,79	88,26	86,00
Total não-identificado				11,64	20,18	13,23	13,51

^aCompostos listados de acordo com a ordem de eluição na coluna HP-5ms; ^bidentificação com base na comparação com o espectro de massa da biblioteca Wiles 275L, área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma. Traços. (-) = composto ausente na amostra. TR: tempo de retenção RI: índice de Retenção identificados na literatura. n.i.: não-identificado. Amostra A - testemunha, B - *Azospirillum brasilense*, C - substâncias húmicas, D - A + SH (*A. brasilense* + substâncias húmicas).

De todos os compostos encontrados, 43 foram identificados pela compatibilidade com o banco de dados e posteriormente, comparados com a literatura para a identificação do índice de retenção. O índice de retenção é mais uma ferramenta importante, com o objetivo de minimizar o erro na identificação dos compostos na cromatografia (ADAMS, 2017).

Nem todos os compostos foram comuns aos quatro tratamentos, mas o que se destacaram com maior porcentagem de área relativa, ou seja, maior quantidade em presença no OE foram: trans- β -damascenona nos tratamentos A (17,65%), B (17,40%) e C (18,15%), e ácido palmítico no tratamento C (13,3%). O composto trans- β -damascenona é encontrado em uma grande

variedade de óleos essenciais e é o componente que confere o aroma de rosas, embora em baixa concentração, é uma fragrância química essencial utilizada na perfumaria (KUMAR, 2017).

A Tabela 4 apresenta todos os compostos encontrados no OE da cultivar Maria da Fé em todos os tratamentos com bioestimulantes. Foram encontrados 76 compostos na cromatografia, e 14 compostos não identificados e 62 identificados com seus respectivos índices de retenção.

Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Maria da Fé.

(Continua)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
1	7534	-	n.i	-	0,17	-	-
2	8326	965	ciclo-octano	-	-	-	1,41
3	9087	946	canfeno	-	0,31	-	-
4	9094	981	mirceeno	-	0,18	-	-
5	9422	1031	1,8-cineol	1,41	1,51	1,02	2,16
6	9628	1063	α -terpineno	-	0,47	0,43	0,56
7	9694	1068	1-octanol	-	1,13	1,22	-
8	10164	1102	α -thujona	-	0,55	0,5	0,61
9	10449	1102	nonanal	-	1,82	3,18	3,4
10	10902	1104	linalool I	1,49	1,1	1,64	1,32
11	11263	1143	cânfora	1,2	1,23	0,83	1,89
12	11409	1178	safranal	-	0,22	-	-
13	11478	1200	decanal	-	-	-	0,34
14	11676	1224	β -ciclocitral	-	-	0,65	0,77
15	11759	1228	citronelol	-	0,75	0,1	1,37
16	11849	1239	naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,6,8-tr	0,63	0,63	0,75	0,68
17	11896	1258	ionone	0,53	3,43	0,92	1,71
18	12777	1263	2(E)-decenal	-	-	-	1,72
19	12391	1266	trimetil - tetrahidronaftaleno	-	-	-	0,55
20	12729	1277	geraniol	-	3,38	2,58	4,04
21	12877	1279	vitispirane	1,73	3,07	2,36	1,96
22	13040	1284	dihidroedulan II	-	-	-	0,85
23	13122	1298	theaspirane a	10,75	-	11,15	-
24	13307	1315	theaspirane b	-	9,06	-	-
25	13419	1355	naftaleno, 1,2-dihidro-1,1,6-trimethyl	-	2,43	-	2,42
26	13874	1384	trans- β -damascenona	32,24	17,43	24,58	34,13
27	14323	1409	α -gurjuneno	1,36	0,89	1,2	-
28	14882	1418	β - cariofileno	3,48	3,38	4,16	4,42
29	15097	1449	dihidro-beta-ionona	5,19	0,25	3,76	-
30	15248	1452	geranil acetona	3,78	1,8	3,23	3,67
31	15369	1452	α - humuleno	1,35	0,86	1,21	1,34
32	15476	-	ni	-	-	0,83	-
33	15652	1455	allo aromadendrene	-	0,52	-	-
34	15653	1477	β - ionona	8,4	3,85	7,74	7,41
35	15768	1489	β -selineno	1,81	1,3	-	-
36	15834	1492	γ -selineno	-	-	1,3	1,41
37	15950	1498	eremofileno	1,97	1,34	1,52	1,47

Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Maria da Fé.

(Conclusão)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
38	16146	1498	α -selineno	-	0,69	-	0,51
39	16258	1504	β -guaiano	-	0,27	-	-
40	16591	1522	ni	-	-	0,51	-
41	16776	1527	nerolidol	4,45	1,55	4,85	-
42	17078	1546	α -calacorene	-	0,36	-	-
43	17156	1571	espatulenol	-	0,39	-	-
44	17877	1578	óxido de cariofileno	4,15	1,84	4,1	-
45	17935	1593	viridiflorol	8,06	5,25	6,47	-
46	18071	-	ni	-	5,09	-	-
47	18073	1639	5-epi-neointermedeol /selin-4 α -ol	-	-	-	7,30
48	18209	1661	valerenol	-	-	-	0,52
49	18256	1699	2-pentadecanona, 6,10,14-trimetil-	-	1,52	1,81	-
50	18724	-	n.i.	-	0,19	-	-
51	19104	-	n.i.	-	0,25	-	-
52	19179	1745	γ -costol	-	0,72	-	-
53	19425	1750	driminol	0,35	0,62	0,69	0,64
54	19643	396	octadecano	-	0,57	-	0,38
55	20189	1778	β -costol	-	0,77	-	-
56	20192	1790	1-octadeceno	-	0,22	-	-
57	20398	1845	farnesil acetona	2,02	1,28	-	1,39
58	20498	1846	n.i.	-	0,17	-	-
59	20586	1868	n.i.	1,15	1,36	1,05	1,46
60	20773	1903	n.i.	-	0,36	-	-
61	21510	1964	ácido n-hexadecanóico/ácido palmítico	-	6,91	0,26	-
62	21556	1967	n.i.	-	-	0,35	-
63	22249	2034	geranil linalol	-	0,56	-	-
64	22773	2143	ácido linolênico	-	0,58	0,90	0,41
65	22902	-	n.i.	-	0,4	-	-
66	22960	2122	fitol	1,42	3,05	-	0,32
67	23081	2134	ácido linoleico	-	0,39	-	1,27
68	23558	2193	etil stearato	-	-	0,35	-
69	23866	2456	1-docosanol/álcool behênico	-	0,58	-	-
70	24864	-	tricosano	-	0,24	-	0,73
71	26667	-	pentacosano	-	0,26	-	0,31
72	27516	-	n-eicosano	1,07	1,53	1,79	-
73	28336	-	heptacosano	-	0,42	-	2,66
74	29481	-	n.i.	-	1,13	-	0,48
75	29481	-	ni	-	-	-	-
76	30107	-	n.i.	-	6,78	-	0,58
Total identificado				98,84	93,46	97,25	98,06
Total não-identificado				1,15	15,9	2,74	2,52

^aCompostos listados de acordo com a ordem de eluição na coluna HP-5ms; ^bidentificação com base na comparação com o espectro de massa da biblioteca Wiles 275L, área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma. Traços. (-) = composto ausente na amostra. TR: tempo de retenção, RI: índice de retenção identificados na literatura. n.i.: não-identificado. Amostra A – testemunha, B - A. *brasiliense*, C- substâncias húmicas, D - A + SH (*Azospirillum brasiliense* + substâncias húmicas).

Em termos de composto químico isolado, na cultivar Maria da Fé, as maiores áreas, ou seja, maiores quantidades de composto também foi o trans- β -damascenona, identificado no pico n° 26 com porcentagens de 32,24% em A, 17,43% em B, 24,58% em C e 34,13% em D. A seguir, a Tabela 5 apresenta todos os compostos encontrados no OE da cultivar Koroneiki em todos os tratamentos com bioestimulantes. De todos os 53 compostos químicos encontrados nesse óleo essencial, 17 não foram possíveis identificar.

Da mesma forma que os demais óleos essenciais, o composto que se destaca é o trans- β -damascenona com predominância em todos os tratamentos (B = 25,29%, C = 38,27% e D = 32,55%) inclusive na testemunha (A = 31,87%). Na avaliação dos óleos essenciais do presente estudo, apenas na cultivar Koroneiki não foi encontrado o composto ácido linolênico, presente também em azeites. O ácido linolênico é um importante ácido graxo que forma o ômega 3, com benefícios comprovados à saúde (BLONDEAU et al., 2015). Em outros estudos de caracterização de óleos essenciais das folhas da oliveira, o ácido linolênico também foi encontrado (MAKOWSKA-WAS et al., 2017; HALOUI et al., 2010).

Tabela 5. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Koroneiki.

(Continua)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
1	8329	932	α -pineno	-	-	-	1,16
2	9096	965	ciclooctano	1,49	-	-	-
3	9097	1031	1,8 cineol	0,62	-	-	3,32
4	9424	1068	1-octanol	-	-	-	1,05
5	9629	1102	α -thujona	-	-	-	0,95
6	9696	1102	nonanal	7,10	-	-	8,13
7	10450	1104	linalol I	2,06	-	-	3,63
8	11263	1112	β -fenchil álcool	1,09	-	-	1,37
9	11369	1143	cânfora	1,24	-	-	2,49
10	11618	1198	silicilato de metila	-	-	-	1,78
11	11845	1228	citronelol	2,49	-	-	1,67
12	11899	1258	ioneno	-	-	-	0,70
13	12277	1277	geraniol	6,49	4	7,65	5,04
14	12729	-	n.i.	1,86	-	-	4,85
15	12876	-	n.i.	0,75	-	-	-
16	12877	-	n.i.	-	1,81	-	-
17	13040	-	n.i.	-	0,72	-	-
18	13295	-	n.i.	0,48	-	-	-
19	14219	1374	α -copaeno	0,43	-	-	0,33
20	14315	1384	trans- β -damascenona	31,87	25,29	38,27	32,55
21	14219	1418	β -cariofileno	2,38	0,6	1,83	1,78
22	15197	1449	dihidro- β -ionol	1,58	-	4,01	1,88
23	15249	1452	geraniol acetona	3,09	2,68	3,2	2,73
24	15369	1452	α -humuleno	0,64	-	-	-
25	15431	-	n.i.	1,05	-	-	2,34

Tabela 5. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Koroneiki.

(Conclusão)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
26	15768	1477	β-ionone	6,79	6,65	8,82	5,81
27	15833	1495	valenceno	-	-	-	1,08
28	16017	1505	ledeno	0,57	-	-	-
29	16297	1505	E,E-α-farneseno	-	2,93	4,57	2,7
30	16775	1524	Δ-cadineno	0,37	-	-	-
31	17479	1527	nerolidol	6,72	8,57	11,32	-
32	18044	1588	ceteno	0,97	2,67	-	-
33	18315	1606	oplopenone	1,58	1,25	-	-
34	20189	1713	farnesol 2	0,51	1,6	-	-
35	20500	1677	cadaleno	0,81	-	-	0,71
36	20586	1790	1-octadeceno	-	1,3	-	1,16
37	20590	1845	hexahidrofarnesil acetona	2	3,39	2,48	2,18
38	20776	-	n.i.	1,84	3,06	-	-
39	21514	1894	1-nonadeceno	0,46	-	-	-
40	21552	-	n.i.	0,37	-	-	-
41	21560	1964	ácido hexadecóico	0,65	1	-	-
42	22248	-	n.i.	0,8	1,13	-	-
43	22769	2034	geranil linalol	-	0,74	-	-
44	23081	2122	fitol	4,06	9,39	7,26	3,31
45	23622	-	n.i.	0,54	-	-	-
46	23900	-	n.i.	0,3	-	-	0,35
47	24865	-	n.i.	-	0,89	-	-
48	25783	-	n.i.	0,26	1,23	-	0,52
49	26666	-	n.i.	0,71	2,35	1,57	0,67
50	28338	-	n.i.	2,82	11,7	12,24	4,69
51	29165	-	n.i.	-	-	-	0,41
52	29167	2847	esqualeno	-	2,31	-	-
53	29.482	-	n.i.	1,86	7,56	-	-
Total identificado				88,06	74,37	89,41	87,51
Total não-identificado				13,64	30,45	13,81	13,83

^aCompostos listados de acordo com a ordem de eluição na coluna HP-5ms, ^bidentificação com base na comparação com o espectro de massa da biblioteca Wiles 275L, área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma. Traços. (-) = composto ausente na amostra. TR: tempo de retenção, RI: índice de retenção identificados na literatura. n.i.: não-identificado. Amostra A – testemunha, B - *Azospirillum brasilense*, C - substâncias húmicas, D - A + SH (*Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas).

A Tabela 6 apresenta todos os compostos encontrados no OE da cultivar Picual em todos os tratamentos com bioestimulantes. Foram constatados 58 picos de resposta compatível, onde 18 compostos não foram identificados e 40 identificados conforme Tabela 6. O composto mais abundante foi o trans-β-damascenona, onde na cultivar Picual foi obtido uma porcentagem de A = 41,46%, B = 30,73%, C = 32,43% e D = 37,45%. Altos teores de trans-β-damascenona também foram encontrados por Popovic et al. (2021), no OE das folhas de oliveira cultivar Oblica.

Tabela 6. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Picual.

(Continua)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
1	7538	932	α -pineno	-	0,53	0,69	-
2	8328	981	mirreno	-	0,22	-	-
3	9094	1031	1,8-cineole/eucaliptol	2,22	5,01	0,71	-
4	9423	1063	α -terpinoleno	1,95	-	1,04	-
5	9630	1068	1-octanol	-	1,39	1,04	-
6	9639	1102	α -thujona	0,69	0,99	0,34	-
7	9697	1102	nonanal	3,50	2,19	2,9	-
8	10451	1104	linalol l	-	2,19	1,2	-
9	10907	1018	α -terpineno	1,5	-	0,39	-
10	11265	1112	β -fenchil alcool	-	0,76	-	-
11	11273	1143	cânfora	2,39	1,97	1,28	-
12	11375	1198	salicilato de metila	-	0,37	2,90	-
13	11761	1224	β -ciclocitral	-	0,75	0,61	-
14	11848	1228	citronelol	-	1,24	0,9	-
15	11900	1258	ioneno	1,53	1,43	1,72	-
16	12280	1277	geraniol	2,14	3,49	2,21	-
17	12731	1279	vitispirano	0,8	0,78	0,8	-
18	13040	-	n.i.	-	0,37	-	-
19	14324	1298	theaspirano a	3,95	4,26	4,10	3,2
20	13421	-	n.i.	-	0,47	0,50	-
21	13878	1384	trans- β -damascenona	41,46	30,73	33,56	38,78
22	14881	1418	β -cariofileno	1,8	2,13	2,77	2,1
23	15196	1418	junipeno	-	0,28	-	-
24	15251	-	n.i.	1,31	0,72	1,12	1,2
25	15371	1436	aromadendreno	-	-	0,68	-
26	15475	1449	dihidro- β -ionol	-	2,23	-	8,13
27	15675	1452	geranil acetona	-	2,63	2,95	3,62
28	15728	1452	α - humuleno	-	-	0,73	-
29	15769	-	n.i.	-	-	0,81	-
30	16022	-	n.i.	-	0,47	-	-
31	16148	1475	Δ -gurjuneno	-	0,43	-	-
32	16592	1477	β -ionone	8,01	5,24	6,78	12,19
33	16775	1495	valenceno	1,07	0,87	-	-
34	17158	1505	E,E- α -farneseno	-	-	0,8	-
35	17497	1527	nerolidol	11,49	3,59	20,4	24,14
36	17931	1546	α -calacoreno	-	0,34	-	-
37	18041	1578	óxido de cariofileno	-	1,44	2,81	3,39
38	18045	-	ni	-	0,47	-	-
39	18211	1592	calareno epoxido	-	-	0,67	-
40	18315	1606	oplopenono	-	1,00	-	-
41	18317	-	n.i.	-	0,33	-	-
42	19427	1677	cadaleno	-	0,36	0,33	-
43	19648	-	n.i.	0,43	-	-	-
44	20501	1915	farnesil acetona	-	1,65	-	-
45	20591	-	n.i.	2,68	-	0,27	-
46	21051	-	n.i.	-	0,32	-	-
47	21536	1964	ácido n-hexadecanóico/ ácido palmítico	-	2,33	-	-
48	22771	-	n.i.	2,9	1,65	1,57	3,24
49	22911	-	n.i.	-	0,85	-	-
50	23083	-	n.i.	0,60	1,65	1,45	-
51	23558	2122	fitol	4,38	3,05	1,34	-

Tabela 6. Composição química dos óleos essenciais da cultivar Picual.

(Conclusão)

Picos	TR	RI	Composto ^{a,b}	Área relativa (%)			
				A	B	C	D
52	23905	2134	ácido linolênico	-	0,25	-	-
53	24866	-	n.i.	0,76	-	-	-
54	24866	-	n.i.	2,86	3,31	1,86	-
55	27520	-	n.i.	-	0,33	-	-
56	28340	-	n.i.	1,11	0,99	0,35	-
57	29484	2847	esqualeno	2,21	0,67	-	-
58	30111	-	n.i.	-	2,34	-	-
Total identificado				91,09	86,79	96,65	95,55
Total não-identificado				12,65	14,27	7,93	4,44

^aCompostos listados de acordo com a ordem de eluição na coluna HP-5ms; ^bidentificação com base na comparação com o espectro de massa da biblioteca Wiles 275L, área relativa (%): porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma. Traços. (-) = composto ausente na amostra. TR: tempo de retenção, RI: índice de retenção identificados na literatura. n.i.: não-identificado. Amostra A - testemunha, B - *Azospirillum brasilense*, C - substâncias húmicas, D - A + SH (*Azospirillum brasilense* + substâncias húmicas).

Quanto aos bioestimulantes, apenas na primeira cultivar houve uma diferença maior para os tratamentos em conjunto. O maior rendimento de OE foi justamente na cultivar e no tratamento, onde apresentaram a menor quantidade de compostos presentes na amostra (cv. Picual, amostra D). Os demais compostos variaram pouco em quantidade e identidade, bem como afirmaram Figueiredo et al. (2014), que os compostos presentes no OE podem variar conforme o manejo das plantas ou interação da genética com outros fatores.

A extração de OE das folhas de oliveira é possível, porém, o volume de material vegetal necessário é grande e outros estudos podem ser conduzidos utilizando outros tratamentos ou utilizando material vegetal de plantas mais velhas que já tenham passado pelo período juvenil podendo diferenciar na composição química das amostras.

CONCLUSÕES

O rendimento de óleo essencial (OE) foi superior para a cultivar Picual, com o uso dos bioestimulantes em conjunto. O composto mais abundante encontrado no OE das folhas foi o trans- β -damascenona.

REFERÊNCIAS

ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, 22: 711-728, 2013.

BALDONI, A. B.; TONINI, H. Pré-melhoramento da castanheira-do-brasil no Mato Grosso: propagação vegetativa e jardim clonal. In: FARIAS NETO, A. L. et al. **Embrapa Agrossolvipastoril: primeiras contribuições para o desenvolvimento de uma agropecuária sustentável**. Brasília, DF: Embrapa, 2019, 605 p.

BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, 61: 856-881, 2014.

BLONDEAU, N. et al. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuroprotective properties - ready for use in the stroke clinic. **BioMed Research International**, 12: 1-8, 2015.

CABALLERO, J. M. **Multiplicación del olivo por etaquillado semileñoso bajo nebulización**. [S.l.]: INIA, 1981. (Comunicaciones INIA, Serie Producción Vegetal, 31:39).

CAMARGO, S. S. et al. Jardim clonal, técnica eficiente para a propagação de porta-enxerto de pereira. **Revista Científica Rural**, 21: 329-354, 2019.

CANELLAS, L. P. et al. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196, 15-27, 2015.

CASARIN, J. V. et al. Rooting of olive minicuttings at different seasons grown in clonal minigarden. **Comunicata Scientiae**, 9: 41-49, 2018.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility Soils**, 56: 461-479, 2020

CONCEIÇÃO, P. M. et al. Qualidade de sementes de porta-enxertos de citros do Jardim Clonal do centro APTA citros Sylvio Moreira/IAC. **Citrus Research & Technology**, 36: 9-14, 2015.

CRIZEL, R. L. et al. Characterization of extra virgin olive oil from Southern Brazil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 122: 1-12, 2020.

DJENANE, D. et al. Olive leaves extract from Algerian Oleaster (*Olea europaea* var. *sylvestris*) on Microbiological Safety and Shelf-life Stability of Raw Halal Minced Beef during Display. **Foods**, 8:10, 2019.

EHSEN H. et al. Pharmacological activities and chemical composition of the *Olea europaea* L. leaf essential oils from Tunisia. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 8: 204-208. 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, 37: 529-535, 2019.

FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais- óleos essenciais e voláteis. **Revista Plantas Aromáticas e Medicinais**, 144: 29-36, 2014.

FRAGOSO, R. O. et al. Substratos renováveis de mudas de *Ficus enormis* proveniente de jardim clonal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, 36: 537-541, 2016.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, 8: 73, 2018.

GUO, Z. et al. Chemical composition and nutritional function of olive (*Olea europaea* L.): a review. **Phytochemistry Review**, 17:1091-1110, 2018.

HALOUI, E. et al. Pharmacological activities and chemical composition of the *Olea europaea* L. leaf essential oils from Tunisia. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 8: 204-208, 2010.

HAQ, I. U. et al. Techniques for Micropropagation of Olive (*Olea europaea* L.): A Systematic Review. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, 34: 184-191, 2021.

KUMAR, A. A quantum Chemical study on elucidation of molecular structure, electric moments and vibrational analysis of beta-damascenone and its isomer – a comparative study. **International Journal of Engineering Technologies and Management Research**, 4:23-136, 2017.

MAKOWSKA-WĄS, J. et al. Identification of predominant phytochemical compounds and cytotoxic activity of wild olive leaves (*Olea europaea*) harvested in South Portugal. **Chemistry & Biodiversity**, 14: e1600331, 2017.

MALHEIRO, R. et al. Electrophysiological response of *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) adults to olive leaves essential oils from different cultivars and olive tree volatiles. **Industrial Crops and Products**, 77: 81-88, 2015.

MUKESI, M. et al. The activity of commercial antimicrobials, and essential oils and ethanolic extracts of *Olea europaea* on *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 19: 34, 2019.

NITSCHKE, P. R. et al. **Atlas Climático do Estado do Paraná**. Londrina (PR): Instituto Agronômico do Paraná, 2019, 210 p.

POPOVIĆ, M. et al. Essential oil volatile fingerprint differentiates croatian cv. Oblica from other *Olea europaea* L. cultivars. **Molecules**, 26: 3533, 2021.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. **Frontiers Plant Science**, 11: 40, 2020.

SAMUNI-BLANK, M. et al. Intraspecific directed deterrence by the mustard oil bomb in a desert plant. **Current Biology**, 22: 1218-1220, 2012.

SHAHIN, S.; BILGIN, M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. **Science of Food and Agriculture**, 98: 1271-1279, 2018.

CONCLUSÕES GERAIS

Mudas da cultivar Maria da Fé obtiveram maior crescimento com o uso do bioestimulante pulverizado. Para a cultivar Ascolano 315, não foi recomendado utilizar bioestimulantes.

A imersão das raízes da cultivar Arbequina no bioestimulante foi eficiente no desenvolvimento do sistema radicular. O modo de aplicação por imersão não foi eficiente na formação de mudas das três cultivares estudadas.

As substâncias húmicas favoreceram os atributos agronômicos. A cultivar Maria da Fé apresentou maior rendimento de estacas. As cultivares Maria da Fé e Koroneiki foram as mais vigorosas no estudo.

O rendimento de óleo essencial (OE) foi superior para a cultivar Picual, com o uso dos bioestimulantes em conjunto. O composto mais abundante encontrado no OE das folhas foi o trans- β -damascenona.