

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado



Tese

**Micropropagação e frio artificial no cultivo dos mirtilheiros 'Duke' e
'Woodard'**

Aline Ramm

**Pelotas
2021**

Micropropagação e frio artificial no cultivo dos mirtilleiros ‘Duke’ e ‘Woodard’

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Fruticultura de Clima Temperado).

Orientadora: Prof^a Dr^a Adriane Marinho de Assis

Coorientadora: Prof^a Dr^a Márcia Wulff Schuch

Pelotas
2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de
Bibliotecas Catalogação na Publicação

R111m Ramm, Aline

Micropropagação e frio artificial no cultivo dos
mirtileiros 'Duke' e 'Woodard' / Aline Ramm ; Adriane
Marinho de Assis, orientadora ; Marcia Wulff Schuch,
coorientadora. — Pelotas, 2021.

101 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Pequenas frutas - Produção. 2. *Vaccinium* spp. 3.
Fenologia. I. Assis, Adriane Marinho de, orient. II. Schuch,
Marcia Wulff, coorient. III. Título.

CDD : 634.8

Aline Ramm

**Micropropagação e frio artificial no cultivo dos mirtilleiros ‘Duke’ e
‘Woodard’**

Tese aprovada pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Fruticultura de Clima Temperado).

Data da Defesa: 27 de setembro 2021.

Banca examinadora:

Prof.^a. Dr^a. Adriane Marinho de Assis
Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPel

Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Marcio Paim Mariot
Instituto Federal Sul-Rio-Grandense

Prof. Dr. Fábio Suano Souza
Unifil- Centro Universitário Filadélfia

Suplentes:

Prof^a. Dr^a. Aline Ritter Curti
Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPeI

Prof^a. Dr^a. Lilian Vanussa Madruga de Tunes
Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPeI

Dedico

À minha família, pelo suporte e incentivo. Seu amor incondicional é meu maior combustível. Obrigada por sempre me mostrarem que mesmo os momentos mais difíceis têm um propósito e que se estivermos juntos na caminhada, tudo é possível.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. “É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado para sempre à margem de nós mesmos.”

Tempo de travessia – Fernando Teixeira de Andrade.

Agradecimentos

À Deus, fonte de força espiritual, pela saúde e discernimento necessários para cumprir esta jornada em busca dos meus sonhos e pelas lágrimas que rolaram pelo meu rosto, pois quando meu coração se torna frio elas o atingem e deixam-no sensível e delicado novamente.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo fomento e concessão da bolsa de estudos, permitindo que me dedicasse exclusivamente à pesquisa durante o curso.

Aos meus pais, Edemundo e Loni Ramm, por todo esforço e dedicação para que eu chegasse até aqui. Por priorizarem a minha formação e bem-estar mesmo nos momentos de dificuldade, pelas palavras de apoio, pelo incentivo a me tornar uma pessoa melhor a cada dia, pelo amparo, cuidado e amor incondicional.

Ao meu marido, Adriano dos Santos Alves, por ser meu melhor amigo e companhia diária, fortaleza nos momentos difíceis e minha fonte de incentivo. Por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditei.

À professora orientadora Adriane Marinho de Assis e à professora coorientadora Márcia Wulff Schuch, por aceitarem o desafio da orientação deste trabalho, por todo o carinho e conhecimento compartilhado, pelo suporte técnico e científico e por agirem sempre com ética e responsabilidade, me inspirando como profissional.

Às amigas Patrícia Maciejewski, Bruna Andressa dos Santos Oliveira e Marilaine Garcia de Mattos, pela amizade que levarei para vida, pelos bons momentos compartilhados e por tornarem a jornada mais leve e agradável, amenizando o peso das dificuldades ao longo do processo.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para avaliar o trabalho e dispor do seu conhecimento técnico e científico para agregar melhorias ao trabalho.

A todos que fazem parte da minha vida e acompanham minha trajetória, e que de alguma forma me apoiaram, ajudaram a superar desafios, e me inspiraram pessoal ou profissionalmente.

“Das Leben its zu kurz, um schlechten Kaffee zu trinken!”

Resumo

RAMM, Aline. Micropropagação e frio artificial no cultivo dos mirtilleiros 'Duke' e 'Woodard' 2021. 101 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A utilização de mudas de qualidade, assim como a adoção de técnicas que permitam a adequação dos protocolos de propagação e do ambiente para o cultivo do mirtilleiro (*Vaccinium* spp.) são fundamentais para a expansão das áreas de produção. Em função desses aspectos, esse trabalho foi dividido em quatro experimentos. No primeiro, o objetivo foi verificar a influência do cultivo *in vitro* fotoautotrófico, aliado à presença (ou não) de sacarose no meio de cultura durante a multiplicação de mirtilleiro 'Duke' em duas épocas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema trifatorial 3 x 2 x 2 (três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g.L⁻¹), dois ambientes (sala de crescimento e casa de vegetação) e duas épocas do ano (verão e inverno)), totalizando 12 tratamentos com 10 repetições de cinco explantes. Após 60 dias foram avaliadas: sobrevivência, comprimento das brotações, taxa de multiplicação, altura dos explantes e número de folhas. A multiplicação *in vitro* de mirtilleiro 'Duke' pode ser realizada em sala de crescimento e em meio de cultura com 15 g.L⁻¹ de sacarose no período de inverno. No segundo experimento, o objetivo foi avaliar o crescimento vegetativo de mirtilleiros cultivados em vasos em diferentes condições de frio. O delineamento experimental foi em esquema fatorial 2 x 2 (duas condições de cultivo (ar livre e frio artificial)) e duas cultivares ('Duke' e 'Woodard')). Após 90 dias foram avaliados: comprimento da maior haste, número de médio de hastes, e comprimento médio das hastes, massa de matéria seca da raiz e o comprimento das raízes. As diferentes condições de frio não influenciaram no crescimento vegetativo de 'Duke' e 'Woodard'. No terceiro, objetivou-se avaliar a fenologia, enquanto o quarto experimento foi realizado visando avaliar as características físico-químicas e produtivas. Ambos os ensaios foram realizados nas mesmas condições de cultivo, utilizando o mesmo delineamento experimental e cultivares de mirtilleiro do segundo estudo. Assim, no terceiro ensaio foram avaliados os estádios fenológicos: inchamento da gema, abrolhamento, gema inicial rosa, gema final rosa, início da floração, plena floração, queda das corolas, crescimento do fruto, fruto verde e porcentagem (10%; 25% e 75%) de frutos maduros. Além disso, foi avaliada a soma térmica dos períodos fenológicos em dois ciclos reprodutivos. O comportamento fenológico e a demanda térmica foram influenciados pelo ambiente de cultivo no segundo ciclo. A exposição ao frio artificial é uma técnica promissora; principalmente para 'Duke' nas condições de Pelotas-RS. No último experimento avaliou-se: número total de frutos, massa total dos frutos por planta, massa de matéria fresca e diâmetro do fruto; potencial hidrogeniônico, teor de sólidos solúveis, acidez titulável e relação brix/acidez titulável. Conclui-se que 'Woodard' e 'Duke' expostos ao frio artificial apresentaram frutos com atributos físico-químicos compatíveis com o esperado para a região. O frio artificial foi eficiente, principalmente para 'Duke' na segunda safra.

Palavras-chave: pequenas frutas, *Vaccinium* spp., fenologia, produção.

Abstract

Ramm, Aline. Micropropagation and artificial cold in the cultivation of 'Duke' and 'Woodard' blueberries, 2021. 101 p, Thesis (Doctorate degree) – Post-Graduate Program in Agronomy. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The use of quality seedlings, as well as the adoption of techniques that allow the adaptation of propagation protocols and the environment for the cultivation of blueberry (*Vaccinium* spp.) are fundamental for the expansion of production areas. Due to these aspects, this work was divided into four experiments. In the first, the objective was to verify the influence of in vitro photoautotrophic culture, combined with the presence (or not) of sucrose in the culture medium during the multiplication of 'Duke' blueberry in two seasons. The experimental design was completely randomized, in a 3 x 2 x 2 trifactorial scheme (three sucrose concentrations (0, 15 and 30 g.L⁻¹), two environments (growth room and greenhouse) and two times of the year (summer and winter)), totaling 12 treatments with 10 repetitions of five explants. After 60 days, survival, shoot length, multiplication rate, explant height and number of leaves were evaluated. In vitro multiplication of 'Duke' blueberry can be performed in a growth room and in culture medium with 15 g. L⁻¹ of sucrose in the winter period. Of sucrose in the winter period. In the second experiment, the objective was to evaluate the vegetative growth of blueberries grown in pots under different cold conditions. The experimental design was in a 2 x 2 factorial scheme (two growing conditions (outdoor and artificial cold)) and two cultivars ('Duke' and 'Woodard')). After 90 days, the following were evaluated: length of the longest stalk, mean number of stalks, and mean length of stalks, root dry matter and root length. The different cold conditions did not influence the vegetative growth of 'Duke' and 'Woodard'. In the third, the objective was to evaluate the phenology, while the fourth experiment was carried out to evaluate the physicochemical and productive characteristics. Both trials were carried out under the same growing conditions, using the same experimental design and blueberry cultivars from the second study. Thus, in the third, the phenological stages were evaluated: yolk swelling, budding, pink initial yolk, pink final yolk, beginning of flowering, full flowering, corolla drop, fruit growth, green fruit and percentage (10%; 25% and 75%) of ripe fruits. In addition, the thermal sum of the phenological periods in two reproductive cycles was evaluated. Phenological behavior and thermal demand were influenced by the cultivation environment in the second cycle. Exposure to artificial cold is a promising technique; mainly for 'Duke' in the conditions of Pelotas-RS. In the last experiment, the following were evaluated: total number of fruits, total mass of fruits per plant, fresh matter mass and fruit diameter; hydrogen ionic potential, soluble solids content, titratable acidity and brix/titratable acidity ratio. It is concluded that 'Woodard' and 'Duke' exposed to artificial cold had fruits with physicochemical attributes compatible with those expected for the region. Artificial cold was efficient, especially for 'Duke' in the second crop.

Keywords: small fruits, *Vaccinium* spp, phenology, production

Lista de Figuras

Figura 1. Mirtileiro ‘Duke’. UFPel, Capão do Leão.....	24
Figura 2. Folhas de mirtileiro ‘Woodard’. UFPel, Capão do Leão.....	24
Figura 3. Flores de mirtileiro ‘Duke’. UFPel, Capão do Leão.....	25
Figura 4. Frutos de mirtileiro ‘Duke’. UFPel, Capão do Leão’	26
Figura 5. Parte aérea e sistema radicular do mirtileiro ‘Duke’ cultivado em vaso.....	26
Figura 6. Inchamento da gema (a), Abrolhamento (b), gema inicial rosa (c), Gema final rosa (d), início da floração (e), plena floração (f), queda das corolas (g), crescimento do fruto (h) fruto verde (i), 10% de fruto maduro (j), 25% de fruto maduro (l), 75% de fruto maduro (m) UFPel, Capão do Leão, 2021.....	31
Figura 7. Mirtileiro dormente.....	34

Capítulo I

Figura 8. Explantes de mirtileiro ‘Duke’ que permaneceram em sala de crescimento. UFPel, Capão do leão, 2021.....	37
Figura 9. Explantes de mirtileiro ‘Duke’ que permaneceram na casa de vegetação. UFPel, Capão do Leão, 2021.....	38
Figura 10. Comprimento médio das brotações (cm) em explantes do mirtileiro ‘Duke’ multiplicados <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de sacarose, locais, e época de cultivo. UFPel. Capão do Leão 2021.....	39

Figura 11. Número de brotações, em explantes do mirtilheiro ‘Duke’ multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel, Capão do Leão, 2021..... 41

Figura 12. Taxa de multiplicação (%) de explantes do mirtilheiro ‘Duke’ multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel, Capão do Leão, 2021..... 42

Figura 13. Altura da maior brotação do mirtilheiro ‘Duke’ multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel, Capão do Leão, 2021..... 44

Figura 14. Número de folhas dos explantes do mirtilheiro ‘Duke’ multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel, Capão do Leão, 2021..... 45

Capítulo 2

Figura 15. Mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ durante a condução do experimento. UFPel. Capão do Leão - 2021..... 51

Figura 16. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2018 da Estação Agroclimatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021..... 52

Figura 17. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2019 da Estação Agroclimatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021..... 53

Figura 18. Efeito dos dias de cultivo para altura da haste mais desenvolvida (cm), de mirtilheiro para os tratamentos ‘Duke’ em câmara (DC), ‘Duke’ ao

ar livre (DA), 'Woodard' em câmara (WC), 'Woodard' ao ar livre (WA), UFPel, Capão do Leão, 2021..... 54

Figura 19. Comprimento médio das hastes (cm) de mirtilheiro para os tratamentos 'Duke' em câmara (DC), 'Duke' ao ar livre (DA), 'Woodard' em câmara (WC), 'Woodard' ao ar livre (WA), UFPel, Capão do Leão, 2021..... 56

Figura 20: Número de hastes de mirtilheiro para os tratamentos 'Duke' em câmara (DC), 'Duke' ao ar livre (DA), 'Woodard' em câmara (WC), 'Woodard' ao ar livre (WA), UFPel, Capão do Leão, 2021..... 57

Figura 21: Plantas retiradas dos recipientes para avaliação do crescimento do sistema radicular e massa de matéria seca de mirtilheiro 'Duke' em câmara fria (1), 'Duke' ar livre (2), 'Woodard' ar livre (3) 'Woodard' câmara (4). UFPel, Capão do Leão - 2021..... 59

Capítulo 3

Figura 22. Mirtilheiro marcados com fitas de cetim, UFPel - Capão do Leão, 2021..... 63

Figura 23. Inchamento da gema (1), Abrolhamento (2), gema inicial rosa (3), Gema final rosa (4), início da floração (5), plena floração (6), queda das corolas (7), crescimento do fruto (8) fruto verde (9), 10% de fruto maduro (10), 25% de fruto maduro (11), 75% de fruto maduro (12) 65

Figura 24. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal da Estação Agro climatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima 66

Figura 25. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal da Estação Agro climatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2019..... 66

Figura 26. Dias transcorridos do inchamento da gema até 75 % de maturação dos frutos de mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ que receberam tratamento de frio e que permaneceram em ambiente ar livre. IG: Inchamento de gema, A: abrolhamento, GIR: gema inicial rosa, CFR: gema final rosa, IF: início da floração, PF: plena floração, QP: queda das pétalas, CF: crescimento do fruto, FV: fruto verde, 10 FM:10% frutos maduros, 25 FM: 25% frutos maduros, 75 FM: 75% frutos maduros, ciclo 2018/2019, Capão do Leão, 2021..... 69

Figura 27. Dias transcorridos do inchamento da gema até 75 % de maturação dos frutos de mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ que receberam tratamento de frio e que permaneceram em ambiente ar livre. IG: Inchamento de gema, A: abrolhamento, GIR: gema inicial rosa, CFR: gema final rosa, IF: início da floração, PF: plena floração, QP: queda das pétalas, CF: crescimento do fruto, FV: fruta verde, 10 FM:10% frutos maduros, 25 FM: 25% frutos maduros, 75 FM: 75% frutos maduros, ciclo 2019/2020. Capão do Leão, 2021..... 74

Capítulo 4

Figura 28. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2018 da Estação Agro climatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021..... 84

Figura 29. Temperatura média (TM), temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2019 da Estação Agro climatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021..... 84

Lista de Tabelas

Capítulo 2

- Tabela 1 Valores médios de potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (CE), capacidade de retenção de água (CRA) e densidade (D) no substrato casca de arroz carbonizada (CAC) na implantação do experimento e no final da avaliação. Capão do Leão, 2018.....50
- Tabela 2 Valores médios do comprimento e massa de matéria seca da raiz de plantas 'Duke' mantidas em câmara fria, 'Duke' ao ar livre, 'Woodard' mantidas em câmara, 'Woodard' ao ar livre. UFPel. Capão do Leão, 2021.....56

Capítulo 3

- Tabela 3 Dados referentes a primeira geada, última geada, total de geadas, horas de frio com temperatura abaixo de 7,2° C no período de 25 de maio de 2018 a 30 de setembro de 2019 total de horas de frio, precipitação pluviométrica do período de maio a dezembro (mm), precipitação pluviométrica total (mm) em 2018 e 2019. Fonte: Estação Meteorológica Automática Sede da Embrapa Clima Temperado. UFPel – Capão do Leão, 2021...65
- Tabela 4 Datas da ocorrência dos subperíodos para as plantas da cultivar Duke que receberam tratamento de frio artificial e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo 2018/2019. Capão do Leão, 2021.....68
- Tabela 5 Características fenológicas com subperíodos ocorridos nas referidas datas da cultivar Woodard que recebeu tratamento de frio artificial, e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo 2018/2019. Capão do Leão, 2021.....69
- Tabela 6 Datas da ocorrência dos subperíodos para as plantas da cultivar Duke que receberam tratamento de frio artificial e para as plantas

	mantidas ao ar livre no ciclo produtivo (2019/2020). Capão do Leão, 2021.....	74
Tabela 7	Características fenológicas com subperíodos ocorridos nas referidas datas da cultivar Woodard recebeu tratamento de frio artificial, e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo (2019/2020). Capão do Leão, 2021.....	75
Tabela 8	Soma térmica em graus-dia (GD), calculada para diferentes temperaturas-base (7,2°C) das cultivar Duke e Woodard, que receberam tratamento de frio artificial, e que permaneceram em ar livre, no ciclo produtivo (2018.2019). Capão do Leão, 2021.....	77
Tabela 9	Soma térmica em graus-dia (GD), calculada para diferentes temperaturas-base (7,2°C) das cultivar Duke e Woodard, que receberam tratamento de frio artificial, e que permaneceram em ar livre, no ciclo produtivo (2019.2020). Capão do Leão, 2021.....	78

Capítulo 4

Tabela10	Dados referentes a pH, teor de sólidos solúveis totais SS(°Brix), acidez titulável AT (% ácido cítrico), de frutos dos mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard' cultivados em vasos e mantidas em câmara fria e ao ar livre, respectivamente nas safras 2018/2019 e 2019/2020. UFPel, Capão do Leão-RS, 2021.....	86
Tabela11	Número total de frutos, massa total dos frutos (mg), massa fresca do fruto MF(g), diâmetro dos frutos (mm) dos mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard' cultivados em vasos e mantidas em câmara fria e ao ar livre, respectivamente nas safras 2018/2019 e 2019/2020 UFPel, Capão do Leão-RS, 2021.....	88

SUMÁRIO

1. Introdução.....	21
2. Revisão de literatura.....	22
2.1. O mirtilheiro.....	24
2.2.1 Grupos.....	27
2.2.2 Exigências edafoclimáticas.....	29
2.2.3 Fenologia.....	30
2.2.4 Dormência e frioartificial.....	34
3. Capítulo I - Multiplicação <i>in vitro</i> de mirtilheiro ‘Duke’ em condição fotoautotrófica	36
3.1 Introdução.....	36
3.2 Material e Métodos.....	37
3.3 Resultados e discussão.....	40
3.4 Conclusão.....	47
4. Capítulo II - Crescimento vegetativo de mirtilheiros cultivados em diferentes condições de frio.....	48
4.1 Introdução.....	48
4.2 Material e Métodos.....	49
4.3 Resultados e Discussão.....	52
4.4 Conclusão.....	59
5. Capítulo III - Caracterização fenológica, e demanda térmica de mirtilheiros em diferentes ambientes.....	61
5.1 Introdução.....	61
5.2 Material e Métodos.....	6

5.3 Resultados e discussão.....	67
5.4 Conclusão.....	81
6. Capítulo IV - Caracterização físico-química e produtiva dos mirtileiros ‘Woodard’ e ‘Duke’	82
6.1 Introdução.....	82
6.2 Material e Métodos.....	83
6.3 Resultados e discussão.....	85
6.4 Conclusão.....	90
7. Considerações finais.....	90
8. Referências.....	92

1. Introdução

A fruticultura exerce grande influência social e econômica em diversas regiões do Brasil, gerando emprego e renda. Dessa forma, a adoção de alternativas que visam à otimização do sistema produtivo torna-se necessária, a fim de explorar ainda mais o potencial para o desenvolvimento da mesma no país (NAVA, 2019).

Dentre as frutíferas promissoras está o mirtilheiro (*Vaccinium spp.*), pertencente ao grupo das pequenas frutas. Seus frutos possuem sabor agridoce e destacam-se pelas propriedades nutracêuticas, além de atrativos preços para os produtores. Tais fatores contribuíram para o aumento da procura por essa pequena fruta e para a expansão do seu cultivo em diversos países (DAVIDSON, 2017; SILVA, 2018).

No Brasil, os mirtilheiros mais cultivados são predominantemente aqueles do grupo Rabbiteye, como a cultivar Woodard (CANTUARIAS- AVILÉS, 2010), apreciada pelo sabor, boa produtividade e exigência de 300 a 600 horas de frio. Outra cultivar do grupo é a Duke, valorizada pela precocidade, alta produtividade, fácil colheita e excelente qualidade pós-colheita, com necessidade de frio entre cerca 650 e 1000 horas (PEREIRA et al., 2013).

Um dos principais entraves que dificultam a expansão dessa frutífera no Brasil relaciona-se à dificuldade de propagação de algumas cultivares, à falta de mudas e ausência de variedades de maior produtividade (SILVA, 2016). Assim, é fundamental a adoção de métodos eficientes para a propagação visando a produção de mudas com qualidade e em quantidade suficiente para suprir a demanda, além da caracterização das cultivares.

Uma alternativa para a multiplicação é a micropropagação, que permite obter mudas em quantidade e idênticas à planta matriz, além da possibilidade de produzir mudas livres de patógenos causadores de doenças (NEUMAM, 2009; PRAMMANEE, 2011). Outra vantagem da micropropagação é o aproveitamento do espaço físico necessário para a obtenção das mudas.

Apesar das vantagens, o investimento inicial, assim como a manutenção da infraestrutura, os componentes do meio de cultura, entre outros, contribuem

para o aumento do custo da produção da muda micropropagada em relação à muda convencional (ROCHA, 2013).

Estudos visando a substituição de lâmpadas fluorescentes por luz natural, aliado a redução de níveis exógenos de sacarose são possibilidades que buscam viabilizar a micropropagação (KODYM & ZAPATA-ARIAS 2001).

Além da necessidade de utilizar o método de propagação adequado, é imprescindível o conhecimento sobre a fenologia e a adaptação das cultivares às condições ambientais do local de produção (SANTOS, 2015).

O conhecimento das fases fenológicas de cada cultivar possibilita o planejamento das principais operações de manejo e o aproveitamento de janelas de oportunidade de comercialização com melhores preços. Ademais, segundo Santos (2014), as necessidades de frio de cada cultivar condizionarão o período de colheita e, com o registro das datas de entrada em dormência das gemas florais, pode-se aperfeiçoar as técnicas de produção.

Considerando a escassez de informações sobre as alternativas para otimizar a micropropagação, bem como a produção de mirtilheiros em vasos submetidos ao frio artificial na região de Pelotas-RS, o objetivo desse trabalho foi avaliar a micropropagação foto autotrófica em mirtilheiro 'Duke' e o efeito do ambiente (ar livre e frio artificial) no cultivo de mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard'.

1. Revisão de literatura

A fruticultura é um importante segmento do agronegócio, sendo a China, a Índia e o Brasil os principais produtores mundiais. Em 2019, foram colhidas no Brasil 44,6 milhões de toneladas de frutas em cerca de 2,5 milhões de hectares, gerando 5,0 milhões de empregos diretos, o que mostra a relevância do setor na economia do país (KIST et al., 2018 ABRAFRUTAS, 2019; IBGE, 2019).

Dentre as espécies, o mirtilheiro (*Vaccinium* spp.), a amoreira-preta (*Rubus* spp.), a framboeseira (*Rubus idaeus*), o morangueiro (*Fragaria* spp.) e a physalis (*Physalis* sp), pertencentes ao grupo denominado pequenas frutas tem contribuído de forma significativa para o desenvolvimento e a geração de renda,

com destaque para as áreas de agricultura familiar, principalmente na região Sul do Brasil (ANTUNES, 2012).

No caso do mirtilheiro, o cultivo possibilita alto valor agregado por área, requer uso intensivo de mão de obra, colheita de forma escalonada e baixo índice de mecanização, o que oferece inúmeras possibilidades para a indústria caseira e as pequenas agroindústrias, devido seu rápido retorno econômico (DAMIANI & SCHUCH, 2008a; MARANGON; BIASI, 2013).

Os maiores produtores e consumidores mundiais são os Estados Unidos e o Canadá, mas a produção mundial tem crescido a cada ano e em 2019 foi de 823.328 toneladas. Apesar disso, existe uma grande demanda por essa fruta durante a entressafra, onde países da América do Norte importam os frutos de locais onde a fruta é ofertada, como a América do Sul (FACHINELLO, 2008; BASCOPÉ, 2013; FAO, 2020).

No Brasil, os principais Estados produtores dessa frutífera são Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais e, mais recentemente, Goiás (HOFFMANN, 2016).

Na região Sul, a maior expansão do cultivo comercial iniciou na década de 2000, a partir de mudas micropropagadas importadas do Uruguai, embora a introdução dessa frutífera no país tenha ocorrido na década de 80. Tal fato foi motivado pela demanda mundial e pelos atrativos preços da fruta fresca no mercado europeu. A região Sul também conta com importantes vantagens para a exportação de mirtilos frescos, como a possibilidade de produção precoce, a proximidade dos mercados europeus e norte-americano e a disponibilidade de água, clima e solo aptos para o cultivo (RETAMALES & HANCOCK, 2012; MEDINA, 2016; SANTOS et al., 2016).

Conforme levantamento da Emater (2020), no Rio Grande do Sul 65 produtores cultivam mirtilheiro em uma área total de 66 ha, onde foram colhidas 310 t. Em Pelotas, a área plantada é de 10 ha, com produção de cerca de 30 t.

2.1 O Mirtileiro

O mirtileiro (Figura 1) é uma frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte (ANTUNES & RASEIRA, 2006), pertence à família Ericaceae e é classificado dentro da subfamília Vaccinoidea, na qual encontra-se o gênero *Vaccinium*.



Figura 1. Mirtileiro 'Duke'. UFPel - Capão do Leão, 2021.

De acordo com Cantuarias-Avilés (2014), esse fruto vem sendo consumido pelo homem desde a pré-história. De sabor ligeiramente agridoce, sua popularidade ocorreu tanto pelas suas propriedades medicinais quanto pela sua grande versatilidade na culinária, passando a ser um ingrediente muito procurado em todo o mundo para elaboração de pratos da gastronomia e utilizado na fabricação de chás, tortas, bolos, pudins, biscoitos, sorvetes, geleias e compotas (CANTUARIAS-AVILÉS, 2010).

É uma planta caducifólia de porte arbustivo e, segundo Hoffmann (2002) e Gaspar (2017), apresenta ramos de coloração amarelo dourada ou avermelhada que surgem na base da planta, sendo herbáceos no primeiro ano e tornando-se lenhosos no segundo ano.

As folhas (Figura 2) do mirtileiro variam entre as espécies; porém, geralmente formam-se nos nós dos ramos, são simples, alternadas, decíduas e alongadas, têm formato oval e cerca de 3-5 cm. Com o frio e a redução das horas de luz, ocorre diminuição nos níveis de clorofila e aumento na produção do pigmento responsável pela coloração avermelhada das folhas, que substitui a cor verde escuro observada no restante do ano (RETAMALES & HANCOCK, 2012; MOURA, 2013).



Figura 2. Folhas de mirtileiro 'Woodard'. UFPel - Capão do Leão, 2021.

As gemas florais são mais volumosas e estão localizadas nas extremidades dos ramos do ano anterior, enquanto as gemas vegetativas são menores e aguçadas, e encontram-se abaixo das gemas florais, na parte inferior dos ramos (SANTOS, 2014; SANTOS, 2015).

Segundo Moura (2013), as flores (Figura 3) são compostas por inflorescências que formam racemos e se desenvolvem na parte terminal dos ramos. Cada racemo contém de 8 a 16 flores, variando de acordo com a espécie e a cultivar.



Figura 3. Flores de mirtilheiro 'Duke'. UFPel - Capão do Leão, 2021.

A corola é gomilosa e deprimida, isto é, as pétalas das flores estão soldadas entre si formando uma campânula invertida com uma abertura pequena (a boca), que protege os estames do vento, evitando que o pólen caia sobre o seu próprio estigma (SANTOS, 2015).

Os frutos (Figura 4) apresentam coloração avermelhada a azulada quando maduros e são cobertos por uma cera denominada pruína. O fruto é uma baga com coloração azul-escura, de formato achatado dependendo de cultivar, coroada pelos lóbulos persistentes do cálice, com aproximadamente 1 a 2,5 cm de diâmetro e 1,5 a 4 g, com muitas sementes envolvidas em uma polpa (FONSECA & OLIVEIRA, 2007).



Figura 4. Frutos de mirtilheiro 'Duke'. UFPel - Capão do Leão, 2021.

A baga contém elevada concentração de compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas); inclusive, é bastante apreciada particularmente nos países Nórdicos (WOLFE et al., 2008; SANTOS, 2015).

O sistema radicular (Figura 5) do mirtilo é composto por raízes que podem alcançar um metro de profundidade, além de raízes finas e fibrosas distribuídas nos primeiros 30 a 40 cm.



Figura 5. Parte aérea e sistema radicular do mirtilo 'Duke' cultivado em vaso. UFPel - Capão do Leão, 2021.

2.2.1. Grupos

Há muitas espécies de mirtilo; porém, as principais com expressão comercial podem ser divididas em três grupos, de acordo com o genótipo, hábito de crescimento, tipo de fruto produzido, entre outras características (SANTOS, 2015).

a) Grupo Northern Highbush (*Vaccinium corymbosum*)

Conjunto de cultivares que se desenvolveu principalmente a partir de *Vaccinium australe* Small e *Vaccinium corymbosum*. São arbustos com dois ou

mais metros de altura, com necessidade entre 650 e 1000 horas de frio. Suas folhas são caducifólias e o período de florescimento concentra-se na primavera, e os frutos são grandes e de ótima qualidade. Nesse grupo são citadas as cultivares Duke e Aurora (SANTOS, 2015). A cultivar Duke que possui frutos de boa qualidade, arredondados, com diâmetro de cerca de 12 mm, peso chega a 2 g, coloração de tonalidade azulada, o sabor é doce com uma adstringência picante, pequena cicatriz, boa firmeza (PEREIRA et al., 2013).

b) Grupo Southern Highbush (*Vaccinium* sp.)

Possuem baixa exigência em frio (entre 200 e 600 horas) e curtos períodos de maturação e colheita. As principais cultivares deste grupo foram desenvolvidas através de hibridações entre *V. corymbosum*, *Vaccinium darrowi* e *V. ashei*. Apresentam produção de frutos mais temporã em relação aos outros grupos (MEYER e PRINSLOO, 2003). Como cultivares, são citadas a Bluecrop e a Jersey (SANTOS, 2015).

c) Grupo Rabbiteye (*Vaccinium ashei*)

Este grupo é constituído por híbridos da espécie *Vaccinium ashei* Reade. São plantas muito vigorosas, podendo alcançar de dois a quatro metros de altura. Apresentam elevada produtividade, longevidade e são tolerantes ao calor e à seca. As cultivares desse grupo adaptam-se bem a regiões de pouco frio (entre 300 ou mais horas de frio). Produzem frutos pequenos a médios, ácidos, firmes e de menor conservação. Dentre as cultivares estão: Beckyblue, Bonita, Brightwell, Clímax, Premier, Tifblue e Woodard (ECK et al., 1990, SANTOS, 2015).

A cultivar Woodard é originária de Tifton, Geórgia, sendo oriunda do cruzamento entre 'Ethel' e 'Callaway'. Os frutos têm boa aparência, possuem uma película azul claro, considerados macios, com cerca de 11 mm, podendo atingir 1,4 g, possui menor exigência em horas de frio e maior precocidade

produtiva. A maturação é pouco mais tardia que 'Clímax' (cultivar do mesmo grupo) (RASEIRA & ANTUNES, 2004).

2.2.2. Exigências edafoclimáticas

O mirtilheiro possui exigência de solo com bom teor de matéria orgânica, boa drenagem, arejado e ácido (pH entre 4,5 e 5,2). Solos arenosos, franco-arenosos e franco-argilosos são os mais indicados para o bom crescimento das plantas (WILLIAMSON et al., 2006; FONSECA & OLIVEIRA, 2007; MASABNI, 2007; SANTOS, 2015).

As necessidades hídricas de uma planta adulta em condições de campo situam-se aproximadamente entre dois a seis litros de água por dia, contabilizando em torno de 35 litros por planta por semana, sendo o período desde o início da frutificação até à colheita o de maior demanda em termos hídricos (GONÇALVES, 2013; SANTOS, 2014; SANTOS, 2015).

Para um bom desenvolvimento vegetativo a planta exige dias longos, enquanto para a iniciação floral é necessário o encurtamento do dia (HALL et al., 1963). Quanto ao frio, durante a fase de repouso vegetativo este é um fator preponderante na produção, enquanto o comportamento em relação à resistência às geadas é relativo entre as cultivares durante a fase mais crítica que é a floração. (SANTOS, 2015).

De acordo com Santos (2011), existem cultivares de mirtilheiro adaptadas às condições climáticas de cultivo que vão desde regiões com 300 horas de frio abaixo de 7,2° C, até locais com mais de 1100 horas de frio. Geralmente, as gemas floríferas possuem menores necessidades de frio que as gemas vegetativas; conseqüentemente, a abertura das gemas de flor ocorre, normalmente, antes da brotação das gemas vegetativas (GALLETA, 1975).

No período de floração, que abrange de 50 a 90 dias, as temperaturas altas exercerão um papel importante, bem como na fase inicial e crescimento do fruto. Além disso, o fotoperíodo longo e a ocorrência de temperaturas noturnas menores irão refletir diretamente na qualidade dos frutos durante a fase de maturação (SANTOS, 2014).

A temperatura ótima de crescimento da planta está na faixa de 20 a 25°C, mas temperaturas superiores a 30°C reduzem a taxa fotossintética. Noites quentes 21°C reduzem a frutificação efetiva e o tamanho da fruta no grupo Rabbiteye, em comparação a noites mais amenas 10°C, (DARNELL, 2006).

Com relação à luminosidade, é considerada uma planta de meia sombra. Dessa forma, pode ser vantajoso o cultivo em ambiente com redução da incidência solar através do sombreamento, ou a condução em ambientes protegidos em regiões com elevada insolação. Todavia, a boa exposição solar confere frutos com menor teor em acidez e maior teor de açúcar (GONÇALVES, 2013).

2.2.3 Fenologia

A fenologia pode ser definida como o estudo dos fenômenos naturais que ocorrem periodicamente no ciclo das plantas, em função das variações climáticas (TOURÓN, 2005). A caracterização fenológica permite o detalhamento da descrição do ciclo da planta, possibilitando, desta forma, determinar o melhor momento para a realização de tratamentos culturais ou verificar a ocorrência de um evento importante, como a geada ou déficit hídrico, associados a estádios bem definidos (PASCALE & DAMARIO, 2004).

A determinação da fenologia do mirtilheiro (Figura 6), pode ser feita com base na escala de classificação dos estados fenológicos do mirtilo, da Universidade de Michigan – Escala MSU, sendo:

- a) Inchamento da gema:** quando as gemas começam a inchar aumentando de volume e a abrir, sendo visíveis as escamas mais claras do interior.
- b) Abrolhamento:** as gemas florais nessa fase se abrem, identificando-se as flores entre as escamas.
- c) Gema floral verde:** As flores individuais ainda fechadas começam a separar-se, sendo distinguíveis na inflorescência.
- d) Gema inicial rosa:** As corolas adquirem tom rosa, alongam-se, mas encontram-se fechadas.

- e) **Gema final rosa:** As corolas atingem o tamanho final. As flores da inflorescência estão completamente separadas e começam a adquirir cor branca.
- f) **Início da floração:** Cerca de 10% das flores já estão abertas.
- g) **Plena floração:** Pelo menos 50% das flores estão abertas.
- h) **Queda das corolas:** Fim da floração, as corolas brancas começam a cair, observando-se os pequenos frutos verdes.
- i) **Crescimento do fruto:** As pequenas bagas verdes crescem atingindo cerca de 10% do seu tamanho final. No entanto os tamanhos das bagas variam desde bagas grandes a tamanho de ervilha.
- j) **Fruto verde:** Cerca de 80% das bagas atingem o tamanho final e apresenta cor verde com alguns tons rosa claro.
- k) **10% de fruto maduro:** Cerca de 10% das bagas isoladas estão maduras e prontas para a colheita.
- l) **25% de fruto maduro:** Cerca de 25% das bagas isoladas estão maduras e prontas para a colheita. Esta fase por vezes coincide com a primeira colheita das bagas maduras.
- m) **75% de fruto maduro:** Os Mirtilos são colhidos consoantes amadurecem. Por vezes em 2 ou 3 colheitas. Este estado fenológico às vezes coincide com a 2ª colheita, podendo nunca ser observado no campo. Conforme o diagrama descrito: a escala de observação integrando a escala de classificação da Universidade de Michigan, EUA para o mirtilo.



Figura 6. Inchaço da gema (a), Abrolhamento (b), gema inicial rosa (c), Gema final rosa (d), início da floração (e), plena floração (f), queda das corolas (g), crescimento do fruto (h) fruto verde (i), 10% de fruto maduro (j), 25% de fruto maduro (l), 75% de fruto maduro (m). UFPel - Capão do Leão, 2021.

O mirtilheiro apresenta um ciclo de desenvolvimento anual entre o período de dormência e o período de crescimento vegetativo. Geralmente, as folhas no período de outono começam a apresentar uma coloração avermelhada e o próximo evento é a queda das folhas em cultivares decíduas. Dessa forma, a planta armazena reservas e prepara-se para o crescimento do próximo ano. No final do Inverno, início da primavera, atendidas as exigências em frio, as gemas florais e gemas vegetativas iniciam o seu desenvolvimento (SANTOS, 2015).

O período entre o desenvolvimento das gemas florais até à floração é denominado de período de crescimento, e a velocidade a que se processa está diretamente relacionada com a temperatura do ar e o fotoperíodo (CHUINE et al., 2003).

O crescimento vegetativo inicia com o inchamento das gemas vegetativas no início da primavera, enquanto as folhas começam a se desenvolver. O abrolhamento das gemas vegetativas na primavera, depois da acumulação de frio (Darnell, 2006), tende a ocorrer mais lentamente que o abrolhamento das gemas florais, dependendo da cultivar, duração do frio e temperatura na primavera.

Os ramos podem ter um, dois ou múltiplos fluxos de crescimento dependendo da cultivar e das condições ambientais (SHUTAK et al., 1980; RETAMALES & HANCOCK, 2012). Há uma tendência para as cultivares precoces terem mais fluxos de crescimento que as outras. Ademais, o crescimento é renovado quando uma gema axilar sai do período de dormência (GOUGH, 1994).

Uma gema vegetativa possui até seis primórdios foliares, que no abrolhamento encontram-se bastante aglomerados em torno do pecíolo, mas que com o tempo se separam pela expansão dos entrenós. Quando os ramos crescem, novas folhas são iniciadas no ápice do ramo a cada cinco dias (GOUGH & SHUTAK, 1978; RETAMALES & HANCOCK, 2012).

A floração inicia-se quando a coroa de pétalas abre em pelo menos uma flor. Sua ocorrência varia de acordo com as cultivares (MARTINS, LOPES, & LOPES, 2015).

Segundo um estudo realizado por Darnell & Davies (1990), em plantas de três anos das cultivares do grupo Rabbiteye, como a Woodard, sujeita a diferentes tratamentos de frio, o aumento da quantidade de frio antecipou em 50% o abrolhamento das gemas florais e vegetativas. Estes autores observaram ainda que a percentagem de abrolhamento das gemas florais aumentou com o aumento da duração da exposição ao frio dessa cultivar.

Os frutos apresentam uma curva de crescimento (RETAMALES & HANCOCK, 2012), ou seja, a fase inicial caracteriza-se por um rápido aumento do volume da baga e dura cerca de um mês. Na próxima fase, o tamanho do fruto aumenta pouco, mas os embriões no interior das sementes desenvolvem-se e amadurecem (FONSECA & OLIVEIRA, 2007).

Na última fase há um acúmulo de açúcares e a baga passa de verde a azul, devido ao acúmulo de antocianinas (DARNELL 2006). O número de sementes tem uma influência significativa no tamanho final do fruto nos grupos Northern Highbush, Southern Highbush e Rabbiteye (RETAMALES & HANCOCK, 2012).

O sistema radicular tem dois picos de crescimento, começando perto do vingamento e estendendo-se até à fase de crescimento de fruto verde. O outro pico ocorre após a colheita e cessa antes da planta entrar no período de dormência (ABBOTT & GOUGH, 1987; RETAMALES & HANCOCK, 2012). O crescimento lento das raízes no início do verão coincide com o crescimento e maturação dos frutos, uma vez que estes são o destino preferencial dos foto-assimilados.

2.2.4 Dormência e frio artificial

A dormência refere-se ao período que a planta acumula reservas para garantir a sua brotação e a produção, ou seja, é uma fase de resultante da adaptação das plantas, devido à alta resistência dos órgãos vegetais dormentes, a parada do crescimento e o estabelecimento da dormência antes do início da estação desfavorável asseguram a sobrevivência das plantas (SAURE, 1985).

Em plantas de clima temperado, a dormência de gemas parece ser uma típica resposta, iniciada pelos dias curtos do outono (frio). Estas respostas requerem um mecanismo sensorial que detecta a mudança ambiental. Nestes casos, o fitocromo está envolvido e a folha é o órgão que percebe o estímulo fotoperiódico (FERRI, 1985).

A dormência de mirtilheiro (Figura 9) está localizada nas gemas, o que faz com que as exigências em frio variem dentro de uma mesma planta, em função do estado nutricional e da localização das gemas (EPAGRI, 2006).

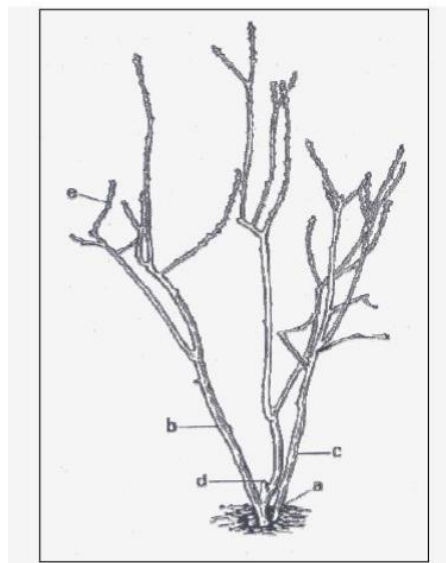


Figura 7. Mirtilheiro dormente. a: coroa; b: ramo principal; c: ramos de renovação; d: ramo podado; e: ramo lateral do ano com gomos vegetativos e florais. Fonte: Fonseca & Oliveira, 2007.

A dormência ocorre no outono e inicia-se com o aumento da concentração de ácido abscísico e de giberelinas, fazendo cessar o crescimento das plantas. Ocorre acúmulo de amido, e proteção das gemas, e primórdios florais, das baixas temperaturas, seguido, então, um período sem atividade aparente por imposição das condições ambientais desfavoráveis, com o intuito de reiniciarem o crescimento na primavera (TAVARES, 2016).

Pinto (2015) estudou o efeito das horas de frio na precocidade e volume de produção em três cultivares de mirtilheiro (duas do tipo Northern Highbush, e uma do tipo Southern Highbush), usando como recurso o frio artificial. Da mesma forma, Parente (2014) avaliou o efeito do frio artificial na superação da dormência e produtividade do mirtilheiro. Nesses trabalhos, o tratamento com aporte em horas de frio apresentou influência positiva para a cultivar Duke, tanto na antecipação da entrada em produção quanto no volume de produção.

3. Capítulo I – Condição fotoautotrófica e sacarose na multiplicação *in vitro* de mirtilheiro ‘Duke’ em duas épocas

3.1 Introdução

A cultura do mirtilheiro (*Vaccinium spp*) vem sendo estudada no sentido de desenvolver sistemas de produção mais competitivos, visando a expansão dessa frutífera, que apresenta excelentes oportunidades de negócio (RUFATO & ANTUNES, 2016).

Para a produção de mudas, a micropropagação apresenta-se como uma técnica eficaz, garantindo qualidade e reduzindo o tempo de formação das mudas de mirtilheiro (DAMIANI & SCHUCH, 2008; PELIZZA et al., 2013). Apesar dessas vantagens, o investimento inicial, a manutenção da infraestrutura, os componentes do meio de cultura e a escassez de protocolos que contribuem para elevação do custo da muda micropropagada em relação ao da muda convencional (ROCHA, 2013).

Dentre as estratégias adotadas, estudos direcionados à substituição de lâmpadas fluorescentes por luz natural, aliado a redução de níveis exógenos de sacarose buscam viabilizar esse método de cultivo (KODYM & ZAPATA-ARIAS 2001). Segundo Silva et al. (2008), a irradiância solar possibilita a maior diferenciação e organização dos tecidos, bem como maior controle estomático, o que pode reduzir as perdas durante a fase de aclimatização. Além disso, a utilização de um sistema de ventilação natural, ou seja, frascos que permitam trocas gasosas têm sido estudados, no intuito de aumentar a taxa fotossintética *in vitro*, visando produzir plantas mais rústicas (SILVA et al., 2014).

Dentre as vantagens da micropropagação fotoautotrófica associada à luz natural estão: aumento do crescimento das plantas; redução do risco de contaminação microbiana, em virtude da remoção da sacarose do meio; melhoria das características fisiológicas da planta, devido às condições ambientais de cultivo; redução do estresse durante a aclimatização; aumento da percentagem de sobrevivência das mudas (HEMPEL, 1994; ZOBAYED et al.,

2000, 2001; AFREEN et al., 2002; KOZAI et al., 2003), eliminação dos custos com iluminação e redução com reparos e manutenção, e ainda, possibilidade de utilização de instalações simplificadas, reduzindo os custos das construções (KODYM & ZAPATA-ARIAS, 1999).

Os benefícios da luz natural foram descritos por autores que trabalharam com a micropropagação de mirtileiro (DAMIANI & SCHUCH, 2008), bananeira (*Musa spp*) (COSTA et al., 2009), abacaxizeiro (*Ananas comosus*) (COUTO et al., 2014; MENDES et al., 2015) e crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (BRAGA et al., 2010). Apesar disso, deve-se considerar as diferentes estações do ano para a realização micropropagação fotoautotrófica, devido a variação na luminosidade na casa de vegetação.

Com base nesses aspectos, a avaliação dessa técnica em diferentes épocas permitirá obter um comparativo com ambientes de cultivo tradicional, como sala de crescimento. Porém, considerando a escassez de informações sobre alternativas para ajustes nos protocolos de micropropagação de mirtileiros, o objetivo desse trabalho foi verificar a influência do cultivo *in vitro* fotoautotrófico, aliado à presença (ou ausência) de sacarose no meio de cultivo durante a multiplicação *in vitro* de mirtileiro 'Duke' em duas épocas.

3.2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no período de junho a dezembro de 2017, no laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas (Labagro) pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), localizada no município de Capão do Leão, RS.

O material utilizado foram explantes de mirtileiro 'Duke' com duas folhas e cerca de 3 ± 4 cm previamente estabelecidos *in vitro* no Labagro.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema trifatorial $3 \times 2 \times 2$ (três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g.L⁻¹), dois ambientes (sala de crescimento e casa de vegetação) e duas épocas do ano

(verão e inverno), totalizando 12 tratamentos com 10 repetições de cinco explantes.

Os explantes foram transferidos para erlenmeyer de 250 mL, vedados com alumínio e celofane transparente contendo 30 mL do meio de cultura WPM (Wood Plant Media – Lloyd & McCown, 1980) indicado para espécies lenhosas (MELO et al., 1999) (LLOYD & McCOWN, 1981), suplementado com 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 0, 15 e 30 g.L⁻¹ de sacarose conforme o tratamento, 5 mg.L⁻¹ de 2Ip (2-isopentenil adenina) e 6 g.L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,0 antes da inclusão do ágar, e posteriormente, autoclavado a 121 °C e 1,5 atm, por 20 minutos.

Após o preparo do meio, os frascos de cultivo foram transferidos para sala de crescimento (Figura 8), com 16 horas de fotoperíodo, temperatura de 25 ± 2°C e densidade de fluxo de fótons do período de luz de 42μmol m⁻² s⁻¹, bem como para casa de vegetação (Figura 9) com temperatura controlada com o auxílio de um medidor de umidade e Temperatura Eletrônico Lcd Exbom - Pz-htc2®, sendo a temperatura mantida a 25 ± 2°C.



Figura 8. Explantes de mirtileiro 'Duke' em erlenmeyer com meio de cultura na sala de crescimento. UFPel - Capão do Leão, 2021.



Figura 9. Explantes de mirtilleiro 'Duke' em erlenmeyer com meio de cultura sobre a bancada na casa de vegetação. UFPel - Capão do Leão, 2021.

Após 60 dias foram avaliadas: sobrevivência (%) comprimento médio das brotações (cm), número de brotações, taxa de multiplicação (número de brotações/explantes), altura da maior brotação (cm) e número de folhas. Para a avaliação do comprimento médio das brotações e altura da maior brotação foi utilizada régua graduada.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA. As médias, quando significativas, foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Regressões entre variáveis estabelecidas foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

3.3. Resultados e discussão

Houve interação entre os fatores de estudo concentração de sacarose, ambientes e época do ano para todas as variáveis estudadas.

Quanto ao percentual de sobrevivência, independente do tratamento, constatou-se, em média, 80% de sobrevivência dos explantes. A sobrevivência é uma variável importante, visto que poderá interferir no retorno financeiro obtido pelo produtor.

Em relação ao comprimento médio das brotações, na multiplicação *in vitro* dos explantes em condições fotoautotróficas (luz natural e ausência de

sacarose) realizada no período de verão não houve diferença estatística em relação aos que foram mantidos em sala de crescimento. Por outro lado, no inverno foram verificadas respostas significativas em meio sem sacarose, com médias de 0,89 e 1,05 cm, tanto na casa de vegetação como na sala de crescimento, respectivamente (Figura 10).

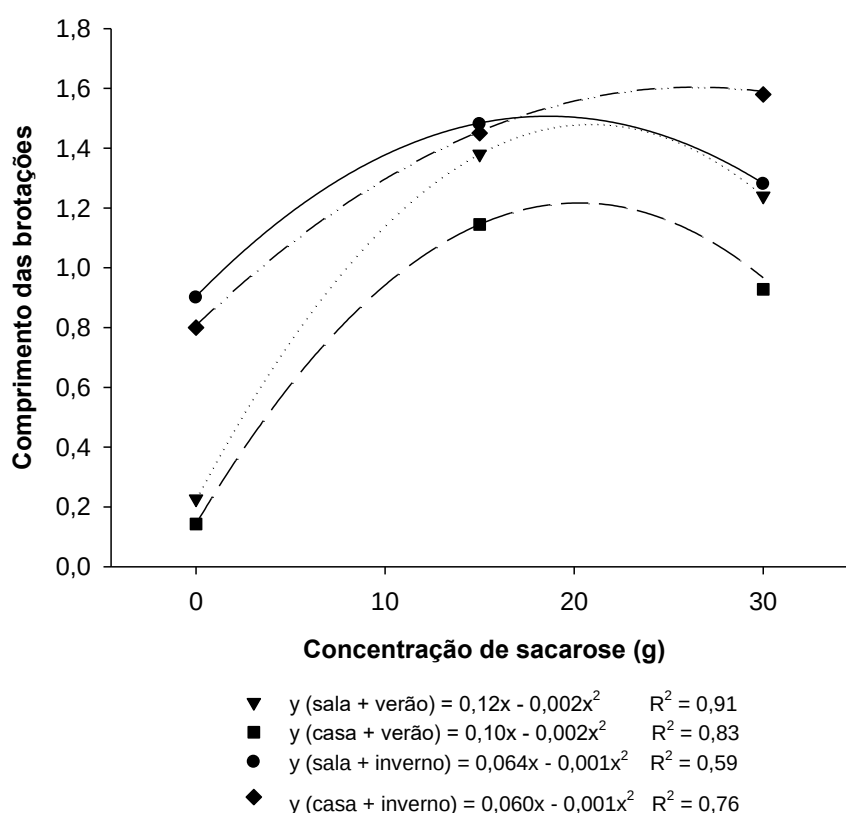


Figura 10. Comprimento médio das brotações (cm) em explantes do mirtilheiro 'Duke' multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais, e época de cultivo. UFPel - Capão do Leão 2021.

Damiani e Schuch (2008), ao trabalharem com a multiplicação *in vitro* de mirtilheiro cultivar Delite em condição fotoautotrófica (luz natural) verificaram que não houve alteração no comprimento médio das brotações em relação ao método convencional, com luminosidade controlada.

Quanto ao uso de sacarose, a concentração 30 g.L⁻¹ foi mais favorável para o comprimento das brotações na casa de vegetação no inverno. Porém, não houve diferença significativa para o comprimento das brotações no meio de cultura em que foi utilizado 15 g.L⁻¹ de sacarose na sala de crescimento nas duas

épocas (verão e inverno), bem como na casa de vegetação no inverno. Somente no verão o comprimento das brotações mantidos na casa de vegetação foi menor que os demais (Figura 10).

Masieiro (2017) registrou maior média de comprimento das brotações de batata-doce (*Ipomoea batatas*) 'BRS Cuia' cultivada *in vitro* utilizando 30 g. L⁻¹ de sacarose. Rocha et al. (2013) e Ribeiro et al. (2015) explicam que a concentração de sacarose adicionada ao meio de cultura pode influenciar positivamente o desempenho de algumas espécies, devido aos efeitos sobre o aporte de energia para o explante e a manutenção do potencial osmótico do meio.

Para o número médio de brotação por explante houve também uma interação entre os fatores estudados. Apenas durante o inverno houve maior número de brotações nos explantes que estavam em sala de crescimento e no meio de cultura com 15 g. L⁻¹ de sacarose. Em contrapartida, verificou-se

decréscimo acentuado quando a concentração de sacarose foi 30 g. L⁻¹ (Figura 11).

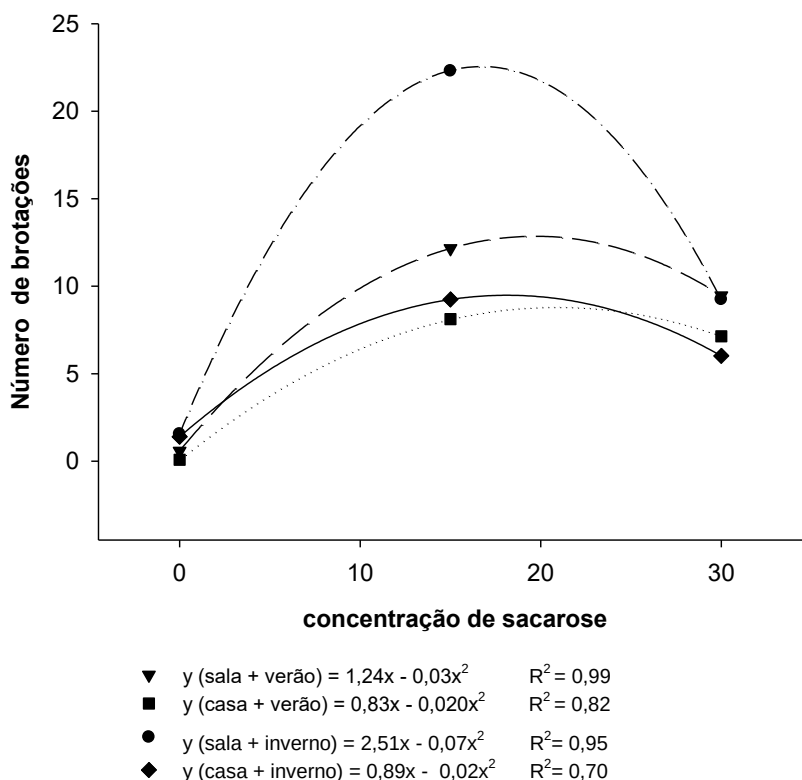


Figura 11. Número de brotações, em explantes do mirtilleiro 'Duke' multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel - Capão do Leão, 2021.

CAO et al. (2003), observaram que para a cultivar de mirtilleiro Georgiagem a concentração ótima de sacarose no meio de cultura varia de 15 a 29 g. L⁻¹. Além disso, Leitzke (2009) trabalhando com a amoreira-preta 'Xavante', que também faz parte do grupo das pequenas frutas, citou maior número de brotações com as plantas mantidas na sala de crescimento com 30g. L⁻¹ de sacarose.

Outros estudos sobre esse tema foram realizados por Silva et al. (2012), que concluíram que na fase de multiplicação a luz natural resultou em menor número de brotações para o abacaxizeiro (*Ananas comosus*), mas perceberam que a presença de sacarose não mostrou efeito positivo para essa variável. Entretanto, no caso do ginseng-brasileiro (*Pfaffia glomerata*) cultivado *in vitro*,

Nicoloso et al. (2003) observaram que a elevação da concentração de sacarose de 45 até 60g L⁻¹ promoveu melhor aclimatização das mudas.

Tais dados evidenciam que tanto o ambiente em que os explantes são mantidos quanto a concentração de sacarose ideal varia em função da espécie.

Quanto à taxa de multiplicação (Figura 12), o uso de 15 g.L⁻¹ de sacarose propiciou as maiores médias na sala de crescimento no inverno. Esse fato pode estar associado à explantes cultivados nesse período geralmente apresentam maior taxa de sobrevivência (57%) em comparação com os explantes cultivados nas mesmas condições no período de verão. Além disso, no inverno e início de primavera as temperaturas estão geralmente abaixo do mínimo requerido para muitas bactérias, dessa forma ocorre menor problema de perda com contaminação (AGRIOS, 1978).

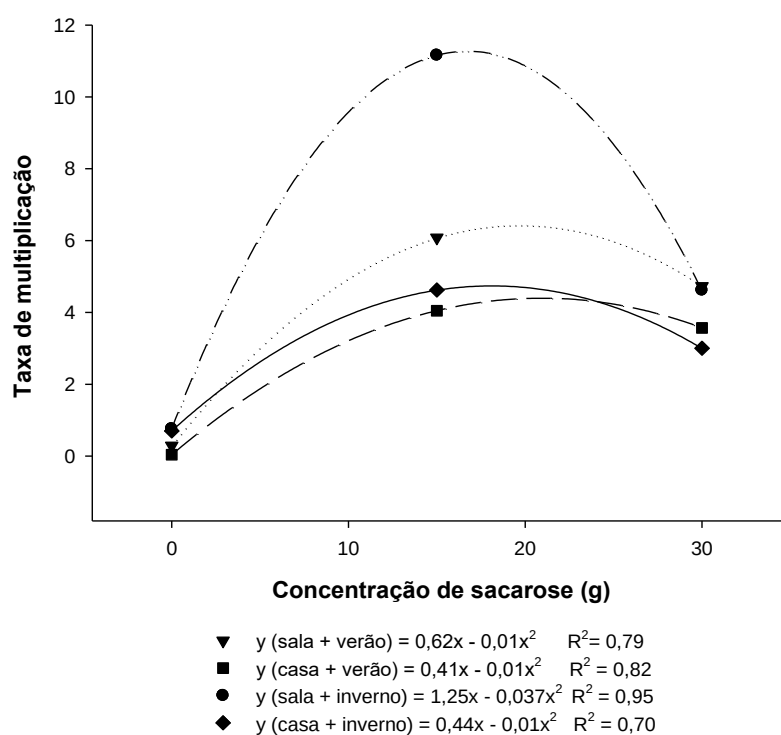


Figura 12. Taxa de multiplicação (%) de explantes do mirtilheiro ‘Duke’ multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel – Capão do Leão, 2021.

Faria et al. (2004) observaram que a maior taxa de multiplicação da orquídea *Dendrobium nobile* foi obtida com 60 g. L⁻¹ de sacarose.

Em relação ao ambiente, Kodym & Zapata-arias (1999) constataram que na micropropagação de bananeira os explantes sob luz natural apresentaram maior taxa de multiplicação em comparação aos que permaneceram em sala de crescimento.

Para a altura da maior brotação (Figura 13), houve maior incremento quando adicionado 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio de cultura na sala de crescimento em ambas as épocas; e menor quando não foi acrescido sacarose ao meio de cultura. Isso pode ser justificado pelo fato dos carboidratos fornecerem energia metabólica e esqueletos carbônicos para a biossíntese de aminoácidos e proteínas, polissacarídeos estruturais, como celulose e todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento (MENDES et al., 2015).

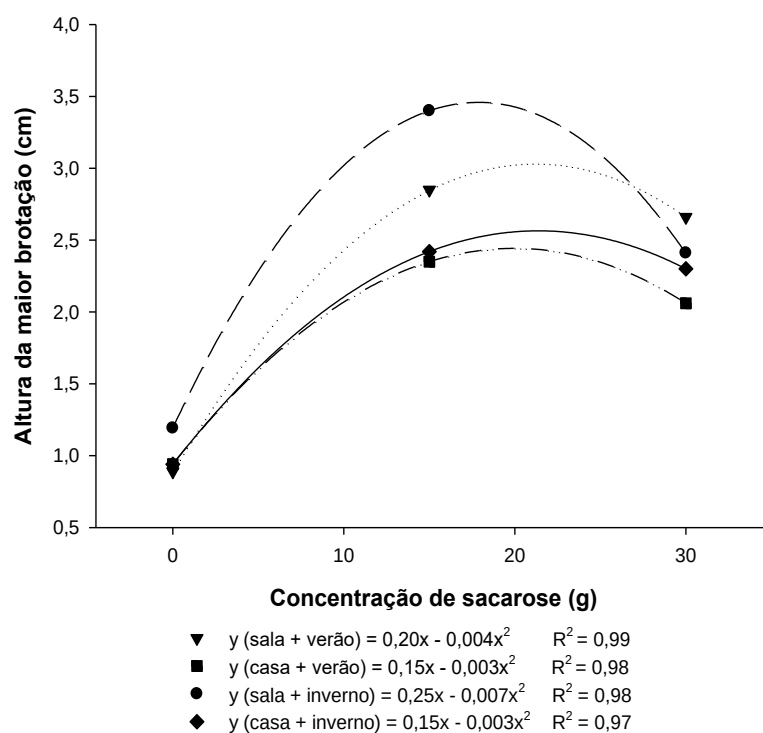


Figura 13. Altura da maior brotação do mirtilleiro 'Duke' multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel – Capão do Leão, 2021.

Costa et al., (2009) em experimento com crescimento e anatomia foliar de bananeiras submetidas a diferentes condições de cultivo *in vitro* das cultivares Caipira e Pacovan, registraram maior média para a altura da parte aérea quando

ambas foram mantidas em ambiente artificial; inclusive, para a cultivar Pacovan, a maior altura da parte aérea ocorreu mediante o uso de 15 g.L⁻¹ de sacarose.

Na Figura 14 constam os dados referentes ao número de folhas. Verifica-se que houve interação significativa de acordo com a concentração de sacarose, os locais e as épocas de cultivo.

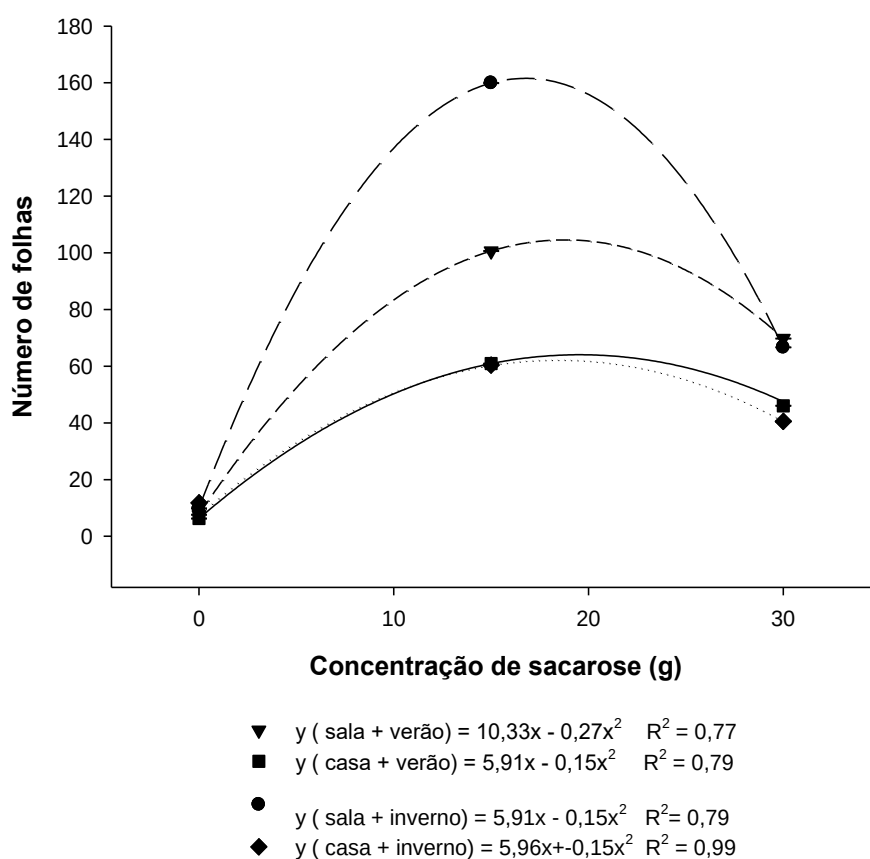


Figura 14. Número de folhas dos explantes do mirtilheiro 'Duke' multiplicados *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose, locais e épocas de cultivo. UFPel – Capão do Leão, 2021.

A ausência de sacarose no meio de cultura sob luz artificial e natural resultou em menor número de folhas, enquanto o acréscimo de 15 g. L⁻¹ de sacarose propiciou o maior número de folhas dos explantes cultivados na sala de crescimento no inverno e na casa de vegetação no verão. Observa-se

também na sala de crescimento o uso de 30 g.L⁻¹ de sacarose foi mais favorável para o estudo realizado no inverno (Figura 14).

Segundo Cardoso et al. (2018), a maior produção de folhas pode ser explicada pela relação fonte-dreno, uma vez que quanto maior acúmulo de sacarose (açúcar formador de amido) nas folhas, maior a migração para as raízes. As folhas são fundamentais para a sobrevivência por serem o principal órgão responsável pela fotossíntese. Para cumprirem seu papel, as folhas devem ser expostas a luz solar e ao ar; porém, em algumas situações a fotossíntese é limitada por um suprimento inadequado de luz ou CO₂ (TAIZ & ZEIGER 2013).

Os resultados obtidos no presente trabalho podem estar relacionados com o relato de autores que afirmam que concentrações de sacarose de 30g. L⁻¹ ou superiores no meio de cultivo ocasionam a diminuição da absorção de sais e água, propiciam o aumento do potencial osmótico e podem interferir no crescimento da planta (BESSON et al., 2010; BANDINELLI et al., 2013). Da mesma forma, Lemes et al. (2016) em experimento com a orquídea *Miltonia flavescens*, afirmaram que ocorreu a diminuição na quantidade de folhas com o aumento de sacarose no meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962).

Em síntese, no presente trabalho verifica-se, de modo geral, que a adição de 15 g. L⁻¹ de sacarose promoveu incremento nas variáveis de crescimento, apesar das vantagens de não a usar no meio de cultura em relação à redução de custos. Além disso, a sala de crescimento e o inverno foram mais favoráveis

à multiplicação do mirtilheiro 'Duke' nas condições em que o experimento foi realizado.

3.4. Conclusão

A multiplicação *in vitro* de mirtilheiro 'Duke' é mais favorável quando realizada em sala de crescimento e em meio de cultura com 15 g. L⁻¹ de sacarose no período do inverno.

4. Capítulo II - Crescimento vegetativo de mirtilheiros cultivados em diferentes condições de frio

4.1. Introdução

A produção de mirtilheiro se expandiu para áreas de cultivo não tradicionais em todo o mundo, devido a utilização de cultivares mais adaptadas e ao aperfeiçoamento de técnicas de manejo e cultivo (FANG et al., 2020).

Segundo Banados (2009) e Finn et al. (2014), a adoção de métodos alternativos aprimorados permitiu o cultivo em áreas, como a África do Sul, Espanha, Marrocos, México, Chile, China, Peru e Argentina.

Os sistemas de produção alternativos visam aumentar a produtividade total e reduzir o período de fluxo de caixa negativo na entressafra (FINN et al., 2014; REMATALES & HANCOCK, 2018). Dessa forma, combinam práticas agrícolas como controle do clima, irrigação, fertilização e manejo especializado tornando mais eficaz, o uso de insumos, além da redução da juvenilidade das plantas (FANG et al., 2020).

Um dos fatores primordiais visando o sucesso na adoção desses sistemas é o conhecimento das características e do comportamento de cultivares, de acordo com fatores ambientais de cada região.

Moura (2013) descreveu que o mirtilheiro apresenta melhor desenvolvimento em solos arenosos ou francos arenosos e, com pH entre 4,5 entre 5,5. Além disso, suas raízes finas e fibrosas tem pouca capacidade de penetração no solo, o que dificulta a absorção de nutrientes e água (FONSECA, 2007). Porém, a disponibilidade limitada de solos adequados e a exigência de elevadas horas de frio hibernal ($\leq 7,2^{\circ}\text{C}$) de cultivares mais produtivas induz os produtores a buscarem outras opções para a produção (OCHMIAN et al., 2019).

Uma das alternativas é o cultivo de mirtilheiros em vasos, que ganhou popularidade em países como EUA e Portugal, tendo em vista que os substratos permitem o cultivo em regiões com limitações edáficas, como salinidade,

presença de resíduo químico, além de patógenos no solo (VOOGT et al., 2014; OLYMPIOS, 1999), entre outros.

Dentre os substratos que podem ser usados para o cultivo em recipiente está a casca de arroz, resíduo encontrado principalmente nas regiões produtoras de arroz (*Oryza sativa*) e que vem sendo utilizada como substrato após passar pelo processo de carbonização, podendo ser combinada com outros materiais, como fibra de coco, vermiculita e casca de pinus na formulação de substratos (KRATZ et al., 2012, SILVA et al., 2012).

O cultivo em vasos também permite que os produtores ajustem o espaçamento das plantas com base no crescimento e possibilita a utilização de câmara frigorífica para complementar as horas de frio exigidas, de acordo com a cultivar (WHIDDEN, 2008; VOOGT et al., 2014). Alguns autores, como Parente (2014) e Pinto (2015) testaram a utilização de frio artificial para superação da dormência em diferentes cultivares de mirtilheiro em Portugal.

Apesar desses estudos, há ainda necessidade de pesquisas específicas sobre manejo nas diferentes condições edafoclimáticas para os grupos cujo cultivo é mais expressivo, como Rabbiteye e Highbush (COUTINHO et al., 2007). Outra lacuna é a falta de conhecimento sobre o crescimento vegetativo e desenvolvimento de mirtilheiros cultivados em recipiente com aporte em frio no Sul do Brasil, o que reitera a importância de estudos sobre o tema.

Com base no exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o crescimento vegetativo de mirtilheiros em vasos cultivados em diferentes condições de frio.

4.2. Material e Métodos

O trabalho foi realizado no período de março de 2018 a janeiro de 2020, no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas (Labagro), da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), localizado no Capão do Leão – RS. Conforme a classificação de Koppen, o clima é classificado como Cfa, é úmido e temperado apresentando um ou mais meses com temperaturas médias inferiores a 18°C, verões quentes (22,9°C, em média) e invernos frescos (13,2°C, em média).

O material utilizado para avaliação do crescimento vegetativo foram mudas de mirtilheiro 'Duke' e 'Woodard' micropropagadas no Labagro e enraizadas *ex vitro* na casa de vegetação da UFPel.

O delineamento experimental foi em esquema trifatorial 2 x 2 x 5 (dois ambientes (ar livre e frio artificial); duas cultivares (Woodard e Duke) e cinco períodos de avaliação (90, 180, 270, 360 e 450 dias), resultando em 20 tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição constituída por cinco plantas.

As mudas com cerca de 50 cm foram transplantadas para vasos de polietileno preto de 20 litros contendo casca de arroz carbonizada e uma camada de isopor no fundo, visando a drenagem.

Após 103 dias, 25 vasos de cada cultivar Duke e Woodard foram transferidos para uma câmara frigorífica modelo Mirafrio Mf2® com temperatura de 4 a 6 °C constante, sendo que as mudas da cultivar Woodard permaneceram durante 27 dias (648 h) e as da cultivar Duke permaneceram durante 36 dias (864 h) essa diferença foi de acordo com a exigência década cultivar.

Em seguida, os vasos contendo as mudas de ambas as cultivares foram levados novamente junto as 25 restantes de cada cultivar (Figura 15).



Figura 15. Mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard' em vasos durante a condução do experimento. UFPel. Capão do Leão - 2021.

Os tratos culturais foram realizados de acordo com Raseira e Antunes (2004). Em função do tamanho das mudas, a poda foi feita somente no segundo ano de cultivo. A cada quinze dias foi fornecida solução nutritiva desenvolvida por

Schuch e Peil (2011), com a formulação de macronutrientes e micronutrientes, de acordo com as necessidades da cultura.

As primeiras avaliações, realizadas após 90 dias de instalação do experimento, foram: altura da maior haste (cm), número e comprimento médio das hastes (cm). Após esse período, as avaliações de crescimento foram realizadas a cada 90 dias, durante 18 meses. Na última avaliação (aos 18 meses), verificou-se também o comprimento e a massa de matéria seca da raiz (g).

A medição da altura da maior haste da planta foi realizada na maior brotação da muda, a partir da superfície do substrato à gema apical. Para o comprimento médio das hastes determinou-se a medida de todas as hastes por planta e, em seguida, a média. Em ambas as avaliações foi utilizada uma trena. Para o número de hastes, foi realizada a contagem de todas as hastes por planta.

O comprimento das raízes foi mensurado após os 450 dias, com auxílio de fita métrica logo após a retirada das plantas dos vasos. Para obtenção da massa de matéria seca da raiz o material foi colocado em estufa Quimis® com ventilação forçada a 50°C até obtenção de massa constante.

A determinação das características químicas dos substratos (Tabela 1), como pH e condutividade elétrica ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$) e das propriedades físicas, como capacidade de retenção de água ($\text{ml}.\text{L}^{-1}$) e densidade ($\text{g}.\text{L}^{-1}$) foi realizada na instalação e no final do segundo experimento, conforme KÄMPF et al. (2006).

Tabela 1. Valores médios de potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (CE), capacidade de retenção de água (CRA) e densidade (D) no substrato casca de arroz carbonizada (CAC) na instalação do experimento (1) e na última avaliação (2). Capão do Leão-RS, 2018.

Substrato	Avaliação			
	pH	CE ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$)	CRA ($\text{ml}.\text{L}^{-1}$)	D ($\text{g}.\text{L}^{-1}$)
CAC (1)	7,26	0,4	194,99	105,8
CAC (2)	6,1	0,3	293,49	185,5

As médias mensais de temperatura foram obtidas na Estação Agro climatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2019 (Figura 16 e 17).

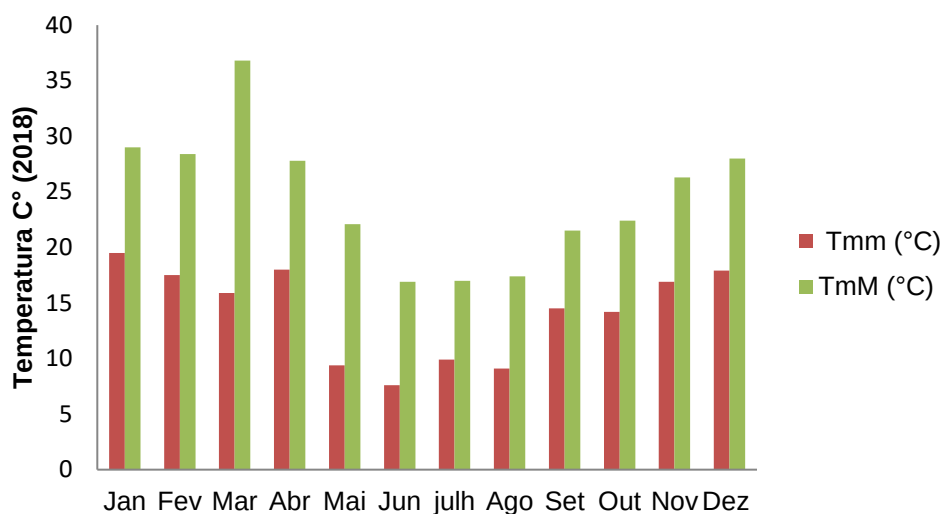


Figura 16. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2018 da Estação Agro climatológica de Pelotas, – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021.

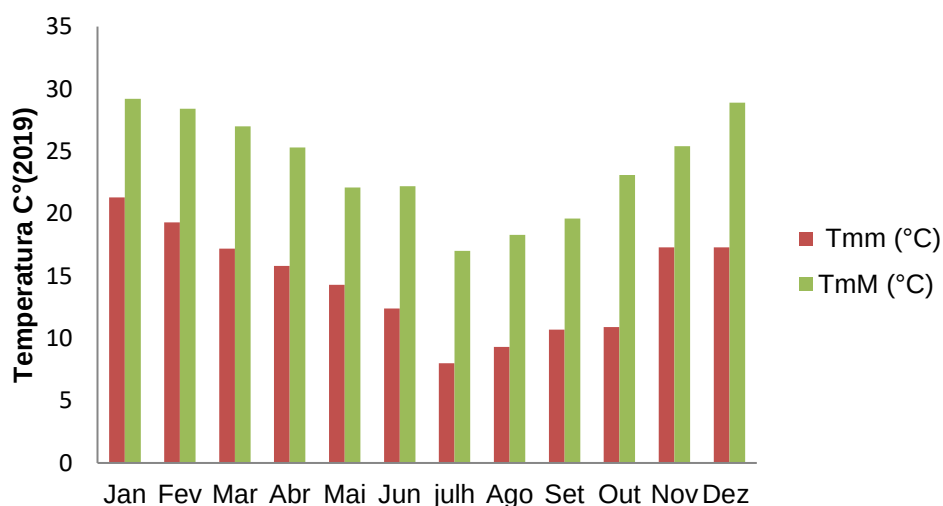


Figura 17. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2019 da Estação Agroclimatológica de Pelotas – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021.

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, quando detectada significância pela análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Foi feita análise de regressão e as regressões entre variáveis estabelecidas foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

4.3. Resultados e Discussão

Para a altura da maior haste houve interação entre os fatores ambiente e dias de cultivo, com ajuste ao modelo polinomial quadrático (Figura 18).

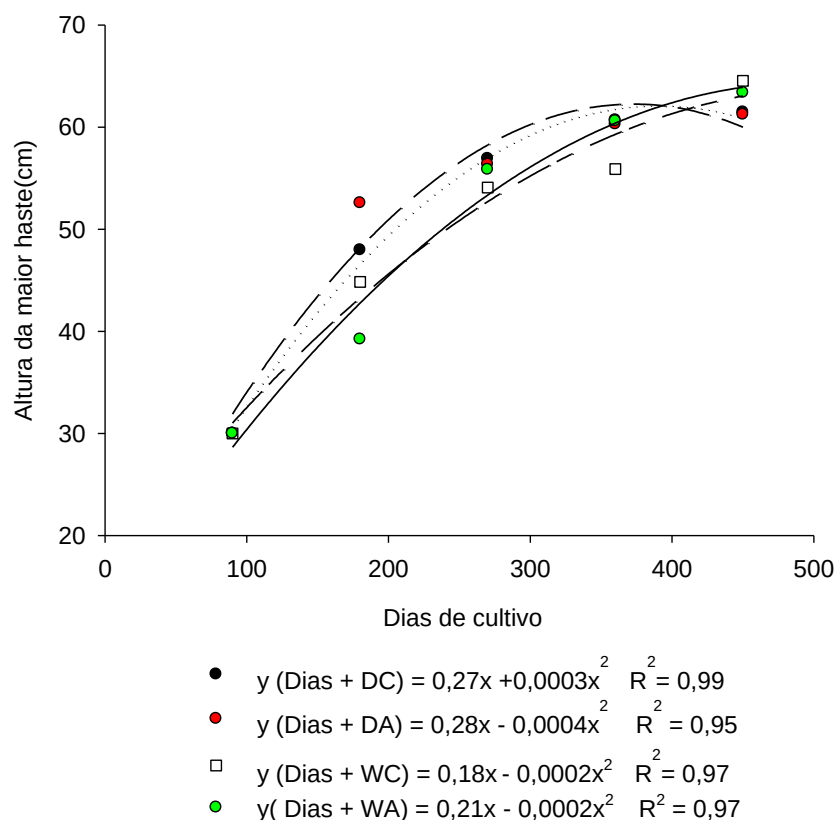


Figura 18. Efeito dos dias de cultivo para altura da haste mais desenvolvida (cm), de mirtilheiro para os tratamentos ‘Duke’ em câmara (DC), ‘Duke’ ao ar livre (DA), ‘Woodard’ em câmara (WC), ‘Woodard’ ao ar livre (WA), UFPel – Capão do Leão, 2021.

Quando comparados os dias de cultivo para a variável altura da maior haste (Figura 18) os valores foram crescentes no decorrer dos dias de avaliação. Aos 180 dias os mirtilheiros ‘Duke’ mantidos ao ar livre apresentaram maior incremento na altura, com 52,56 cm, enquanto nos demais tratamentos não ocorreu diferença estatística.

Valor menor foi encontrado por Ristow et al. (2009), que verificaram o maior crescimento de haste aos 180 dias para a cultivar Georgiagem cultivada em estufa em Pelotas-RS, a partir de mudas micropropagadas usando no recipiente terra + acícula de pínus como substrato.

Em relação aos dias de cultivo, houve aumento dessa variável até cerca de 450 dias, quando não foi verificada diferença da altura da maior haste entre

as plantas (Figura 18). As plantas da cultivar Duke em condições de campo podem alcançar dois metros e as da cultivar Woodard dois a quatro metros (ECK et al. 1990; SANTOS, 2015).

O cultivo em recipientes também pode interferir no crescimento das plantas. Recipientes menores que 38L não foram indicados para mirtilheiro da cultivar Misty (MOTOMURA et al., 2016). Whidden (2008) relatou que na produção comercial de mirtilheiro na Flórida central recipientes de 56 a 95L são comumente utilizados. Porém, pesquisas sobre o tamanho ideal do recipiente para a produção de mirtilheiro ainda são limitadas (FANG et al., 2020).

Jiang et al. (2019) analisaram o crescimento de mirtilheiros com um ano em diferentes condições de pH no solo na China. Esses autores verificaram diferença na altura das hastes das plantas, tendo em vista que em pH 4,5 as plantas da cultivar Climax estavam com 79,8 cm e as de Chaoyue, 88,3 cm, enquanto em pH 6,0 os valores foram de 34 cm no mirtilheiro 'Climax' e 32,8 cm em 'Chaoyue'.

Conforme Dirr (2009), o pH indicado para o mirtilheiro é de aproximadamente 4,5 a 5,5. Assim, no presente estudo de acordo com os dados referentes ao pH (Tabela 1), verificou-se que o crescimento das cultivares estudadas não foi comprometido pelo valor de pH do substrato.

Quanto ao comprimento médio das hastes, verificou-se ajuste ao modelo polinomial de regressão quadrática (Figura 19), onde houve diferença significativa para plantas 'Woodard' em cultivo ao ar livre aos 180 dias 33,54 cm. Isso sugere que essas plantas não necessitaram do tratamento de frio para expressarem seu potencial de crescimento inicial.

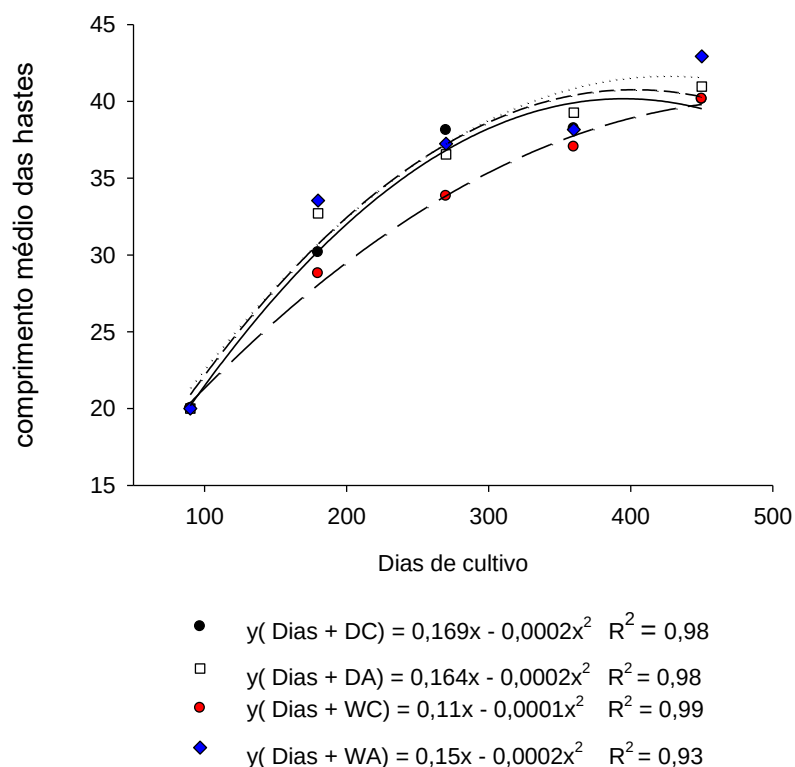


Figura 19. Comprimento médio das hastes (cm) de mirtilheiro para os tratamentos 'Duke' em câmara (DC), 'Duke' ao ar livre (DA), 'Woodard' em câmara (WC), 'Woodard' ao ar livre (WA), UFPEl – Capão do Leão, 2021.

Em relação aos dias de cultivo, como já era esperado, o maior tempo de avaliação resultou em maior comprimento médio das hastes de plantas 'Woodard' que permaneceram ao ar livre, seguido de 'Duke' ao ar livre (Figura 19).

De modo geral, nesse estudo tanto nas plantas que tiveram aporte de frio artificial como nas que não receberam esse tratamento o crescimento não foi afetado, sendo um indicativo da possibilidade de cultivo dessas cultivares nas condições climáticas de Pelotas (Figura 16 e 17).

Quanto ao número de hastes (Figura 20), houve ajuste ao modelo polinomial linear e quadrático.

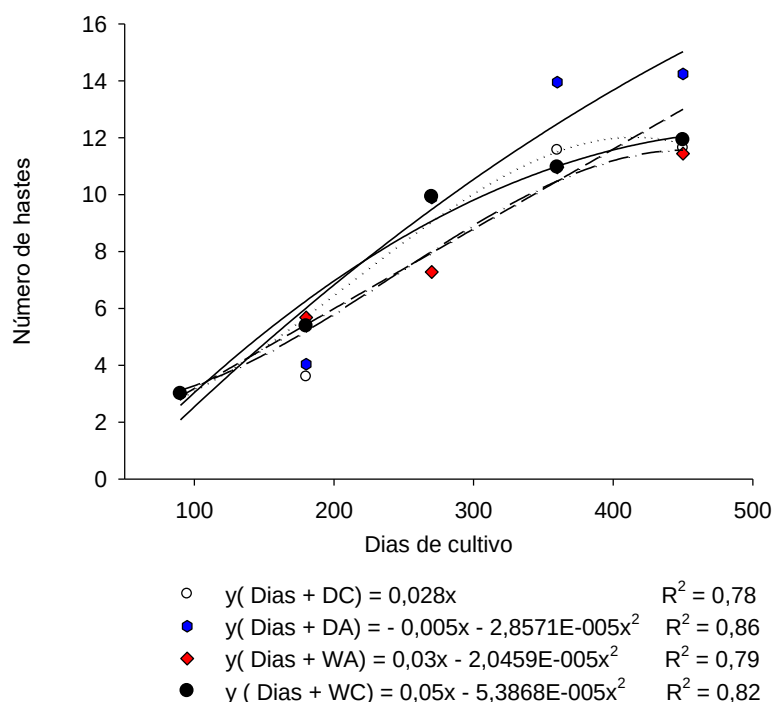


Figura 20. Número médio de hastes de mirtilleiro para os tratamentos ‘Duke’ em câmara (DC), ‘Duke’ ao ar livre (DA), ‘Woodard’ em câmara (WC), ‘Woodard’ ao ar livre (WA), UFPel – Capão do Leão, 2021.

As plantas de ‘Duke’ que permaneceram sem tratamento de frio artificial apresentaram, aos 360 e aos 450 dias de cultivo, maior número médio de hastes (13,95 e 14,2, respectivamente), enquanto nos demais tratamentos não ocorreu diferença estatística (Figura 20). Tal resultado pode estar relacionado à interação do genótipo com o ambiente.

O número de hastes é um quesito importante, pois quanto maior o número de hastes, maior é a chance de aumentar a quantidade de gemas floríferas e/ou vegetativas, o que poderá interferir na lucratividade do produtor, sem contar na área fotossintética. Tal fato pode beneficiar também a produção de mudas, uma vez que, quanto mais hastes, maior o potencial de produção de jardins clonais (RISTOW, 2009).

Para o comprimento das raízes (Tabela 2) constatou-se maior média nas plantas ‘Duke’ que foram expostas ao frio artificial, diferindo significativamente de ‘Duke’ ao ar livre; todavia, para a massa de matéria seca, novamente nas

plantas de 'Duke' que receberam frio artificial registrou-se a maior média, diferindo das mudas de 'Duke' e 'Woodard' mantidas ao ar livre.

Tabela 2. Valores médios do comprimento e massa de matéria seca da raiz de plantas 'Duke' mantidas em câmara fria, 'Duke' ao ar livre, 'Woodard' mantidas em câmara, 'Woodard' ao ar livre. UFPel. Capão do Leão-2021.

	Comprimento das raízes (cm)	Massa de matéria seca da raiz (g)
DC**	46,08 a*	148,93 a
DA	39,58 b	86,47 b
WC	43,49 ab	124,22 ab
WA	42,50 ab	122,09 b

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, dentro de cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

** (DC) 'Duke' em câmara fria, (WA) Woodard' ao ar livre, (WC) Woodard' câmara, (DA) 'Duke' ar livre.

Plantas que crescem em recipientes tem espaço restrito para o crescimento da raiz, ao contrário daquelas cultivadas em ambientes de campo (WHIDDEN, 2008). No entanto, para comprovar tal afirmação em relação às cultivares avaliadas no presente experimento é necessário a continuidade das avaliações, pois ao retirar as mesmas dos vasos (Figura 21) verificou-se que o volume do substrato não foi um fator limitante às raízes.



Figura 21. Plantas retiradas dos recipientes para avaliação do crescimento do sistema radicular e massa de matéria seca de mirtilheiro 'Duke' em câmara fria (1), 'Duke' ar livre (2), 'Woodard' ar livre (3) 'Woodard' câmara (4). UFPeL. Capão do Leão - 2021.

Segundo Darnelli (2006), durante o verão parece haver um padrão cíclico entre o crescimento dos ramos e raízes, mas os ciclos não são absolutos. Comparando os resultados do presente estudo com os dados climáticos (Figuras 16 e 17), percebeu-se que as condições climáticas de Pelotas foram favoráveis ao crescimento ao longo da condução do experimento.

Em suma, o crescimento vegetativo das cultivares de mirtilheiro 'Duke' e 'Woodard' não foi influenciado pelo fornecimento do frio artificial. Isso pode ser vantajoso, pois o fato de não adotar esse tratamento representar menor custo de produção, além de não necessitar de mão-de-obra e transporte dos vasos até local em que a câmara fria está localizada. Porém, por se tratar de resultados preliminares, é necessária a avaliação das plantas nos próximos anos.

4.4. Conclusão

As diferentes condições de frio não influenciaram no crescimento vegetativo dos mirtilleiros 'Duke' e 'Woodard'.

5. Capítulo III - Caracterização fenológica e demanda térmica de mirtileiros em diferentes ambientes

5.1. Introdução

A cultura do mirtileiro representa uma alternativa promissora para a exploração frutícola nas regiões sul e sudeste do Brasil. Dentre as vantagens da produção estão a alta rentabilidade, a baixa utilização de insumos e a facilidade de produção limpa, ou seja, a possibilidade de contribuir com a preservação do meio ambiente e a segurança alimentar (ARRUDA et al., 2017).

No Brasil, o cultivo concentra-se no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo (em regiões de altitude, como Campos do Jordão), Minas Gerais e Goiás (MOMOLI, 2018).

Para a implantação da cultura, o conhecimento da fenologia e das exigências térmicas das cultivares permitirá a escolha mais assertiva daquelas mais adaptadas às condições edafoclimáticas de uma determinada região, além de auxiliar na programação dos tratamentos culturais (RIBEIRO et al., 2010), entre outras atividades.

Segundo Tourón (2005), a fenologia pode ser definida como o estudo dos fenômenos naturais que ocorrem periodicamente no ciclo das plantas, permitindo estabelecer a duração das fases de desenvolvimento da cultura de acordo com o clima, ou seja, o acompanhamento fenológico confere ao produtor o entendimento da cultura e suas especificidades.

Para que cada etapa fenológica se complete existe a necessidade de um determinado número de dias em função das condições de temperatura e fotoperíodo. Assim, um índice utilizado é denominado unidades de frio, que na fruticultura representam os períodos de 60 minutos em que a temperatura atmosférica é inferior a 7,2°C (MADEIRA, 2013).

Outro índice que também é utilizado é o de soma térmica, obtido após o período de dormência, onde é feita a soma de temperaturas para se completar uma fase de crescimento da planta (CANNELL & SMITH 1983; MURRAY et al., 1989; LECHOWICZ 1992; HÄNNINEN 1995; HUNTER; CHUINE; COUR 1999; SANTOS, 2015).

Com base no exposto, o cultivo de mirtilheiro em vaso possibilita a adoção de técnicas de manejo, como o frio artificial, no intuito de antecipar ou atrasar a colheita para períodos que constituem oportunidade de mercado, assim como produzir cultivares em locais que não contemplam suas exigências em horas de frio hiberna (PINTO 2015; PARENTE 2015). Nesse caso, podem ser utilizadas câmaras frias que fornecem frio artificial para compensar as horas de frio exigidas pelas cultivares para superar o estágio de dormência das gemas.

Como tais informações sobre o mirtilheiro na região de Pelotas-RS são escassas, o objetivo deste estudo foi avaliar a fenologia e a demanda térmica das cultivares de mirtilheiro Woodard e Duke submetidos ao frio artificial.

5.2. Material e Métodos

O trabalho foi realizado no período de agosto em 2018 até janeiro de 2019 no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas (Labagro) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), localizado no Capão do Leão – RS (31°52'S, 52°21'W).

Segundo a classificação de Koppen, o clima é o clima é classificado como Cfa, úmido apresentando um ou mais meses com temperaturas médias inferiores a 18 °C. O clima tem verões quentes (22,9°C em média) e invernos frescos (13,2°C em média).

Foram utilizadas mudas de mirtilheiro 'Duke' e 'Woodard' com cerca de 50 cm ($\pm 0,2$ cm), micropropagadas no Labagro e enraizadas *ex vitro* na casa de vegetação da UFPEL.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 (duas cultivares (Duke e Woodard) e dois ambientes de cultivo (ar livre e frio artificial)), sendo utilizadas dez mudas de cada cultivar por tratamento.

As mudas foram transplantadas para vaso de polietileno preto de 20 litros contendo casca de arroz carbonizada e uma camada de isopor picado no fundo (visando a drenagem), sendo em seguida, em seguida levadas a estufa agrícola em arco, coberta com plástico transparente de 150 μ e após transcorrido o primeiro mês foram colocadas ao ar livre.

E após 103 dias, 25 vasos de cada cultivar foram transferidos para uma câmara frigorífica modelo Mirafrio Mf2® com temperatura de 4 a 6 °C constante, sendo que as mudas da cultivar Woodard permaneceram durante 27 dias (648 horas) e as da cultivar Duke, durante 36 dias (864 horas).

Em seguida, os vasos contendo as mudas de ambas as cultivares foram levados novamente junto as 25 restantes de cada cultivar que estavam ao ar livre.

Os tratos culturais foram realizados de acordo com Raseira e Antunes (2004). A poda foi feita somente no segundo ano de cultivo, devido ao porte das mudas. A cada quinze dias, foi fornecida solução nutritiva desenvolvida por Schuch e Peil (2011), com a formulação de macronutrientes e micronutrientes, de acordo com as necessidades da cultura.

Logo após esse tratamento de frio artificial iniciou-se a avaliação fenológica. Para tanto, quatro ramos do ano de quatro plantas distintas foram previamente selecionados, numerados e marcados com uma fita de cetim vermelha (Figura 22).



Figura 22. Ramos de mirtilheiros marcados com fita vermelha. UFPel - Capão do Leão, 2021.

Avaliações diárias foram feitas entre agosto de 2018 a janeiro de 2019, conforme a escala de classificação da Universidade de Michigan (EUA) (2016.) (Figura 23), sendo:

1) **Inchamento da gema:** quando as gemas começam a inchar aumentando de volume e a abrir, sendo visíveis as escamas mais claras do interior.

2) **Abrolhamento:** as gemas florais nessa fase se abrem, identificando-se as flores entre as escamas.

3) **Gema inicial rosa:** As flores individuais ainda fechadas começam a separar-se, sendo distinguíveis na inflorescência.

4) **Gema final rosa:** As corolas atingem o tamanho final. A maior parte das flores da inflorescência está completamente separada e começa a adquirir cor branca.

5) **Início da floração:** Cerca de 10% das flores já estão abertas.

6) **Plena floração:** Pelo menos 50% das flores estão abertas.

7) **Queda das corolas:** Fim da floração, vingamento dos frutos. As corolas brancas começam a cair, observando-se os pequenos frutos verdes.

8) **Crescimento do fruto:** As pequenas bagas verdes crescem atingindo cerca de 10% do seu tamanho final. No entanto, os tamanhos das bagas variam de pequenas a grandes.

9) **Fruto verde:** Cerca de 80% das bagas atinge o seu tamanho final e apresenta cor verde com alguns tons rosa claro.

10) **10% de fruto maduro:** Cerca de 10% das bagas isoladas estão maduras e prontas para a colheita.

11) **25% de fruto maduro:** Cerca de 25% das bagas isoladas estão maduras e prontas para a colheita. Esta fase por vezes coincide com a primeira colheita das bagas maduras.

12) **75% de fruto maduro:** Os mirtilos são colhidos conforme amadurecem. Por vezes em 2 ou 3 colheitas. Este estado fenológico às

vezes coincide com a 2ª colheita, podendo nunca ser observado no campo.

A partir destes dados, foram construídos diagramas, representando, em escala a duração em dias, de cada uma das fases fenológicas.



Figura 23. Inchamento da gema (1), Abrolhamento (2), gema inicial rosa (3), Gema final rosa (4), início da floração (5), plena floração (6), queda das corolas (7), crescimento do fruto (8) fruto verde (9), 10% de fruto maduro (10), 25% de fruto maduro (11), 75% de fruto maduro (12).

Foram calculados os requisitos térmicos unidades de frio (horas de frio) e soma térmica em graus dia (GD) necessárias para as diferentes fases fenológicas

O somatório de horas de frio foi coletado Estação Experimental Terras Baixas (ETB) - Capão do Leão. As temperaturas do ar (mínimas e máximas do ar) foram registradas pela Estação Agroclimatológica de Pelotas (EAP), situada no Capão do Leão, Latitude: 31° 52' 00" S, Longitude: 52° 21' 24", altitude: 13,24

m, EAP é operada através de convênio entre a Embrapa Clima Temperado, a Universidade Federal de Pelotas e o Instituto Nacional de Meteorologia.

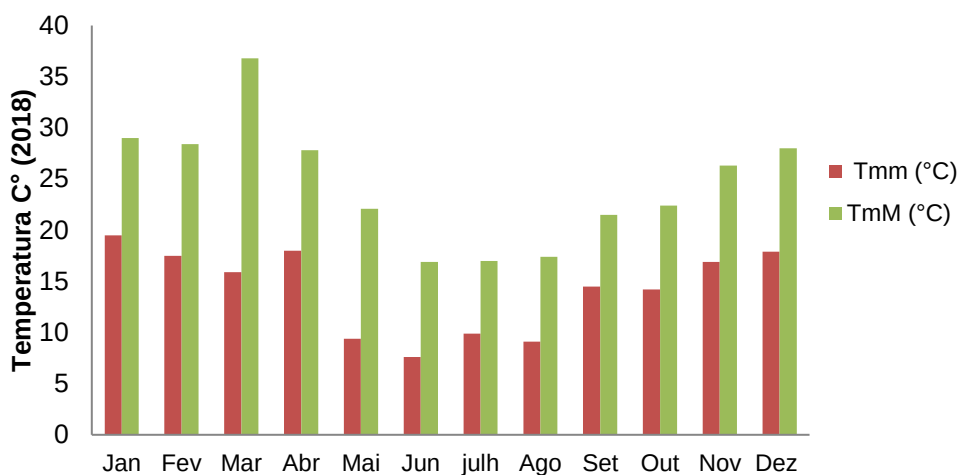


Figura 24. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal 2018 da Estação Agroclimatológica – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021.

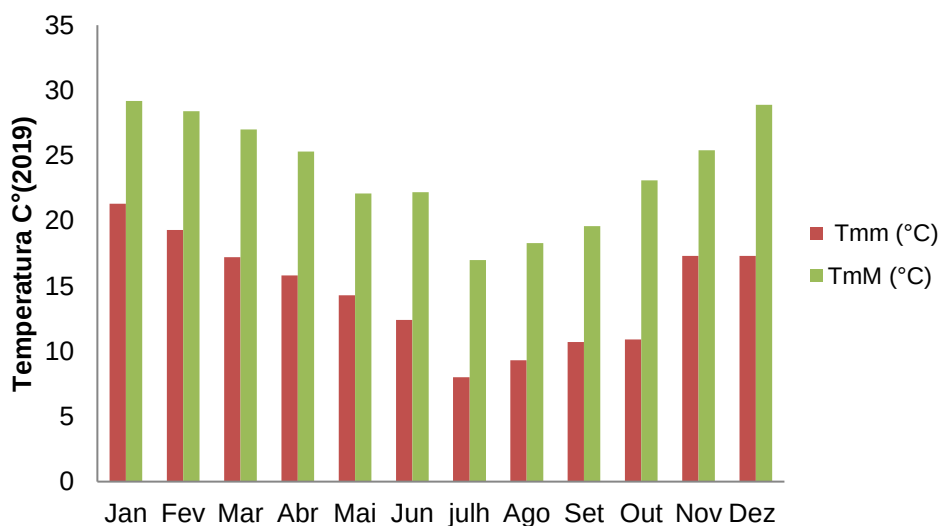


Figura 25. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal de 2019 da Estação Agroclimatológica – UFPel e Embrapa Clima Temperado 2021.

A partir desses dados foram calculadas as temperaturas médias diárias e, realizado o somatório térmico por meio do método denominado graus-dia. O somatório de graus-dia foi contabilizado entre as datas de mudança de fase

fenológica e calculado, segundo a equação proposta por Winkler (1948), onde a temperatura base adotada foi de 7,2 °C:

$$\Sigma GD = \sum_{d}^n (T_m - T_b)$$

Onde, ΣGD = o somatório de graus-dia; d = dia do início da fase; n = dia do fim da fase;

T_m = temperatura média diária do ar, determinada pela média aritmética entre todos os valores medidos da temperatura do ar em cada dia, em °C; T_b = temperatura base igual a 7,2 °C.

Na Tabela 3 são apresentados os dados referentes às condições climáticas dos anos 2018 e 2019.

Tabela 3. Dados referentes a primeira geada, última geada, total de geadas e horas de frio com temperatura abaixo de 7,2° C no período de 25 de maio de 2018 a 30 de setembro de 2019 e, total de horas de frio, precipitação pluviométrica do período de maio a dezembro (mm) e precipitação pluviométrica total (mm) em 2018 e 2019, registrados na Estação Agroclimatológica, UFPEL e Embrapa Clima Temperado – Capão do Leão - RS, 2021.

	2018	2019
Primeira geada	24/05	07/06
Última geada	27/08	23/09
Número de geadas	20	30
*Horas de frio	185	198
*Total de horas de frio	207	318
Precipitação (mm)	1398	1365,3
Precipitação total (mm)	940,7	913,5

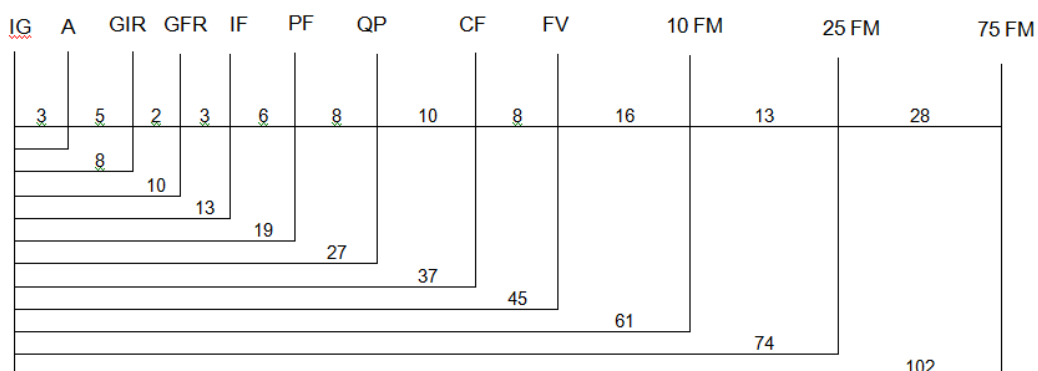
*Horas de frio (abaixo 7,2° C).

5. 3. Resultados e discussão

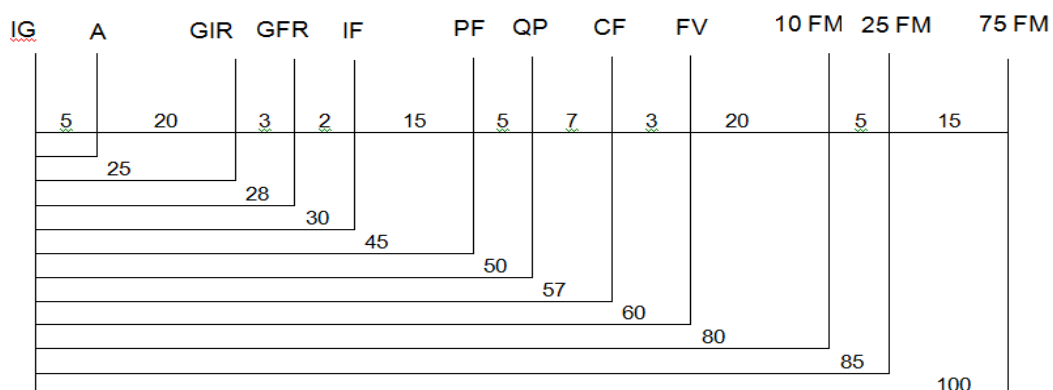
Nas Figuras 26 e 27 estão apresentadas as quantidades de dias transcorridos entre os diferentes estádios fenológicos dos mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ expostos à câmara fria e ‘Duke’ e ‘Woodard’ que permaneceram ao ar livre em 2018 e 2019.

Na safra 2018/2019 o ciclo total (do inchamento de gemas até 75 % de maturação dos frutos) do mirtilheiro ‘Duke’ foi de dois dias a menos nas plantas ao ar livre (Figura 26). Além disso, ‘Duke’ plantada em vasos que foram expostos ao frio artificial apresentaram a mesma duração do ciclo em relação às plantas de ‘Woodard’ que também receberam tal tratamento (102 dias). Silva (2015) e Parente et al. (2015), também desenvolveram trabalhos com o intuito de compensar o frio quando há deficiência de horas de frio na região de cultivo, visto que este é um fator que pode levar a perdas na produção.

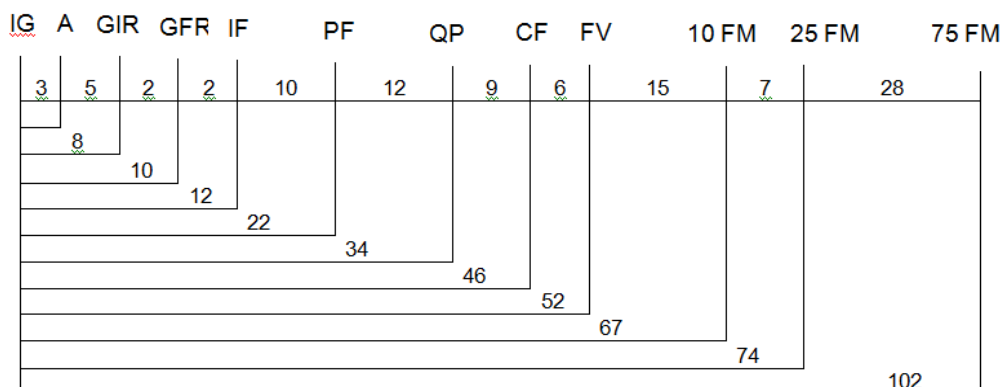
Mirtileiro ‘Duke’ em câmara fria



Mirtileiro ‘Duke’ ao ar livre



Mirtileiro 'Woodard' em câmara fria



Mirtileiro 'Woodard' ar livre

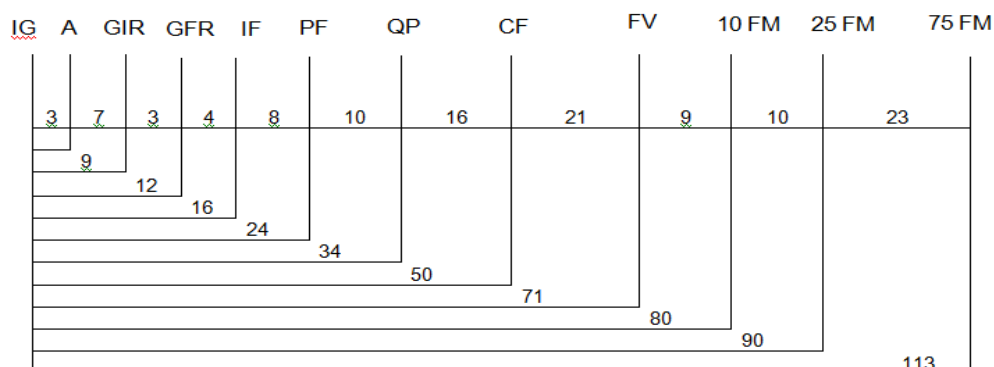


Figura 26. Dias transcorridos do inchamento da gema até 75 % de maturação dos frutos de mirtileiros 'Duke' e 'Woodard' que receberam tratamento de frio e que permaneceram em ambiente ar livre. IG: Inchamento de gema, A: abrolhamento, GIR: gema inicial rosa, CFR: gema final rosa, IF: início da floração, PF: plena floração, QP: queda das pétalas, CF: crescimento do fruto, FV: fruto verde, 10 FM: 10% frutos maduros, 25 FM: 25% frutos maduros, 75 FM: 75% frutos maduros no ciclo 2018/2019, Capão do Leão-RS, 2021.

A duração do ciclo pode variar em função da cultivar e das condições climáticas e poderá influenciar na lucratividade do produtor, pois se a antecipação da colheita coincidir com menor oferta e/ou maior demanda desse produto no mercado, o preço pago pelo produto pode ser maior.

Para as plantas da cultivar Woodard que foram expostas à câmara fria, o período compreendido entre o inchamento de gemas e 75% de maturação dos frutos foi de 102 dias. No entanto, o ciclo total nas plantas da cultivar 'Woodard'

que não receberam este tratamento foi de 113 dias, o que corresponde a 11 dias a menos do que às plantas que permaneceram ao ar livre.

As práticas agrícolas de manejo são baseadas na previsão da data de abrolhamento (SOUZA, 2015), o que ressalta a importância de saber quando provavelmente isso ocorrerá para cada cultivar na região em que se pretende produzir, visando o correto planejamento por parte do produtor.

Foi observado que plantas de 'Duke' que permaneceram ao ar livre apresentaram um período mais longo do estágio de abrolhamento até o estágio de gema inicial rosa com 20 dias e, quando esta foi exposta ao frio artificial, o período foi menor (Tabela 4 e Figura 26), o que pode estar relacionado ao baixo acúmulo de frio (207 horas) (Tabela 3). Cabe salientar que 'Duke' é referida na literatura com exigência em mais de 600 horas de frio ($\leq 7,2$).

Tabela 4. Datas da ocorrência dos subperíodos para a cultivar Duke que receberam tratamento de frio artificial e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo 2018/2019. Capão do Leão-RS, 2021.

Subperíodos	'Duke' em câmara fria	'Duke' ao ar livre
	Data	Data
*IG-A	01/09 a 03/09	15/09 à 25/09
A-GIR	03/09 à 08/09	25/09 à 05/10
GIR-GFR	08/09 à 10/09	05/10 à 08/10
CFR-IF	10/09 à 13/09	08/10 à 10/10
IF-PF	13/09 à 19/09	10/10 à 15/10
PF-QP	19/09 à 27/09	15/10 à 20/10
QP-CF3	27/09 à 07/10	20/10 à 27/10
CF3-FV	07/10 à 15/10	27/10 à 30/10
FV-10 FM	15/10 à 31/10	30/10 à 20/11
10 FM-25 FM	31/10 à 13/11	20/11 à 25/11
25 FM-75 FM	13/11 à 10/12	25/11 à 10/12

*IG: Inchamento de gema; A: abrolhamento; GIR: gemas inicial rosa; GFR: gema final rosa; IF: início da floração; PF: plena floração; QP: queda das pétalas; CF3: crescimento do fruto; FV: fruta verde; 10 FM: 10% frutos maduros; 25 FM: 25% frutos maduros; 75 FM: 75% frutos maduros no ciclo 2018/2019, Capão do Leão-RS, 2021.

Para o mirtilheiro 'Woodard' em câmara fria e 'Woodard' ao ar livre (Tabela 5 e Figura 26) esse período do abrolhamento até gema inicial rosa foi de 7 e 10 dias, respectivamente.

Tabela 5. Datas da ocorrência dos subperíodos para a cultivar Woodard que receberam tratamento de frio artificial e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo 2018/2019. Capão do Leão-RS, 2021.

Subperíodos	'Woodard' em câmara fria	'Woodard' ao ar livre
	Data	Data
*IG-A	03/09 à 06/09	05/09 à 08/09
A-GIR	06/09 à 11/09	08/09 à 15/09
GIR-GFR	11/09 à 13/09	15/09 à 18/09
CFR-IF	13/09 à 15/09	18/09 à 22/09
IF-PF	15/09 à 25/09	22/09 à 30/09
PF-QP	25/09 à 07/10	30/09 à 10/10
QP-CF3	07/10 à 16/10	10/10 à 21/10
CF3-FV	16/10 à 22/10	21/10 à 01/11
FV-10 FM	22/10 à 06/11	01/11 à 10/11
10 FM-25 FM	06/11 à 13/11	10/11 à 20/11
25 FM-75 FM	13/11 à 10/12	20/11 à 12/12

*IG: Inchamento de gema; A: abrolhamento; GIR: gema inicial rosa; GFR: gema final rosa; IF: início da floração; PF: plena floração; QP: queda das pétalas; CF3: crescimento do fruto; FV: fruta verde; 10FM: 10% frutos maduros; 25FM: 25% frutos maduros; 75FM: 75% frutos maduros no ciclo 2018/2019, Capão do Leão-RS, 2021.

Em relação ao florescimento de 'Duke', a duração foi menor (14 dias) em plantas com frio artificial, ao passo que nas que ficaram ao ar livre foi de 20 dias. Em plantas 'Woodard' com frio artificial e ao ar livre não houve grande variação na duração da floração (Figura 26).

Antunes et al. (2008), relataram que a alteração no padrão de florescimento deve-se às variações na quantidade de horas de frio hibernal e no requerimento de frio de cada cultivar.

A verificação da floração completa ocorreu em 19 de setembro para mirtilheiro 'Duke' com frio artificial e em 20 de outubro para 'Duke' ao ar livre. Para 'Woodard' isso ocorreu em 25 de setembro nas plantas que receberam aporte em frio, enquanto nas plantas que permaneceram ao ar livre a plena floração foi

observada em 30 de setembro (Tabelas 4 e 5). Antunes et al., (2009), avaliando diferentes ciclos de 'Woodard' cultivada a campo na região de Pelotas, verificaram que o florescimento ocorreu nos dias 14, 20, 10 de agosto de 2003, 2004 e 2005, respectivamente.

O fato da região de Pelotas não apresentar horas de frio suficientes $\leq 7,2$ °C para a cultivar Duke, além da oscilação no valor da temperatura ao longo do dia pode ocasionar brotação desuniforme das gemas floríferas.

A fase de frutos verdes até 10% de frutos maduros é um período em que, caso haja necessidade, é feita a aplicação de fungicidas para combate à podridão do fruto de mirtilheiro. Dessa forma, ter a previsão dessa data, de acordo com a cultivar possibilita ao produtor atuar de forma antecipada (SANTOS, 2014).

Para mirtilheiros 'Duke' que foram expostos ao frio artificial, o período de frutos verdes a 10% de frutos maduros foi de 16 dias, e para plantas da mesma cultivar que não receberam tratamento de frio, de 20 dias. No caso da 'Woodard', naquelas expostas ao frio artificial o período foi de 15 dias e nas que permaneceram ao ar livre foi de 9 dias (Figura 26).

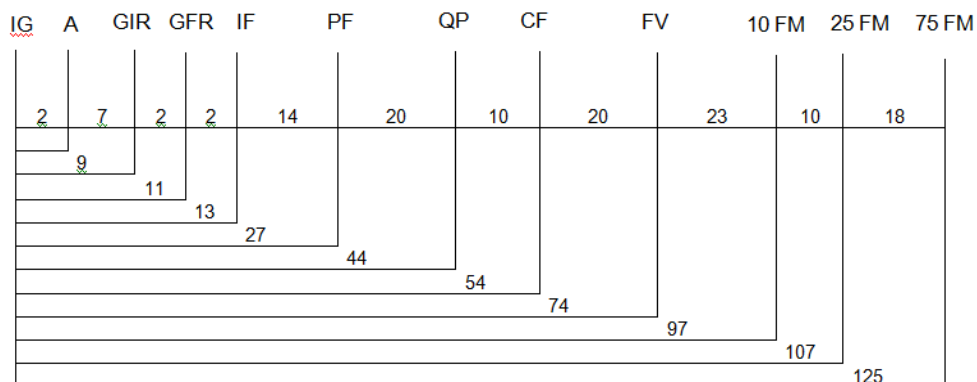
A fase de maturação dos frutos entre 10% e 75% dos frutos maduros nas plantas 'Duke' expostas ao frio artificial foi de 41 dias; período mais longo que em plantas 'Duke' que não receberam o tratamento, cujo registro foi de 20 dias (Figura 26).

Em plantas 'Woodard', naquelas com aporte em frio a fase de maturação foi de 35 dias e sem tratamento de frio, de 33 dias. Com essas informações é possível ao produtor um melhor aproveitamento das janelas de comercialização, assim como a organização da demanda de mão de obra para realização da colheita.

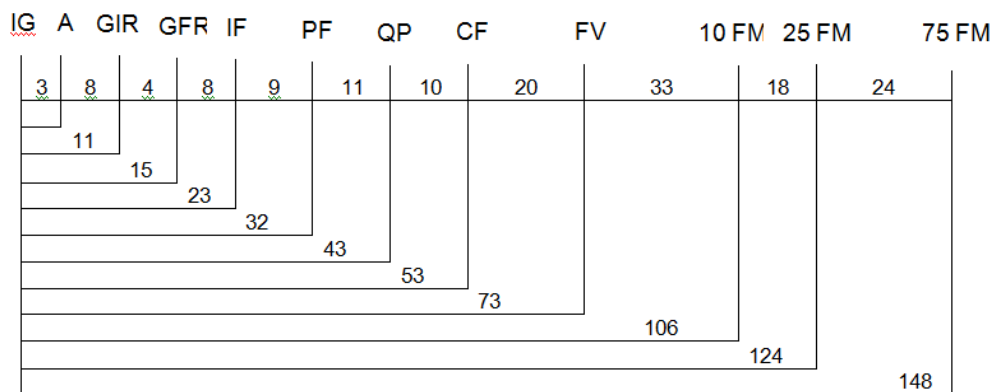
As condições climáticas estão apresentadas nas Figuras 24 e 25, bem como na Tabela 3. Observou-se a ocorrência de um inverno frio e seco, com número considerável de geadas e de horas de frio abaixo de 7,2°C. Em resposta a essas condições, a duração das diferentes fases do ciclo e o momento de ocorrência de cada estágio foi diferente, de acordo com a safra e o tratamento.

No segundo ano de avaliação, ou seja, em 2019/2020 a duração total do ciclo de plantas ‘Duke’ com tratamento de frio artificial foi de 125 dias, enquanto plantas sem tratamento de frio registraram um ciclo total de 148 dias (Figura 27).

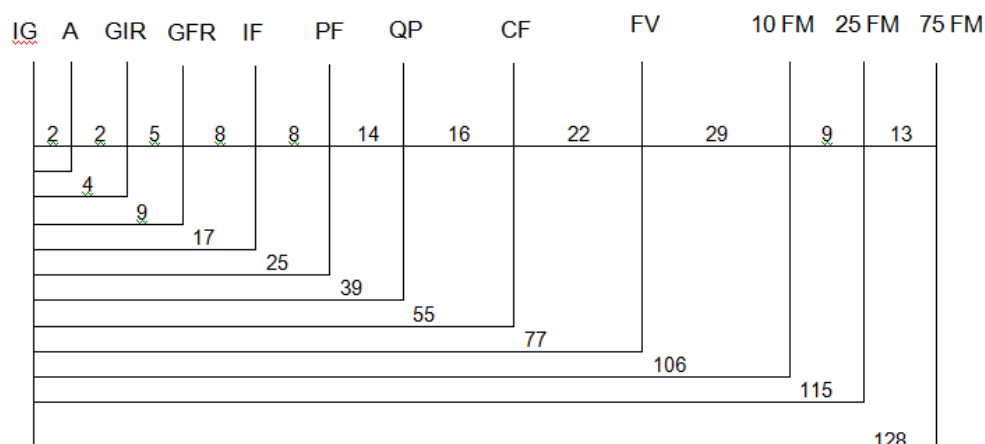
Mirtileiro ‘Duke’ em câmara fria



Mirtileiro ‘Duke’ ao ar livre



Mirtileiro 'Woodard' em câmara fria



Mirtileiro 'Woodard' ao ar livre

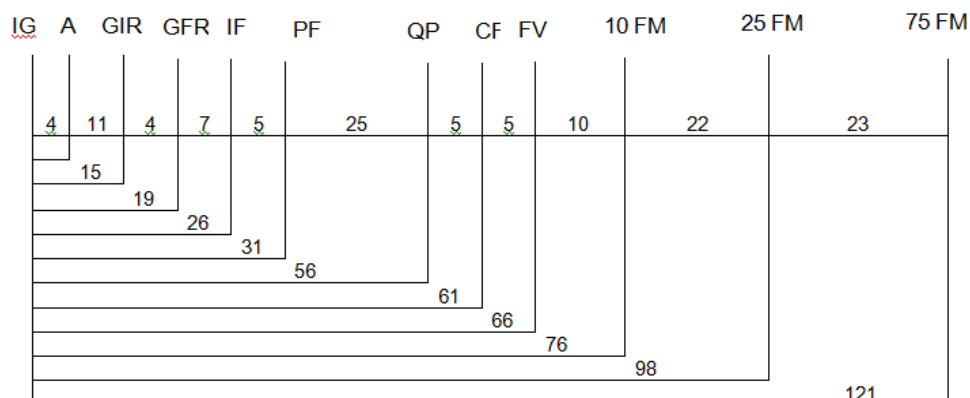


Figura 27. Dias transcorridos do inchamento da gema até 75 % de maturação dos frutos de mirtileiros 'Duke' e 'Woodard' que receberam tratamento de frio e que permaneceram em ambiente ar livre. IG: Inchamento de gema, A: abrolhamento, GIR: gema inicial rosa, CFR: gema final rosa, IF: início da floração, PF: plena floração, QP: queda das pétalas, CF: crescimento do fruto, FV: fruta verde, 10 FM: 10% frutos maduros, 25 FM: 25% frutos maduros, 75 FM: 75% frutos maduros, ciclo 2019/2020, Capão do Leão-RS, 2021.

As plantas de 'Woodard' com tratamento de frio apresentaram ciclo total de 128 dias e quando não receberam o tratamento de frio, de 121 dias (Figura 27).

O período de abrolhamento não foi muito variável entre os tratamentos. Para 'Duke', naquelas exposta ao frio artificial foi de sete dias e nas que permaneceram ao ar livre foi de 8 dias. No caso da 'Woodard' houve variação,

ou seja, nas que foram expostas ao frio o período foi de dois dias e em ‘Woodard’ sem esse tratamento, de 11 dias (Figura 27).

As exigências de frio condicionarão a época de colheita para cada cultivar conforme a região; por isso, através do registro das datas de entrada em dormência da planta e abrolhamento das gemas florais é possível o melhor aproveitamento das oportunidades de mercado, com preços mais altos (SANTOS, 2014).

O tempo entre o início de floração e a queda das pétalas em plantas ‘Duke’ com frio artificial foi registrado com 34 dias e ocorreu entre 26 de agosto e 30 de setembro (Tabela 6 e Figura 27). De acordo com NeSmith et al. (1992), o maior número das horas de frio acumuladas antecipou o início do florescimento da cultivar Misty.

Tabela 6. Datas da ocorrência dos subperíodos para a cultivar Duke que receberam tratamento de frio artificial e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo (2019/2020). Capão do Leão - RS, 2021.

Subperíodos	‘Duke’ em câmara fria	‘Duke’ ao ar livre
	Data	Data
*IG-A	15/08 à 17/08	17/08 à 20/08
A-GIR	17/08 à 22/08	20/08 à 28/08
GIR-GFR	22/08 à 24/08	28/08 à 02/09
CFR-IF	24/08 à 26/08	02/09 à 10/09
IF-PF	26/08 à 10/09	10/09 à 19/09
PF-QP	10/09 à 30/09	19/09 à 30/09
QP-CF3	30/09 à 10/10	30/09 à 10/10
CF3-FV	10/10 à 30/10	10/10 à 30/10
FV-10 FM	30/10 à 22/11	30/10 à 02/12
10 FM-25 FM	22/11 à 02/12	02/12 à 20/12
25 FM-75 FM	02/12 à 20/12	20/12 à 13/01

*IG: Inchamento de gema; A: abrolhamento; GIR: gemas inicial rosa; GFR: gema final rosa; IF: início da floração; PF: plena floração; QP: queda das pétalas; CF3: crescimento do fruto; FV: fruta verde; 10 FM: 10% frutos maduros; 25 FM: 25% frutos maduros; 75 FM: 75% frutos maduros no ciclo 2019/2020, Capão do Leão-RS, 2021.

No cultivo do mirtilheiro ‘Duke’ ao ar livre o tempo de floração foi menor (20 dias), entre 10 de setembro a 30 de setembro (Tabela 6). Tais resultados estão

de acordo com Santos e Raseira (2002), pois relataram que em cultivo de mirtilheiro realizado a campo em Pelotas geralmente a floração ocorre no final de agosto ou início de setembro.

Nas plantas 'Woodard' com frio artificial (Tabela 7) a floração iniciou em 3 a 25 de setembro, com duração de 22 dias. A diferença mais evidente foi no florescimento registrado em 'Woodard' ao ar livre, ocorrido de 30 de setembro a 30 de outubro, com duração de 30 dias, isto é, mais tardio e mais prolongado.

Tabela 7. Datas de ocorrência dos subperíodos para a cultivar Woodard com tratamento de frio artificial e para as plantas mantidas ao ar livre no ciclo produtivo 2019/2020. Capão do Leão-RS, 2021.

Subperíodos	'Woodard' em câmara fria	'Woodard' ao ar livre
	Data	Data
*IG-A	12/08 à 14/08	01/09 à 05/09
A-GIR	14/08 à 21/08	05/09 à 19/09
GIR-GFR	21/08 à 26/08	19/09 à 23/09
CFR-IF	26/08 à 03/09	23/09 à 30/09
IF-PF	03/09 à 11/09	30/09 à 05/10
PF-QP	11/09 à 25/09	05/10 à 30/10
QP-CF3	25/09 à 11/10	30/10 à 05/11
CF3-FV	11/10 à 01/11	05/11 à 10/11
FV-10 FM	01/11 à 30/11	10/11 à 20/11
10 FM-25 FM	30/11 à 09/12	20/11 à 11/12
25 FM-75 FM	09/12 à 23/12	11/12 à 13/01

*IG: Inchamento de gema; A: abrolhamento; GIR: gemas inicial rosa; GFR: gema final rosa; IF: início da floração; PF: plena floração; QP: queda das pétalas; CF3: crescimento do fruto; FV: fruta verde; 10 FM: 10% frutos maduros; 25 FM: 25% frutos maduros; 75 FM: 75% frutos maduros no ciclo 2019/2020, Capão do Leão-RS, 2021.

Segundo a literatura, as cultivares do grupo Rabbiteye como Woodard são consideradas de meia estação a tardias; conseqüentemente, são menos suscetíveis aos danos causados pelas geadas no final do inverno (WILLIAMSON & LYRENE, 2009).

Com o conhecimento do período de floração pode-se otimizar fatores de produção e contornar problemas de incompatibilidade polínica que podem ocorrer em algumas cultivares. Além disso, a combinação de diferentes

cultivares confere vantagens de polinização cruzada, com a disponibilidade de pólen para fecundação das flores por mais tempo (SANTOS, 2015).

Mainland (2000) constatou para o mirtilheiro 'Duke' cultivado em 1998 e 1999 no sudeste da Carolina do Norte, que o número de dias entre a plena floração e a colheita ocorreu entre 52 e 62 dias, mas Santos (2015) observou que em 2014 e 2015, em Portugal, tal fato ocorreu entre 54 e 63 dias.

Quanto à maturação dos frutos, o intervalo entre 10% a 75% de frutos maduros em plantas 'Duke' que receberam frio artificial foi menor (28 dias), em comparação as plantas 'Duke' que permaneceram ao ar livre (42 dias) (Tabela 6).

Em relação a cultivar Woodard, nas plantas que receberam frio artificial o intervalo entre de 10% a 75% de frutos foi de 22 dias e nas plantas ao ar livre, de 45 dias, ou seja, o período também foi mais longo para as plantas que não receberam o tratamento de frio artificial (Tabela 6). É sabido que a previsão da data de colheita é uma referência muito importante para os produtores de mirtilheiros, inclusive, saber a data de início da colheita com duas a três semanas de antecedência poderá ser uma vantagem para a coordenação entre os procedimentos necessários no marketing de grandes volumes (MAINLAND, 2000). Ademais, períodos mais longos de colheita demandam mão de obra disponível por mais tempo.

Conforme a literatura, além de horas de frio, outra ferramenta de apoio para a previsão da fenologia é o somatório das unidades de calor em graus dias (GD), que se inicia após o período de dormência. Também auxilia para prever estratégias de polinização e práticas de manejo adaptadas dependendo da duração projetada da floração, e além da data de início da colheita, o aproveitamento da janela ótima de comercialização (CARLSON; HANCOCK, 1991; NESMITH, 2008).

O número de graus dias acumulados (Tabela 8) no subperíodo do abrolhamento até a plena floração para 'Duke' mantida por um período em câmara fria foi de 196,1 GD, e em 'Duke' ao ar livre, de 301,6 GD. Esses resultados concordam com Petri et al. (2002), que informaram que a soma

térmica para a brotação é tanto menor quanto maior for o número de horas de frio acumuladas.

Tabela 8. Soma térmica em graus-dia (GD), calculada para temperatura-base 7,2°C das cultivares Duke e Woodard que receberam tratamento de frio artificial e que permaneceram ao ar livre, nos diferentes subperíodos do ciclo produtivo 2018/2019. Capão do Leão-RS, 2021.

Subperíodos	'Duke' câmara fria	'Duke' ar livre	'Woodard' câmara fria	'Woodard' ar livre
IG-A*	22,6	121,3	32,3	28,5
A-GIR	55,5	122,9	64,5	87,8
GIR-GFR	27,1	37,6	30,3	44,5
CFR-IF	37,2	35,5	31,5	55,9
IF-PF	76,3	105,6	123,4	101,5
PF-QP	100,8	30,5	131,2	98,1
QP-CF	103,9	70,2	100,1	120,6
CF-FV	82,8	48	82,4	139,8
FV-10 FM	195,2	304,6	189,4	138,4
10FM-25 FM	181,9	86,7	129,2	162,2
25FM-75 FM	50,6	199,8	303,6	309,7
IG-75 FM	933,9	1162,7	1287,9	1287

*IG-A: inchamento da gema – abrolhamento; A-GIR: abrolhamento-gema inicial rosa; GIR-GFR: gema inicial rosa – gema final rosa; GFR- IF: gema final rosa – início da floração; IF- PF: início da floração – plena floração; PF-QP: plena floração – queda das pétalas; QP-CF: queda das pétalas – crescimento do fruto; CF-FV: crescimento do fruto – fruto verde; FV-10FM: fruto verde – 10% do fruto maduro; 10FM-25FM: 10% do fruto maduro – 25% fruto maduro; 25FM-75FM: 25% de fruto maduro – 75% de fruto maduro; IG-75FM: inchamento da gema – 75% de fruto maduro no ciclo 2018/2019, Capão do Leão-RS, 2021.

Observou-se também que do abrolhamento até plena floração, para plantas 'Woodard' em câmara fria a demanda foi de 249,7 GD, ao passo que para essa cultivar ao ar livre houve uma maior exigência térmica 289,7 GD (Tabela 8).

Kirk & Isaacs (2012) verificaram que o pico de floração de mirtilheiros 'Duke', 'Bluecrop', 'Jersey', 'Elliott' e 'Liberty' cultivados em Michigan (EUA) ocorreu com 291 GD de soma térmica em condições de campo e, em casa de vegetação, com 420 GD de soma térmica.

Essa variação do padrão fenológico pode estar relacionada, além da temperatura, a fatores intrínsecos da planta, presença de geadas (Tabela 3), soma térmica, entre outros fatores. Gough (1994) também observou, no cultivo de mirtilheiro 'Duke', que durante a primavera a temperatura de 24 °C é mais

indicada para a formação da gema floral e ainda citou que frutos maiores se desenvolvem em temperaturas de 26°C durante o dia e de 10°C à noite.

Em relação à colheita dos frutos (Tabela 8), para ‘Duke’, em plantas submetidas ao frio artificial isso ocorreu com 231,5 GD e nas que permaneceram ao ar livre, com 286,5 GD. No entanto, em ‘Woodard’ com tratamento de frio artificial, a colheita ocorreu com registro de 432,8 GD e nas plantas dessa cultivar ao ar livre, com 471,9 GD.

Para completar o ciclo total, as plantas de ‘Duke’ com frio artificial necessitaram de 933,9 GD; e quando essa cultivar permaneceu ao ar livre, de 1162,7 GD. Para ‘Woodard’, com frio artificial foram necessários 1217,9 GD e nas plantas dessa cultivar ao ar livre, 1287 GD, no primeiro ano (2018).

Em 2019, a soma térmica (Tabela 9) no subperíodo do abrolhamento até a plena floração para plantas ‘Duke’ com frio artificial foi de 171,1 GD e ‘Duke’ ar livre 252,1 GD.

Tabela 9. Soma térmica em graus-dia (GD), calculada para diferentes temperaturas-base 7,2°C no cultivo de mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ que receberam tratamento de frio artificial e nas plantas que permaneceram em ar livre, no ciclo produtivo (2019/2020). Capão do Leão-RS, 2021.

Subperíodos	‘Duke’ câmara fria	‘Duke’ ar livre	‘Woodard’ câmara fria	‘Woodard’ ar livre
IG-A*	23,2	16,3	6,8	19,3
A-GIR	22	49,5	39,1	128,3
GIR-GFR	7,4	49,9	26,1	28,5
CFR-IF	21	58,8	67,6	65,4
IF-PF	120,7	77,6	62,4	70,3
PF-QP	166	96,7	106,5	294,1
QP-CF	124	124	188,2	89
CF-FV	245,6	245,6	255,2	75,8
FV-10 FM	322,5	462,8	417,5	158,1
10 FM-25 FM	145,7	277,2	171,9	274,5
25 FM-75 FM	277,9	418,9	544,8	85,4
IG-75 FM	1476	1877,6	1886,1	1288,1

*IG-A: inchamento da gema – abrolhamento; A-GIR: abrolhamento-gema inicial rosa; GIR-GFR: gema inicial rosa – gema final rosa; GFR- IF: gema final rosa – início da floração; IF- PF: início da floração – plena floração; PF-QP: plena floração – queda das pétalas; QP-CF: queda das pétalas – crescimento do fruto; CF-FV: crescimento do fruto – fruto verde; FV-10 FM: fruto verde – 10% do fruto maduro; 10 FM-25 FM: 10% do fruto maduro – 25% fruto maduro; 25 FM-75 FM: 25% de fruto maduro – 75% de fruto maduro; IG-75 FM: inchamento da gema – 75% de fruto maduro, no ciclo 2019/2020, Capão do Leão-RS, 2021.

Verificou-se para plantas 'Woodard' que foram mantidas em câmara fria que entre o abrolhamento até plena floração foram necessários 195,2 GD, ao passo que em 'Woodard' ar livre houve maior exigência térmica 292,5 GD.

Santos (2015) salienta que quando as temperaturas mínimas diárias são superiores a temperatura base referida (7,2 °C) o desenvolvimento da planta se processa de modo linear, e quanto mais alta a temperatura, mais unidades de calor a planta acumula. Assim, se a temperatura não for apropriada, a evolução fenológica torna-se mais lenta. Isso pode ser um dos fatores que levou à variação na duração dos ciclos entre um ano e outro.

A maturação dos frutos também foi bastante variável. Para 'Duke' com frio artificial a colheita foi realizada de 22 de novembro a 20 de dezembro, sendo necessários 423,6 GD. Por outro lado, quando essa cultivar foi mantida ao ar livre, efetuou-se a colheita de dois de dezembro a 13 de dezembro, com 696,1 GD.

Para o mirtilheiro 'Woodard' com frio artificial, a colheita iniciou-se em 30 de novembro e estendeu-se até 13 de janeiro, com demanda de 716,7 GD, ao passo que nas plantas que não receberam esse tratamento, os frutos foram colhidos de 20 de novembro a 20 de dezembro, com necessidade de 359,9 GD.

As diferenças nos resultados podem ser atribuídas à idade das plantas e às variações na temperatura do ar. Além disso, são plantas cultivadas em recipientes, isto é, existem diferenças em relação às condições de campo quanto à temperatura, umidade, assim como os nutrientes, etc (HALL et al., 1963; GOULART et al., 1997; STRIK & BULLER, 2003; HOLZAPFEL et al., 2004).

Com base no exposto, as condições climáticas nas duas safras avaliadas no presente estudo influenciaram a fenologia dos mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard'. O tratamento de frio em plantas 'Duke' propiciou a antecipação do florescimento e da produção na segunda safra, assim como em 'Woodard' com aporte em frio observou-se tal antecipação; porém, com uma diferença menor de uma safra a outra. Quanto à soma térmica, no segundo ano os ciclos foram mais estendidos em ambos os tratamentos e, portanto, verificou-se maior soma térmica.

Os resultados obtidos nesse trabalho indicam que o cultivo dos mirtilheiros 'Duke' e 'Woodard' em vasos e expostos ao frio artificial pode ser uma técnica

promissora, visto que pode viabilizar a produção em locais onde a temperatura e/ou o solo são fatores limitantes, além da otimização do espaço físico, da irrigação, entre outros. Porém, é importante a continuidade das avaliações, a fim de permitir a confirmação desses resultados após vários ciclos produtivos, bem como a verificação do custo de produção em ambos os locais de cultivo (ar livre e uso da câmara fria por um determinado período).

5. 4. Conclusões

O comportamento fenológico e a demanda térmica dos mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ foram influenciados pelo ambiente de cultivo no segundo ciclo produtivo.

A exposição desses mirtilheiros ao frio artificial é uma técnica promissora, principalmente para ‘Duke’ nas condições de Pelotas-RS.

6. Capítulo IV- Caracterização físico-química e produtiva dos mirtilheiros ‘Woodard’ e ‘Duke’

6.1. Introdução

O mirtilheiro pertence à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*, sendo *V. corymbosum* e *V. ashe* os mais cultivados comercialmente (KALT et al., 2001; LYRENE et al., 2003; HANCOCK et al., 2008; RETAMALES & HANCOCK, 2018).

A produção e o consumo dessa frutífera aumentaram durante a última década em decorrência, provavelmente, do sabor único e cor inconfundível, fatores atrativos ao consumidor, além das propriedades nutraceuticas (CONÇENSO et al., 2014; 2015).

Para a expansão nas áreas de produção é fundamental o conhecimento das técnicas de manejo que podem ser adotadas, no intuito de possibilitar maior rentabilidade ao produtor. De acordo com Parente (2014), o cultivo em vasos confere a possibilidade de auxílio na tomada de decisão nas operações de manejo e escolha de substrato mais adequado, e ainda permite a colocação das plantas em câmara frigorífica para antecipar ou atrasar a produção.

A demanda térmica em horas de frio $\leq 7,2^{\circ}\text{C}$ de algumas cultivares dificilmente é alcançada em várias regiões do Brasil e o uso do frio artificial torna-se uma opção. Assim, o cultivo em recipiente permite a produção de cultivares com maior necessidade de horas de frio, como o mirtilheiro ‘Woodard’ (300 a 600 horas de frio) (ECK et al., 1990) e ‘Duke’, cuja necessidade está entre 650 e 1000 horas de frio.

Além desses aspectos, as características físico-químicas podem definir as estratégias para a comercialização dos frutos. Portanto, é primordial que sejam avaliadas em função da cultivar e das condições do local de produção, visando o correto direcionamento dos frutos no mercado.

Em função da escassez de informações sobre técnicas de manejo para o cultivo de mirtilheiros em vasos e da influência destas técnicas em caracteres relacionados à produção dos frutos, este estudo teve como o objetivo avaliar as

características físico-químicas e produtivas dos frutos de mirtilheiro 'Woodard' e 'Duke' cultivados em vasos, submetidos (ou não) ao frio artificial.

6.2. Material e Métodos

O trabalho foi realizado no período novembro de 2018 a janeiro de 2019 no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas (Labagro), da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), localizado no Capão do Leão – RS. Conforme a classificação de Koppen, o clima é do tipo Cfa úmido, apresentando um ou mais meses com temperaturas médias inferiores a 18 °C. O clima tem verões quentes (22,9°C em média) e invernos frescos (13,2°C em média).

Foram utilizadas mudas de mirtilheiro 'Duke' e 'Woodard' 50 cm $\pm$ 0,2 micropropagadas no Labagro e enraizadas *ex vitro* na casa de vegetação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (duas cultivares (Duke e Woodard) e dois ambientes de cultivo (ar livre e frio artificial)), sendo utilizadas 25 mudas de cada cultivar por tratamento.

As mudas foram transplantadas em vasos de polietileno preto de 20 litros contendo casca de arroz carbonizada e uma camada de isopor no fundo, visando a drenagem. Em seguida, foram mantidas em estufa agrícola coberta com plástico de 150 μ e após transcorrido o primeiro mês foram colocadas ao ar livre.

E após 103 dias, 25 vasos de cada cultivar foram transferidos para uma câmara frigorífica modelo Mirafrio Mf2[®] com temperatura de 4 a 6 °C constante, sendo que as mudas da cultivar Woodard permaneceram durante 27 dias (648 horas) e as da cultivar Duke, durante 36 dias (864 horas).

Em seguida, os vasos contendo as mudas de ambas as cultivares foram levados novamente junto as 25 restantes de cada cultivar onde permaneceram ao ar livre.

Os tratos culturais foram realizados de acordo com Raseira e Antunes (2004), em função do tamanho das mudas, a poda foi feita somente no segundo ano de cultivo. A cada quinze dias foi fornecida solução nutritiva desenvolvida

por Schuch e Peil (2011), com a formulação de macronutrientes e micronutrientes, de acordo com as necessidades da cultura.

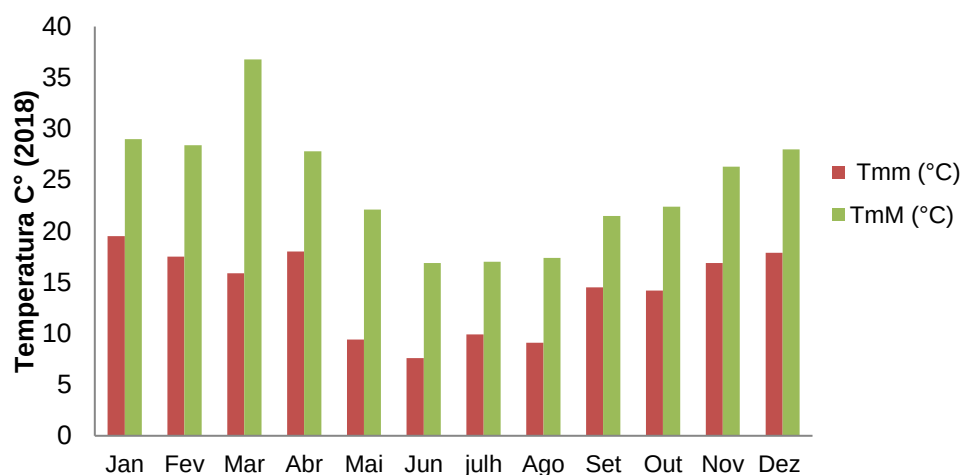


Figura 28. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal 2018, da Estação Agroclimatológica – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021.

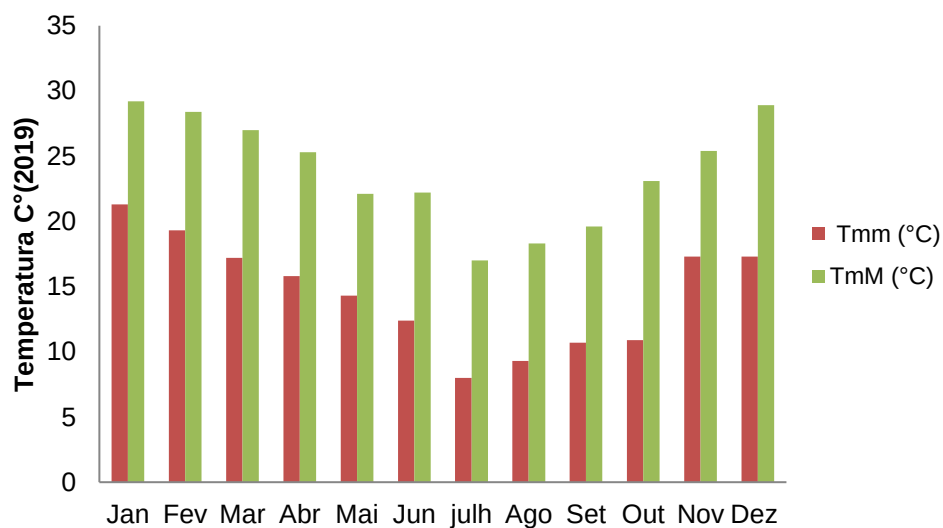


Figura 29. Temperatura média mínima (Tmm), temperatura média máxima (TmM) mensal 2018 da Estação Agroclimatológica – UFPel e Embrapa Clima Temperado, 2021.

O período de colheita foi de vinte de novembro até vinte de dezembro de 2018. Em 2019, a colheita iniciou em dois de dezembro, estendendo-se até quinze de janeiro de 2020.

Os frutos foram colhidos no estágio de maturação completa, conforme Childers & Lyrene, (2006) e a caracterização físico-química e produtiva foram realizadas no Labagro.

Logo após a colheita manual, uma subamostra de 20 frutos por repetição foi submetida às seguintes análises: potencial hidrogeniônico (pH), teor de sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (% ácido cítrico) e relação SS/AT, número total de frutos, massa total dos frutos (mg), massa fresca (g) e diâmetro do fruto (mm).

Para a análise do pH utilizou-se um peagâmetro de bancada AZ® (Modelo 86505), por titulometria por neutralização de NaOH. O teor de sólidos solúveis foi verificado por meio de um refratômetro digital marca Atago® com leitura direta após adição de uma gota do suco do fruto sobre o prisma do aparelho.

A acidez, expressa em porcentagem de ácido cítrico (% ácido cítrico), foi determinada por titulometria de neutralização segundo metodologia descrita por (REYES-CARMONA et al., 2005). A relação entre o teor de sólidos solúveis totais e a acidez titulável propiciou a obtenção do ratio.

A determinação do número total de frutos foi feita pela contagem manual e a massa total e fresca dos frutos foi verificada por meio do uso de balança analítica Bioprecisa®, enquanto o diâmetro do fruto foi mensurado com paquímetro digital.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando houve significância pela análise de variância, as medias quando significativas foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

6.3. Resultados e discussão

Houve interação entre os fatores cultivar e condições de cultivo (Tabelas 10 e 11).

Quanto ao pH, não houve diferença entre os tratamentos nas duas safras (Tabela 10). De acordo com Santana et al. (2004), o pH é um parâmetro utilizado para indicar a qualidade dos frutos e reflete o estágio de maturação.

Tabela 10. Dados referentes a pH, teor de sólidos solúveis totais SS(°Brix) e acidez titulável AT (% ácido cítrico) de frutos dos mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ cultivados em vasos e mantidos em câmara fria e ao ar livre nas safras 2018/2019 e 2019/2020, respectivamente. UFPel - Capão do Leão-RS, 2021.

Tratamento	pH	SS (Brix °)	AT	SS/AT
2018				
DC**	2,98 *	10,2 b	0,95 a	10,74 c
DA	3,04	10,85 b	0,73 b	14,86 b
WC	3,06	12,25 a	0,72 b	17,01 b
WA	3,19	11,85 ab	0,48 c	24,69 a
2019				
DC	2,49 *	13 a	0,96 a	13,54 c
DA	2,7	11 b	0,8 ab	13,75 c
WC	2,58	12,25 ab	0,4 b	30,63 a
WA	2,53	11,75 b	0,48 b	24,48 b

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, dentro de cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

** (DC) ‘Duke’ em câmara fria, (DA) ‘Duke’ ao ar livre, (WA) ‘Woodard’ ao ar livre, (WC) ‘Woodard’ em câmara fria,

O pH também pode interferir na proliferação de microrganismos patogênicos capazes de provocar deterioração. Quando o valor é inferior a 4,5 e mesmo aumentando no decorrer do amadurecimento, influência nas características sensoriais e na capacidade de conservação dos frutos (SOUZA, 2007).

Moraes et al. (2007), verificaram pH entre 2,56 e 2,67 no processamento de mirtilheiro ‘Woodard’ e constataram que esse parâmetro não sofre interferência durante o armazenamento do fruto.

Quanto aos sólidos solúveis, frutos colhidos de mirtilheiro ‘Woodard’ que permaneceu em câmara fria apresentaram maior teor em relação a frutos de ‘Duke’ em câmara fria e ao ar livre na primeira safra (Tabela 10). O teor de sólidos solúveis constitui-se em uma das variáveis mais importantes para medir o grau de maturação dos frutos (CONCENÇO et al., 2014).

Na segunda safra, os frutos de plantas ‘Duke’ expostas a câmara fria apresentaram o maior teor de sólidos solúveis em relação aos frutos de plantas ‘Duke’ ao ar livre e ‘Woodard’ ao ar livre, não diferindo apenas de ‘Woodard’ que também recebeu tal tratamento (Tabela 10).

Tais resultados corroboram com os observados por Antunes e Raseira (2006), que destacaram que o valor do Brix em frutos de mirtilheiro 'Woodard' geralmente é 12 e pode chegar a 13,9 °Brix na região de Pelotas-RS. Além disso, Fischer et al. (2014), em estudo com mirtilheiros em 2009/2010 e 2010/2011 verificaram, respectivamente, 12,3 e 14,5 °Brix para 'Bluegem', 12,4 e 14,2 °Brix para 'Powderblue' e 12,6 e 14,1 °Brix para 'Bluebelle'.

Em outro estudo realizado por Medeiros et al. (2016), no Estado do Paraná, que segundo a classificação de Köppen possui clima temperado ou subtropical úmido mesotérmico (Cfb), descreveram que nos frutos de 'Woodard' o teor foi de 11,05 °Brix no ciclo 2013/14 e 11,40 °Brix no ciclo 2014/15. Para 'Powderblue', de 13,27 °Brix, enquanto 'Georgiagem' apresentou 12,67 °Brix.

O brix é um importante parâmetro usado para a comercialização. No caso dos frutos comercializados para o consumo *in natura*, a colheita em média é feita com 11,3 à 11,8 °Brix e o suco do mirtilo deve apresentar no mínimo 10°Brix. Pode-se afirmar ainda que os principais açúcares existentes no mirtilo são a glucose e a frutose. Esses componentes solúveis representam cerca de 80% da matéria seca e seus teores influenciam no sabor dos frutos (SOUSA et al., 2006; MEDEIROS, 2016).

Com relação à acidez titulável (Tabela 10), a maior média foi verificada para frutos de 'Duke' que foi exposto à câmara fria nas duas safras. Estes valores estão próximos à média de 0,72% ácido cítrico registrado por Pelegri et al. (2012) na Serra da Mantiqueira-SP, em frutos de 'Climax'; inferiores à média de 1,00 e 1,88% obtido por Medeiros (2017) em estudo com 'Woodard' no Paraná. A variação dos resultados confirma que a acidez titulável é dependente da cultivar (SOUZA et al., 2014), bem como da condição climática na região em que os frutos são cultivados, entre outros.

Conforme Morgado et al. (2010), a acidez é de fundamental importância para a industrialização, pois confere maior dificuldade de deterioração por microrganismos e permite maior flexibilidade na adição de açúcar aos produtos.

Para o ratio, a maior relação SS/AT foi obtida no tratamento 'Woodard' ao ar livre, diferindo dos demais tratamentos na primeira safra (Tabela 10).

Na segunda safra, verificou-se a maior relação SS/AT nos frutos de mirtilheiro ‘Woodard’ exposto a câmara fria (Tabela 10). Medeiros et al. (2017) verificaram ratio de 11,05 e 6,17 em estudo com a cultivar Woodard cultivada em Paraná.

O aumento da relação SS/AT é desejável para a obtenção e aceitação de frutos para o consumo *in natura* (MORGADO et al. 2010), devido ao ratio ser o indicador utilizado para determinar o estágio de maturação, determinando o balanço do sabor doce: ácido. Assim, é útil na determinação da maturação da fruta, mostrando a melhor palatabilidade para o consumo *in natura* (MAYER et al., 2008).

De maneira geral, as características químicas dos mirtilos avaliados neste trabalho estão situadas dentro da faixa considerada ideal para mirtilos de qualidade, com pH entre 2,25 a 4,25, sólidos solúveis totais superior a 10%, acidez entre 0,3 a 1,3% e ratio entre 10 e 33 (BEAUDRY, 1992).

Na primeira safra a cultivar Woodard exposta a câmara fria foi a que apresentou maior número total de frutos, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Número e massa total dos frutos (mg), massa fresca do fruto MF(g) e diâmetro dos frutos (mm) dos mirtilheiros ‘Duke’ e ‘Woodard’ cultivados em vasos e mantidos em câmara fria e ao ar livre, nas safras 2018/2019 e 2019/2020, respectivamente. Capão do Leão-RS, 2021.

Tratamento	Nº total frutos	Massa total	MF	Diâmetro
2018				
DC**	156 b	265,2 ab	1,2 a	13,9 a
DA	147 b	130,6 c	0,7 b	12,3 b
WC	237 a	266,1 a	0,8 b	12,6 ab
WA	135 c	198,3 b	0,7 b	10,8 c
2019				
DC	600 a	1013 a	1,39 a	12,9 a
DA	50 c	47,3 d	0,89 b	11,9 b
WC	160 b	114 b	0,83 b	12,1 ab
WA	151 b	92,5 d	0,61 c	11,6 b

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, dentro de cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

** (DC) ‘Duke’ em câmara fria, (DA) ‘Duke’ ao ar livre, (WC) ‘Woodard’ em câmara fria, (WA) ‘Woodard’ ao ar livre.

Na segunda safra, a diferença mais evidente foi em mirtilheiro 'Duke' exposto a câmara fria, que apresentou maior número de frutos, enquanto plantas dessa mesma cultivar que permaneceram ao ar livre produziram menor número de frutos (Tabela 11).

Os resultados relacionados ao número total de frutos produzidos (Tabela 11), principalmente para a 'Duke' na segunda safra, podem estar associados às características da própria cultivar, como vigor, adaptação das mesmas às variações climáticas do local, ao aporte em frio a partir do uso da câmara fria, entre outros. Antunes et al. (2008) também observaram diferenças entre a produção de sete cultivares de mirtilheiros, com variação de 350 a 1630 g, e informaram que essas diferenças de produção podem ser consequência da diferença de vigor entre as cultivares, da polinização, entre outros fatores.

De acordo com Nesmith (2008), uma planta de mirtilheiro começa a produzir, em média, no terceiro ano e alcança a fase adulta com produção estável no sétimo ou oitavo ano. Além disso, uma área bem manejada, em plena produção, chega a produzir oito toneladas por hectare. Assim, os dados registrados no presente estudo também podem estar relacionados com o fato das plantas estarem no primeiro ano de produção.

A maior massa total de frutos foi verificada em mirtilheiro 'Woodard' exposto a câmara fria na primeira safra; entretanto, na segunda safra essa variável foi verificada com maior média em plantas 'Duke' que recebeu esse tratamento de frio (Tabela 11).

As médias de massa fresca dos frutos foram maiores nas duas safras para plantas 'Duke' expostas a câmara fria. Nas plantas de 'Woodard' que não receberam aporte de frio registrou-se as menores médias de massa fresca na segunda safra (Tabela 11).

Quanto ao diâmetro do fruto, as maiores médias foram verificadas em frutos de 'Duke' expostas a câmara fria nas duas safras, com 13,9 e 12,99 mm (Tabela 11). Segundo Pereira et al. (2013), a cultivar Duke apresenta em média o diâmetro de 12 mm.

Antunes et al. (2008), em estudo com 'Woodard' e 'Bluebelle' em Pelotas-RS, obtiveram frutos com diâmetros de 13,4 e 13,1 mm. Em Pinhais-PR,

Medeiros (2016) observou diâmetros de 16,14 e 15,03 mm para mirtilheiro 'Woodard' nas safras 2013 e 2014, valores superiores que os obtidos no presente estudo. De acordo com Childers & Lyrene, (2006), o diâmetro padrão de mirtilheiro situa-se entre 8 e 22 mm.

Via de regra, frutos maiores e mais pesados possibilitam maior retorno ao produtor; contudo, tanto a massa quanto o diâmetro podem interferir na comercialização do fruto e/ou na aceitação dos mesmos no mercado, por depender das preferências do consumidor, especialmente quando são vendidos para atender o mercado de mesa.

Em síntese, os resultados deste estudo podem estar relacionados às características de cada cultivar, à idade das plantas, ao clima, assim como ao período em que foram expostas ao ambiente frio nas duas safras. No entanto, dentre as cultivares, principalmente para o mirtilheiro 'Duke' o frio artificial propiciou maior produção de frutos e teor de sólidos solúveis na segunda safra, o que pode ser benéfico em termos de rentabilidade ao produtor, desde que isso se mantenha nas próximas safras.

A possibilidade de fornecer frio artificial para as plantas pode permitir a produção em regiões com condições climáticas não adequadas a essa frutífera, além da colheita fora de época. Essa produção na entressafra, conseqüentemente, gera preços mais elevados (WILLIAMSON & LYRENE, 2004).

6. 4. Conclusões

Os mirtilheiros 'Woodard' e 'Duke' expostos ao frio artificial apresentaram frutos com atributos físico-químicos compatíveis com o esperado para a região.

O frio artificial foi eficiente, principalmente para o cultivo de mirtilheiro 'Duke' na segunda safra.

7. Considerações finais

- A multiplicação *in vitro* de mirtilheiro 'Duke' pode ser realizada em sala de crescimento e em meio de cultura com 15 g. L⁻¹ de sacarose, no período de inverno.

- Em função das vantagens da multiplicação fotoautotrófica, outras cultivares podem ser avaliadas, visando a redução dos custos da produção de mudas na micropropagação mediante a substituição de lâmpadas fluorescentes por luz natural, aliado a redução de níveis exógenos de sacarose no meio de cultura.

- O cultivo de mirtilo em vasos e a exposição ao frio artificial podem ser alternativas promissoras, especialmente nas regiões com limitações edafoclimáticas.

- Nas condições de Pelotas-RS, de maneira geral, o aporte em frio não influenciou no crescimento vegetativo das plantas. Entretanto, para as características físico-químicas e produtivas, a utilização de frio artificial pode ser uma opção promissora, principalmente para o mirtilheiro 'Duke' cultivado em vaso.

8. Referências

ABBOTT, J. D.; GOUGH, R. E. *Seasonal development of highbush blueberry roots under sawdust mulch*. **HortScience**, 112: 60-62, 1987.

AFREEN, F. ZOBAYED, S.M.A.; KOZAI, T. Photoautotrophic culture of *Coffea arabusta* somatic embryos: photosynthetic ability and growth of different stage embryos. **Annals of Botany**, v.90, p.11-19, 2002.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 2nd. ed. New York: Academic Press, 1978. 703 p.

ABBOTT, J. D.; GOUGH, R. E. *Seasonal development of highbush blueberry roots under sawdust mulch*. **HortScience**, v.112, p. 60-62, 1987.

AFREEN, F. ZOBAYED, S.M.A.; KOZAI, T. Photoautotrophic culture of *Coffea arabusta* somatic embryos: photosynthetic ability and growth of different stage embryos. **Annals of Botany**, v.90, p.11-19, 2002.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 2nd. Ed. New York: Academic Press, 1978. 703 p.

ALBANY, N. R.; VILCHEZ, J. A.; GARCIA, L.; JIMENEZ, E. Comparative study of morphological parameters of Grand Nain banana (*Musa AAA*) after *in vitro* multiplication with growth retardants. **Plant cell, Tissue and Organ culture**, v. 83, p. 357-361, 2005.

AMIN, A. DA S. S.; LIMA, A. F. B. DE; NASCIMENTO, L. O.; ORTEGA, G. P.; MOREIRA, J. G. DO V. Casca de arroz carbonizada na produção de mudas de mogno (*Swietenia macrophylla*). **South American Journal of basic education, technical and technological**, v. 7, p. 293-300, 2020.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B.; (Ed.). **Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 99p. (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 8).

ARRUDA, A. L. Posição dos explantes na multiplicação *in vitro* de mirtilheiro cultivar O'neal. **Revista da Jornada da Pós Graduação e Pesquisa**, v. 14, n. 14, p.1-8, 2017.

BANADOS, MP. Expansão da produção de mirtilo em áreas de produção não tradicionais: Norte do Chile e Argentina, México e Espanha. **Acta Horticulturae**, v. 810, p.439–444, 2009.

BANDINELLI, M.G. BISOGNIN, D. A.; GNOCATO, F. S.; MAMBRIN, R. B.; SAUSEN, D.; NICOLOSO, F. T. Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação *in vitro* e na aclimatização de batata. **Horticultura Brasileira**, v.31, p.242-247, 2013.

BEAUDRY, R. **Blueberry quality characteristics and how they can be optimized**. In Annual Report of the Michigan State Horticultural Society (122nd) (Morrice, MI, USA: Michigan State Horticultural Society), p. 140–145, 1992.

BESSON, J. C. F.; OLIVEIRA L. K.; BONETT, L. P.; STEFANELLO, S. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n.1, p. 9 - 13, 2010.

BRAGA, F. T.; MOACIR, P., CASTRO, E. M. DE; DIGNART, S. L.; RAFAEL G, C; NUNES C, F. Luz natural e sistemas de vedação na propagação *in vitro* de crisântemo cv. Rage: alterações anatômicas e fisiológicas. **Plant Cell Culture Micropropagation**, v. 6, n. 2, p. 83-89, 2010.

CAO, X.; FORDHAM, I.; DOUGLASS, L.; HAMMERSCHLAG, F. Sucrose level influences micropropagation and gene delivery into leaves from *in vitro* propagated highbush blueberry shoots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.75, p.255-259, 2003.

CARLSON, J, HANCOCK, J. A Methodology for Determining Suitable Heat-Unit Requirements for Harvest of Highbush Blueberry. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.116 (5), p.774–779, 1991.

COLETTI, Roberto. **Fenologia, produção e superação da dormência do mirtilo em ambiente protegido**. 2009. 87p. Dissertação (Mestrado) em Agronomia. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo. 2009.

COLETTI, R.; NIENOW, A. A.; CALVETE, E. O. SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE CULTIVARES DE MIRTILEIRO EM AMBIENTE PROTEGIDO COM CIANAMIDA HIDROGENADA E ÓLEO MINERAL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 685-690, 2011.

CONCENÇO, F. I. G. Da R. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA, CASCA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p.1177-1187, 2014.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; ROCHA, H. S.; PEREIRA, J. E. S.; CASTRO, E. M. DE; MIYATA, L. Y. Crescimento e anatomia foliar de bananeiras submetidas a diferentes condições de cultivo *in vitro*. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p. 303-311, 2009.

COUTO, T. R.; SILVA, J. R. DA, NETTO A. T., CARVALHO, V. S.; CAMPOSTRINI E. Eficiência fotossintética e crescimento de genótipos de abacaxizeiro cultivados *in vitro* em diferentes qualidades de luz, tipos de frasco de cultivo e concentrações de sacarose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 459-466, 2014.

COUTINHO, E. F.; FRANCHINI, E. R.; MACHADO, N. P.; CASAGRANDE, J. G., JR. **Propagação de mirtilo do tipo Rabbiteye por estaquia e alporquia**. Embrapa Clima Temperado, v. 1, n. 1, p.2-24, 2007.

DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação fotoautotrófica de mirtilo através do uso de luz natural. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p. 482- 487, 2008.

DARNELL, R., DAVIES, F. Chilling Accumulation, Bud break, and Fruit Set of Young Rabbiteye Blueberry Plants. **HortScience**, v.25 (6), p.1988–1991, 1990.

DARNELL, R.L. **Blueberry Botany/Environmental Physiology**. In: Childers, N., Lyrene, P., eds. Blueberries for Growers, Gardeners, Promoters. Gainesville, USA: AgScience, 5-13, 2006.

DAVIDSON, K.T., ZHU, Z., BALABANOV, D.; ZHAO, L. WAKEFIELD, M. R.; BAI, Q.; FANG, Y. Beyond Conventional Medicine - a Look at Blueberry, a

Cancer-Fighting Superfruit. **Pathology & Oncology Research**, v. 24, p. 733–738, 2017.

EAP - Boletins Agroclimatológicos da Estação Agroclimatológica de Pelotas, 2018. Disponível em: < <http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao.boletim.php>>
Acesso em: 1 abr. 2020.

ECK, P., GOUGH, R., HALL, J. V, SPIERS, J. **Blueberry management. Small fruit crop management**. New Jersey: Englewood Cliffs. p.273–333. 1990.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUARIA E EXTENSAO RURAL DE SANTA CATARINA. **A cultura da macieira**. Florianopolis: EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de SC, 2006. 743p.

FANG, Y.; NUNEZ, G. H.; SILVA, M. N. DA; PHILLIPS, D. A.; MUNOZ, P. R. Uma análise dos sistemas alternativos de produção de mirtilo da Southern Highbush, **Horticultura e Floricultura**, v. 10 (10), p. 1531, 2020.

FANG, Y.; NUNEZ, G. H.; SILVA, M. N. DA; PHILLIPS, D. A.; MUNOZ, A. Review for Southern Highbush Blueberry Alternative Production Systems. **Horticultural Sciences**, v. 10 p. 1531, 2020.

FARIA, R. T.; RODRIGUES, F. N.; OLIVEIRA, L. V. R.; MÜLLER, C. *In vitro* *Dendrobium nobile* plant growth and rooting in different sucrose concentrations. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.4, p.780-783, 2004.

FINN, C. E; HANCOCK, J. F; OLMSTEAD, J. W; BRAZELTON, D. M. O cultivo de mirtilo mistura o privado e o público com o tradicional e molecular para criar um novo e vibrante coquetel. **Acta Horticulture**, v.1017, p. 51–62, 2014.

FISCHER, D. L. de O.; FACHINELLO, J. C.; PIANA, C. F. de B.; BIANCHI, V. J.; MACHADO, N. P. Seleção de genótipos de mirtilheiro obtidos a partir de polinização aberta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.1, p.221-231, 2014.

FONSECA, L. L. Da.; OLIVEIRA, P. B. **A planta de mirtilo: morfologia e fisiologia**. 2007.
Disponível<http://www.inrb.pt.fotos.editor2.inia.manuais.2__a_planta_de_mirtilo__morfologia_e_fisiologia.pdf>. Acesso em 27.02.2021.

FONSECA, L. L.; OLIVEIRA, P. B. **Produção de mirtilos em cultura protegida**. Agronegócios em: <http://www.agronegocios.eu/noticias/producao-de-mirtilos-em-cultura-protegida>. 2014.

GASPAR, Fabio André Aparício. **Identificação e quantificação de hidratos de carbono nas raízes de mirtilo e framboesa**. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

GOUGH, R, HINDLE, R., SHUTAK, V. Identification of ten Highbush blueberry cultivars using morphological characteristics. **HortScience**, v.11, p.512–514 1976.

GOUGH, R. E. **O mirtilo highbush e sua gestão**. Food Products Press. Nova York, NY, 1994.

GOULART, B. L.; DEMCHAK, K.; YANG, W. Q. Effect of cultural practices on 'Bluecrop' field-grown highbush blueberries, with emphasis on levels of mycorrhizal infection. **Acta Horticulturae**, n. 466, p.271- 280, 1997.

HALL, I. V.; CRAIG, D. L.; AALDERS, L. E. O efeito do fotoperíodo no crescimento e floração do mirtilo highbush (*Vaccinium corymbosum* L.) **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**. v. 82: p. 260-263, 1963.

HANCOCK, J. F.; LYRENE, P.; FINN, C. E.; VORSA, N. E.; LOBOS, G. A. Mirtilos e cranberries. Temp. Raça De Colheita De Frutas. **Germplasm Genomic**. v. 290, p.115–149, 2008.

HOLZAPFEL, E. A.; HEPP, R. F.; MARIÑO, M. A.; Efeito da irrigação na produção de frutos em mirtilo. **Agricultural Water Management**, v.67, 173-184, 2004.

HOFFMANN, A.; ANTUNES, L. E. C. **Especial como cultivar**. EMBRAPA. Disponível em <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/como_cultivar_mirtilo.pdf>. Acesso em 19.03.2021.

KALT, W.; RYAN, D. A. J; DUY, J. C.; PRIOR, R. L.; EHLENFELDT, M. K.; VANDER, K, S. P. Variação interespecífica em antocianinas, fenólicos e capacidade antioxidante entre os genótipos de mirtilo arbusto e arbusto baixo (seção *Vaccinium Cyanococcus* spp.) **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v.49, p. 4761–4767, 2001.

KÄMPF, A. N. **Floricultura: técnicas de preparo de substratos**. Brasília: LK, 2006. 132p.

LEMES, C. S. R.; I; SORGATO, J. C.; SOARES, J, S.; ROSA, Y. B. C. J. Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*, **Ciência Rural**, v.46, n.3, p.499-505, 2016.

LEITZKE, L. N., DAMIANI, C. R., SCHUCH, M. W. MEIO DE CULTURA, CONCENTRAÇÃO DE AIB E TEMPO DE CULTIVO NO ENRAIZAMENTO IN VITRO DE AMOREIRA-PRETA E FRAMBOESEIRA. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 582-587, 2009.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society**, v.30, p.421-327, 1981.

LYRENE, P. M, VORSA, N.; BALLINGTON, J. R. Poliploidia e poliploidização sexual no gênero *Vaccinium*. **Euphytica**, v.133, p. 27-36, 2003.

MASIEIRO, Daniele de Souza. **Cultivo *in vitro* de batata-doce**. 2017. 81f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

MADEIRA, B. Requisitos de frio de pequenos frutos. **Agrotec Revista técnica científica agrícola**. Suplemento: Pequenos Frutos, p.17–19, 2013.

MAINLAND, C. Blueberry fruit set and intervals from blossoming to ripening. **Acta Horticulturae**, v.574, p.189–192, 2000.

MAYER, N. A.; MATTIUZ, B.; PEREIRA, F. M.; Qualidade pós-colheita de pêssegos de cultivares e seleções produzidos na microrregião de Jaboticabal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 616-621, 2008.

MASABNI, J. **Blueberry Production**. (UKREC). Princeton, KY, 2007.

MARTINS, S., LOPES, A., LOPES, M. Resultados preliminares do campo experimental de mirtilos da Estação Agrária de Viseu. Agrotec, Suplemento: **Pequenos Frutos**, 11(2º Trimestre), p.12–16. 2015.

MEDEIROS, J. G. S.; BONA, C. M. de; CUQUEL, F. L.; BIASI, L. A.; Performance of blueberry cultivars under mild winter conditions. **Ciência Rural**, v.47: p.09, 2017.

MENDES, P. S.; Cultivo *in vitro* de plantulas de abacaxizeiro com uso de filtros, ventilação artificial e sacarose. **Revista Agro@mbiente**, v. 9, n. 2, p. 202- 207, 2015.

MOMOLI, L. W.; **Crescimento e desenvolvimento de plantas de mirtilo, cultivar clímax, inoculadas com *Azospirillum brasilense***. 2018. 75f. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual De Ponta Grossa. 2018.

MOURA, Gyseli Corrêa de. **Management aspects and blueberry cultivars: quality and productivity**. 132 p, tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

MORGADO, M. A. D.; SANTOS, C. E. M.; HELOISA, L.; BRUCKNER, C. H. Correlações fenotípicas em características físico-químicas do maracujazeiro-azedo. **Acta Agronômica**, v. 59, n. 4, p. 457-461, 2010.

NAVA, D. E. Perspectivas do sistema de manejo integrado de moscas das frutas:um caminho para o desenvolvimento sustentável da fruticultura no Brasil. V Congresso Brasileiro de Fitossanidade Desafios e Avanços da Fitossanidade. **Anais** palestras e resumos. Curitiba, 2019.

NESMITH, D. S. A summary of current and past blueberry cultivars grown in Georgia. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 4. ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2008, Pelotas. **Palestras e resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.53-64, 2008.

NESMITH, D., BRIDGES, D. Modeling Chilling Influence on Cumulative Flowering: A Case Study Using 'Tifblue Rabbiteye Blueberry. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 117(5), p. 698–702, 1992.

OCHMIAN, I.; MALINOWSKI, R.; KUBUS, M.; MALINOWSKA, K.; SOTEK, Z.; RACEK, M. The feasibility of growing highbush blueberry (*V. corymbosum* L.) on loamy calcic soil with the use of organic substrates. **Scientia Horticultura**, v.257, p.86-90, 2019.

OLYMPIOS, C. M. Visão geral da cultura sem solo: Vantagens, limitações e perspectivas para a sua utilização nos países mediterrânicos. **CIHEAM – Options Méditerranéennes**, v.31, p. 307–324, 1999.

PARENTE, C. S. **Efeito do frio artificial na quebra da dormência e produtividade do mirtilo (*Vaccinium corymbosum*)**. Lisboa: ISA- Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, 2014.

PELEGRINE, D. H. G.; ALVES, G. L.; QUERIDO, A. F.; CARVALHO, J. G. Geleia de mirtilo elaborada com frutas da variedade climax: desenvolvimento e análise dos parâmetros sensoriais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 3, p. 225-231, 2012.

PELIZZA, T. R.; DAMIANI, C. R.; RUFATO, A. R.; SOUZA, A. L. K DE; RIBEIRO, M. DE F.; SCHUCH M. W. Microestaquia em mirtilo com diferentes porções do ramo e substratos. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 319-324, 2011.

PELIZZA, T. R.; NASCIMENTO, D. C.; AFFONSO, L. B.; CAMARGO, S. S.; CARRA, B.; SCHUCH, M. W. Enraizamento de plântulas de mirtilo em condição *ex vitro* em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.1, p.255-261, 2012.

PINTO, Rita Martins. **Melhoria das técnicas culturais na produção de mirtilo em substrato**. 2015. 82p. Dissertação (mestrado), Universidade de Lisboa, Lisboa, 2015.

KIRK, A., ISAACS, R.; Predicting flower phenology and viability of Highbush blueberry. **Hortscience**, v.47 n.9, p.1291–1296. 2012.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.

KODYM, A.; ZAPATA, ARIAS, F.J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 66, p. 67-71, 2001.

RETAMALES, J. B. & HANCOCK, J. F, **Blueberries**. London: CABI. 2012.

RETAMALES, J. B.; HANCOCK, J. F. **Amoras**. Wallington: CABI. 2018.

REYES-CARMONA, J.; YOUSEF, G. G.; MARTÍNEZ-PENICHE, R. A.; LILA, M. A. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus sp.*) produced in different climatic regions. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 7, p. 497-503, 2005.

RIBEIRO, D. P.; CORSATO, C. E.; FRANCO, A. A. N.; LEMOS, J. P.; PIMENTEL, R. M. A. Fenologia e exigência térmica da videira 'Benitaka' cultivada no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.1, p.296 - 302, 2010.

RIBEIRO, M. F. A. Fontes de carbono na multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de marmeleiro 'MC' e 'Adams'. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, v.11, p. 54-61, 2015.

RISTOW, N. C.; ANTUNES, L. E. C.; CARPENEDO, S. Substratos para o enraizamento de microestacas de mirtilheiro cultivar Georgiagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 262-268, Março 2012.

ROCHA, H. S. Biofábricas: estrutura física e organização. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, p. 134-164, 2013.

ROCHA, P. S. G.; OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Sugarcane micropropagation using light emitting diodes and adjustment in growth-medium sucrose concentration. **Ciência Rural**, v.43, n.7, p.1168-1173, 2015.

RODRIGUEZ-SAONA, C., VINCENT, C. E ISAACS, R. Blueberry IPM: Past Successes and Future Challenges. v. 64, p. 95-114, 2019.

RUFATO, A. de R.; ANTUNES, L. E. C. (ed.). **Técnicas de produção de framboesa e mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016. 90 p.

SANTOS, L., RIBEIRO, H., MADEIRA, B., ABREU, I. & BRÁS DE OLIVEIRA, P. Escala de observação fenológica para a cultura do mirtilo. **Revista Pequenos Frutos**, 9:6-7, suplemento da AGROTEC 13, 2014.

SANTOS, L., RIBEIRO, H., MADEIRA, B., ABREU, I. & BRÁS DE OLIVEIRA, P. Fenologia da cultivar Duke em diferentes partes do país. **IV Encontro Nacional de Produtores de Mirtilo**, 7 e 8 de novembro, Vila Verde, Portugal, 2014.

SANTOS, L., RIBEIRO, H., MADEIRA, B., ABREU, I.; BRÁS de OLIVEIRA, P. **Fenologia da cultivar Duke em diferentes partes do país**. IV Encontro Nacional de Produtores de Mirtilo, 7 e 8 de novembro, Vila Verde, Portugal, 2014.

SANTOS, L., RIBEIRO, H., MADEIRA, B., ABREU, I.; BRÁS DE OLIVEIRA, P. Fenologia de *Vaccinium corymbosum* cultivar Duke em várias regiões de Portugal Continental. Suplemento da AGROTEC 16. **Revista Pequenos Frutos**, v.12, p.18-20, 2015.

SILVA, R. B. G, SIMÕES, D. SILVA M. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16: p. 297-302, 2012.

SILVA, A. B. DA.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. DE, RAMOS, J. D.; BRAGA, F. T.; ARAUJO, A. G. DE, Luz natural, sacarose e fitorreguladores na anatomia foliar e crescimento *in vitro* de abacaxizeiro micropropagado. **Plant Cell Culture Micropropagation**, Lavras, v. 8, n. 1-2, p. 1-9, 2012.

SILVA, A. B. da; CORREA, V. R. S.; TOGORO, A. H.; SILVA, J. A. dos S. EFEITO DA LUZ E DO SISTEMA DE VENTILAÇÃO NATURAL EM ABACAXIZEIRO (Bromeliaceae) MICROPROPAGADO. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p. 380-386, 2014.

SILVA, M. N. **Fisiologia de mirtilheiros de baixa exigência em frio, cultivados em região subtropical**. 2018. 52p. Dissertação de mestrado – Escola Superior “Luís De Queiroz”- ESALQ-USP. 2018.

SHUTAK, V.G., GOUGH, R.E., WINDUS, N.D. *The cultivated highbush blueberry: twenty years of research*. **Rhode Island Agricultural Experiment Station Technical Bulletin**, 428, 1980.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 449-484.

TECCHIO, M. A.; TERRA, M. M.; MOURA, M. F.; PAIOLI-PIRES, E. J. Fenologia e acúmulo de graus-dia da videira ‘Niágara Rosada’ cultivado ao noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.especial, p.248-254, 2011.

TOURÓN, E. C. **Análisis Comparado de la Fenologia del cv. Mencía**. Proyecto fin de carrera (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Vigo, 189p. 2005.

VOOGT, W.; DIJK, V.; P.; DOUVEN, F.; MAAS, V. D. R. Desenvolvimento de um sistema de cultivo sem solo para mirtilos (*Vaccinium corymbosum*): Demanda de nutrientes e solução de nutrientes. **Acta Horticulturae**. v. 1017, p.215–221, 2014.

WHIDDEN, A. Métodos de produção comercial de mirtilo em Hillsborough County. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. v. 121, p. 36–37. 2008.

WILLIAMSON, J.; KREWER, G.; PAVLIS, G.; MAINLAND, C. Blueberry soil management, nutrition and irrigation, eds Eck P., CHILDERS, N.F., LYRENE, P. M. (**Blueberries: For growers, gardeners, promoters**. Dr. Norman F. Childers Publications, Gainesville, FL), p. 60–74, 2006.

WOLFE, K.; KANG, X. H. E. X.; DONG, M.; ZHANG, Q.; LIU, R. Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.8418–8426. 2008.