

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-graduação em Agronomia



Tese

**Propagação de mirtilheiro através de
micro e miniestaquia**

Tânia Regina Pelizza

Pelotas, 2009.

Tânia Regina Pelizza

Propagação de mirtilheiro através de
micro e miniestaquia

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: Fruticultura de Clima Temperado.

Orientadora: Professora Márcia Wulff Schuch – UFPel/FAEM

Co-orientadora: Pesquisadora Dra. Andréa de Rossi Rufato –
EMBRAPA/CNPUV

Pelotas, 2009.

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

P384p Pelizza, Tânia Regina

Propagação de mirtilheiro através de micro e miniestaquia / Tânia Regina Pelizza; orientador Márcia Wulff Schuch; co-orientador Andréa de Rossi Rufato. - Pelotas, 2009 – 110 f. ; il - Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2009.

1. Mirtilo 2. Fitorreguladores 3. Crescimento
4. Aclimatização 5. Cobertura plástica 6.
Substrato 7. Vaccinium spp. I. Schuch, Márcia

Banca examinadora:

Márcia Wulff Schuch, Dra. Universidade Federal de Pelotas (UFPel/FAEM)

Leo Rufato, Dr. Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC/CAV)

Luis Eduardo Corrêa Antunes – Dr. Embrapa Clima Temperado (CPACT)

Flavio Gilberto Herter, Dr. Universidade Federal de Pelotas (UFPel/FAEM)

Carlos Rogério Mauch, Dr. Universidade Federal de Pelotas (UFPel/FAEM)

Ao meu companheiro Norberto Cavaşin,
pelo amor, atenção e compreensão
incondicional dispensada ao longo destes
anos...

DEDICO

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por iluminar todos os dias de minha existência e por abrir as portas certas nos momentos certos.

À Universidade Federal de Pelotas por aceitar-me como aluna de Pós-graduação em Agronomia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por conceder a bolsa de estudos o que possibilitou a condução deste trabalho.

À professora Márcia Wulff Schuch por aceitar-me como sua orientada, por sua confiança e apoio dispensado durante o doutorado.

À pesquisadora e co-orientadora deste trabalho Andréa de Rossi Rufato por sua atenção, conselhos e ajuda, inclusive pessoal.

À Cláudia Roberta Damiani, pela ajuda na condução dos trabalhos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela contribuição para minha formação técnica.

Aos colegas do Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, à Mirian Farias Ribeiro, Luana Borges Affonso, André Kulkamp de Souza, Daniele Camargo Nascimento e aos bolsistas Geniane Lopes Carvalho, Bruno Carra e Samila Camargo, sem a ajuda de vocês tudo seria muito mais difícil. Formamos realmente um excelente grupo de trabalho.

Aos colegas de Pós-graduação em Agronomia, pelas horas de estudo, trabalho e vivência compartilhada nestes três anos.

À todos os brasileiros por financiarem meus estudos.

À todos os que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação profissional, e que não foram mencionados, meus agradecimentos.

Resumo

PELIZZA, Tânia Regina. **Propagação de mirtilheiro através de micro e miniestaquia**. 2009. 110 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O presente estudo teve por objetivo abordar vários aspectos relacionados à propagação do mirtilheiro (*Vaccinium spp*). Para isso, os trabalhos foram divididos em cinco capítulos, sendo no primeiro capítulo abordado o enraizamento *ex vitro* de (três) cultivares de mirtilheiro (Bluebelle, Woodard e Georgiagem) (em cinco diferentes) nos substratos Plantmax[®]; Plantmax[®] + serragem curtida (1:1); serragem curtida; Plantmax[®] + vermiculita (1:1) e vermiculita. Foi avaliada a percentagem de enraizamento, formação de calo, explantes sobreviventes, comprimento e número de raízes, comprimento da maior raiz, altura dos explantes, número de brotações e massa fresca total. No segundo capítulo é abordado o processo de aclimatização e crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro da cultivar 'Climax' com o uso de diferentes substratos (casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil[®], Plantmax[®] + vermiculita e solo + serragem jovem de pinus) com o uso de dois sistemas de cobertura (com e sem cobertura plástica sobre as plantas) avaliado ao longo de 210 dias. Neste trabalho foi avaliada a percentagem de sobrevivência, o incremento de altura, a biomassa fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular das plantas. O terceiro capítulo aborda o processo da microestaquia de mirtilheiro 'Climax' comparando substratos (Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada (1:1); Húmus Fértil[®] e Vermicomposto Bovino) e duas porções do ramo (mediana e apical). Foi avaliada a percentagem de enraizamento, sobrevivência, formação de calo, número e comprimento médio de raízes, comprimento da maior raiz, número médio de folhas e de brotações. O uso de fitorreguladores – benzilaminopurina (BAP) e giberelina (GA₃) – em diferentes concentrações (testemunha – sem reguladores, 250 mg/L de BAP, 250 mg L⁻¹ de BAP + 250 mg L⁻¹ de GA₃), no crescimento de miniestacas de 'O'Neal' em cinco tempos de avaliação (0, 30, 60, 90 e 120 dias) é abordado no quarto capítulo. Foi avaliada a altura das miniestacas, número de folhas, número e comprimento médio de brotações laterais. A seguir aborda-se o crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro 'Georgiagem' com o uso de diferentes concentrações de GA₃ (0, 50, 100 e 150 mg L⁻¹) em função do tempo (0, 30 e 60 dias) onde foi avaliada a altura de planta, número e comprimento médio de brotações, biomassa verde e seca da parte aérea e da raiz. Os melhores substratos para enraizamento *ex vitro* de explantes de mirtilheiro foram vermiculita e serragem

curtida. Dentre as cultivares, Bluebelle e Woodard apresentaram melhores resultados. O substrato e sistema de cobertura indicados para a aclimatização e o crescimento de plantas de mirtilheiro 'Climax' são Plantmax® + vermiculita sem cobertura plástica. Microestacas medianas proporcionaram melhores resultados para o enraizamento de mirtilheiro 'Climax'. A combinação de Plantmax® + casca de arroz carbonizada é (mostrou ser) o melhor substrato para enraizamento de microestacas de mirtilheiro. Os fitorreguladores BAP + GA₃ apresentaram respostas iguais à testemunha quanto ao comprimento médio de brotações e número de folhas. O crescimento em altura e o número de brotações das miniestacas de mirtilheiro 'O'Neal aumentaram com o tempo e foram independentes do uso de fitorregulador. Plantas de mirtilheiro 'Georgiagem' respondem positivamente à ação da giberelina, sendo que está se dá principalmente sobre a parte aérea da planta. A concentração de 50 mg L⁻¹ de GA₃ é suficiente para obter resposta das plantas de mirtilheiro quanto ao seu crescimento.

Palavras-chave: Aclimatização, cobertura plástica, crescimento, fitorreguladores, mirtilo, substrato, *Vaccinium spp.*

Abstract

PELIZZA, Tânia Regina. **Blueberry propagation through micro and mini-cuttings.** 2009. 110 f. Thesis (Doctorate) – Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The present study aimed to group several aspects related to blueberry propagation (*Vaccinium spp.*). Therefore, the trial was separated into five chapters. The first chapter investigated the ex vitro rooting of blueberry cultivars (Bluebelle, Woodard and Georgiagem) in the substrates (Plantmax[®]; Plantmax[®] + old saw (1:1); old saw; Plantmax[®] + vermiculite (1:1) and vermiculite. It was evaluated the percentage of rooting, callus formation, surviving explants, length and number of roots, length of the largest root, height of explants, number of shoots and total fresh mass. In the second chapter it was studied the process of acclimatization and growth of micropropagated blueberry plants cultivar Climax by using different substrates (carbonized rice hull + Húmus Fértil[®], Plantmax[®] + vermiculite and soil + young saw of pinus) and two covering systems (with or without plastic covering on plants). The trial was assessed during 210 days. In this work it was evaluated the surviving percentage, increment of height, fresh and dry biomass of the aerial part and root of the plants. The third chapter investigates the microcuttings process of the blueberry 'Climax' by comparing different substrates (Plantmax[®] + carbonized rice husks (1:1); Húmus Fértil[®] and Vermicompost of cattle) and two types of microcuttings (median and apical). It was evaluated the rooting percentage, surviving, callus formation, number and length of roots, length of the largest root, number of leaves and shoots. The effect of phytohormones – Benzylaminopurine (BAP) and gibberellins (GA₃) – in different concentrations (control, 250mg/L of BAP, 250mg/L of BAP + 250mg/L of GA₃) on growth of minicuttings 'O'neal' at five evaluations (0, 30, 60, 90 and 120 days) is assessed in the fourth chapter. It was measured: minicuttings height, number of leaves, number and mean length of lateral shoots. And, the fifth chapter evaluated the growth of micropropagated blueberry plants cultivar Georgiagem, using different concentrations of GA₃ (0, 50, 100 and 150 mg/L) regarding period (0, 30 and 60 days). It was measured: plant height, number and mean length of shoots, fresh and dry biomass of aerial part and root. The best substrates for ex vitro rooting of blueberry explants were vermiculite and old saw. Among cultivars, Bluebelle and Woodard showed the greatest results. The substrate and covering system indicated for acclimatization and growth of blueberry plants 'Climax' are Plantmax[®] +

carbonized rice hull without plastic covering. Median microcuttings promoted better results for rooting of the blueberry 'Climax'. The combination of Plantmax[®] + carbonized rice rusks is the best substrate for microcutting rooting of blueberry. The phytohormones BAP + GA₃ showed similar behavior to the control treatment regarding mean length of shoot and number of leaves. The growth in height and shoots number of the blueberry minicuttings 'O'Neal' increased by time and are independent of the use of phytohormone. Blueberry plants 'Georgiagem' positively responds to gibberellins action, mainly the aerial part of the plant. The concentration at 50mg L⁻¹ de GA₃ is sufficient to obtain blueberry plant response regarding growth.

Keywords: Acclimatization, plastic covering, growth, phytohormone, blueberry, substrate, *Vaccinium spp.*

SUMÁRIO

Resumo	6
Abstract	8
Sumário	10
1 Introdução geral	12
2 Revisão de literatura.....	14
2.1 A Fruticultura brasileira.....	14
2.2 A Cultura do mirtilheiro	16
2.2.1 O Fruto	16
2.2.2 Os grupos.....	17
2.2.3 As cultivares utilizadas	17
2.2.4 Produção	18
2.2.5 Mercado	19
2.3 Propagação.....	20
2.3.1 Propagação através da estaquia.....	20
2.3.2 Micropropagação.....	22
2.3.2.1 Enraizamento ex vitro.....	24
2.3.2.2 Aclimatização	25
2.3.3 Microestaquia	26
2.3.4 Miniestaquia	28
2.3.5 Substrato	31
2.3.6 Fitorreguladores	34
2.3.7 Tempo de avaliação	36
3 Metodologia geral.....	37
4 CAPITULO I - ENRAIZAMENTO DE EXPLANTES DE MIRTILEIRO EM CONDIÇÃO EX VITRO EM DIFERENTES SUBSTRATOS	39

4.1 Introdução	39
4.2 Material e métodos	40
4.3 Resultados e discussão.....	42
4.4 Conclusões.....	51
5 CAPITULO II - ACLIMATIZAÇÃO E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE MIRTILEIRO 'CLIMAX' MICROPROPAGADAS EM FUNÇÃO DO SUBSTRATO E DA COBERTURA PLÁSTICA	52
5.1 Introdução	52
5.2 Material e métodos	53
5.3 Resultados e discussão.....	56
5.4 Conclusões.....	66
6 CAPITULO III – MICROESTAQUIA EM MIRTILEIRO: USO DE DIFERENTES PORÇÕES DO RAMO E SUBSTRATOS	67
6.1 Introdução	67
6.2 Material e métodos.....	68
6.3 Resultados e discussão.....	69
6.4 Conclusões.....	76
7 CAPITULO IV – CRESCIMENTO DE MINIESTACAS DE MIRTILEIRO COM O USO DE DIFERENTES FITORREGULADORES	77
7.1 Introdução	77
7.2 Material e métodos.....	78
7.3 Resultados e discussão.....	79
7.4 Conclusões.....	85
8 CAPITULO V – CRESCIMENTO DE MIRTILEIRO MICROPROPAGADO COM O USO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA ₃	86
8.1 Introdução	86
8.2 Material e métodos.....	87
8.3 Resultados e discussão.....	88
8.4 Conclusões.....	94
Considerações Finais	95
Referências bibliográficas	97

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo comercial do mirtilheiro (*Vaccinium virgatum* e *Vaccinium corymbosum*) no Brasil é relativamente recente se comparado a países da América do Norte e Europa. A introdução desta cultura no Brasil se deu na década de 80 através da Embrapa Clima Temperado (EMBRAPA/CPACT – Pelotas). O seu cultivo parece ser promissor, se analisado sob o ponto de vista do mercado para exportação, já que o Brasil produz o fruto no período de entressafra da América do Norte, mas há também um mercado interno a ser explorado, para o consumo do fruto *in natura* ou para o processamento (elaboração de geléias, sorvetes, polpas, etc).

No Rio Grande do Sul, mais especificamente no município de Pelotas, pesquisas com a cultura do mirtilheiro têm sido conduzidas na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas e na Embrapa Clima Temperado, cuja finalidade principal é buscar respostas ao questionamento de produtores e viveiristas. Vários trabalhos já foram conduzidos para avaliar a propagação do mirtilheiro, no entanto, a maior parte delas está relacionada à propagação via estaquia e algumas vezes ao uso da miniestaquia. Os resultados obtidos são diversos, haja vista que o mirtilheiro apresenta respostas diferentes de acordo com as cultivares testadas.

O uso da estaquia, como forma de propagação das plantas, é uma das principais formas de propagação de plantas frutíferas. A partir do uso em espécies florestais, começou-se a propagar várias espécies frutíferas através da miniestaquia e da microestaquia, ou seja, com o uso de pequenos propágulos das plantas, com tamanhos entre 3-8 cm e com folhas e gemas, oriundos de plantas matrizes com origem da estaquia, dando origem a miniestacas e plantas matrizes micropropagadas, dando origem a microestacas.

No Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Pelotas tem-se buscado pesquisar a micro e a macropropagação. Trabalhos relacionados ao estabelecimento, multiplicação *in vitro*, multiplicação fotoautotrófica, enraizamento *in vitro* e *ex vitro*, aclimatização e crescimento da planta foram desenvolvidos ao longo dos anos. Nacionalmente, a maior parte destes trabalhos são executados apenas nesta instituição de ensino, embora outros tantos também sejam conduzidos na Embrapa Clima Temperado, mas com um direcionamento maior para a macropropagação.

O uso da técnica da micropropagação possibilita a obtenção de um grande número de plantas em um curto período de tempo e em pequeno espaço. Dentro do processo de obtenção de uma nova planta através da micropropagação, o enraizamento *ex vitro* de explantes de mirtilheiro é uma etapa que possibilita obter materiais com raízes viáveis, de melhor qualidade do que quando se realiza o enraizamento *in vitro*. No momento da aclimatização, explantes enraizados em condição *ex vitro*, dão maior suporte à planta favorecendo este processo. A aclimatização é uma das etapas que exige extremo cuidado e atenção, pois esta é uma fase limitante para a sobrevivência das plantas.

O preço final de obtenção de uma nova planta micropropagada é muito semelhante ao de uma planta propagada pela macropropagação. Então, embora haja maior reversão da juvenilidade em plantas micropropagadas, pesquisas internacionais relatam resultados diversos quanto à entrada em produção destas plantas, se comparadas às de origem da macropropagação, o que permite ser uma possibilidade de uso em plantios comerciais sem que haja prejuízos ao produtor.

É comum o uso de fitorreguladores na agricultura e para o processo de propagação de plantas da mesma forma. Embora dentro do processo de propagação o fitorregulador mais conhecido seja a auxina (AIB), há espaço também para citocininas e giberelinas, como auxiliares no crescimento das plantas.

Mais especificamente neste trabalho será abordado o enraizamento *ex vitro* de explantes de mirtilheiro, com o uso de cultivares e substratos diversos; o processo de aclimatização de plantas de mirtilheiro e o seu crescimento até a fase de plantio à campo; o uso da propagação via microestaquia e o uso de fitorreguladores em plantas micropropagadas e em miniestacas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – A Fruticultura Brasileira

Em função da peculiaridade do clima brasileiro, de seus solos, de sua extensão territorial, de sua vocação para o cultivo, dentre outros fatores, é possível encontrar no mercado, durante todos os dias do ano, grande diversidade de frutas, sejam elas frutas de clima temperado ou tropical.

A fruticultura é uma atividade agrícola extremamente importante para o país, pois movimentada mercados, gera renda, empregos, divisas para o país e pode ser praticada em pequenas ou grandes propriedades, praticamente em todos os estados brasileiros (ALVARENGA et al., 2004; ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2007).

A produção de frutas no Brasil tem crescido a cada ano. Em 2008 houve um incremento de 4,5% na produção de frutas frescas, enquanto as frutas processadas cresceram 11,5% em relação ao ano anterior (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas com uma área de aproximadamente 2,260 milhões de hectares e colheita de 43,112 milhões de toneladas por safra (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009), onde mais de 95% da produção é destinada para o mercado interno (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2007). Antecedem o Brasil, no ranking de maiores produtores mundiais de frutas, a China com 167 milhões de toneladas e a Índia com 57,9 milhões de toneladas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA,

2007). No caso do grupo das pequenas frutas, estima-se que a produção contribua com 110.000 toneladas (SANTOS, 2003).

Os principais cultivos frutícolas brasileiros se dão com os citros, a banana, o mamão, o abacaxi, o côco-da-baía, a uva de mesa, a manga, a maçã e o maracujá (FERNANDES, 2006). Frutas como o abacaxi, a banana, a castanha de caju, o coco-da-baía, a maçã e a uva apresentam expectativas de aumentos de produção para a safra deste ano (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

Dentre os estados maiores produtores de frutas estão São Paulo (43%), Bahia (12,5), Rio Grande do Sul (6%) e Minas Gerais (5%), no entanto, Ceará e Rio Grande do Norte têm ampliado sua escala de produção, pois apresentam como vantagem o seu posicionamento logístico, o que facilita as exportações de frutas frescas (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

No Estado do Rio Grande do Sul, as espécies frutíferas que se destacam são a uva, a laranja, a banana, o pêssego, a tangerina (bergamota), a maçã, o figo, o abacaxi, o kiwi, o caqui e as pequenas frutas, como a amora preta, a framboesa e o mirtilo, que têm crescido muito na região de Vacaria e em municípios da Serra Gaúcha (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

No mercado interno, o maior consumo de frutas está na Região Sudeste (48,03%) e, dentre os estados, São Paulo é o maior consumidor (25,53%) (FERNANDES, 2006). Da produção brasileira de frutas, 47% seguem para o mercado “in natura” enquanto que 53% são processadas - polpas, sucos, sorvetes, picolés, geléias e doces, onde o principal produto processado é o suco concentrado e congelado de laranja – sendo, deste, 29% vendidos ao mercado externo (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008).

O mercado europeu é o responsável por 76% da aquisição das frutas brasileiras, com destaque para a Holanda, centro re-exportador de frutas, principalmente para a Alemanha. Em seguida vem o Reino Unido, Estados Unidos, Espanha, Alemanha e Portugal. Países do Oriente Médio e da África vem se destacando quanto à compra de frutas brasileiras (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

Desde 1999 o Brasil é superavitário na balança comercial da fruticultura. Em 2007, o país registrou saldo positivo de US\$ 430 milhões, com aumento de 45 % sobre o ano anterior (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008), com um

faturamento em exportação de frutas de US\$ 742,2 milhões, em 2008. As principais frutas exportadas, em 2008, foram: uva, melão, manga, maçã, limão e melancia. A banana e a laranja, frutas importantes para o mercado de exportação, apresentaram queda significativa em função das inundações na região produtora de banana, no Rio Grande do Norte e devido à presença de pinta preta na laranja. Mesmo assim, a redução no total das vendas externas foi de apenas 3,34% em relação ao ano anterior. O volume caiu de 918.797 toneladas para 888.097 toneladas, ao passo que em valor até houve aumento, de 12,68%. A receita cresceu de US\$ 642,746 milhões para US\$ 724,235 milhões (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2009).

Quanto à importação de frutas, em 2007 o Brasil importou um total de 279,2 mil toneladas, despendendo um valor de US\$ 212,7 milhões. Os maiores volumes importados foram de pêra (45%) (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008). A Argentina e o Chile são os principais fornecedores de frutas para o Brasil, onde apenas no primeiro semestre de 2006, o volume total importado foi de aproximadamente 100 mil toneladas (IBRAF, 2007).

2.2 – A cultura do mirtilheiro

2.2.1 – O Fruto

O mirtilheiro é uma espécie frutífera cujos centros de origem são a Europa e América do Norte, locais onde este fruto tem grande importância econômica (WESTWOOD, 1982). O mirtilheiro pertence à família Ericaceae, subfamília Vaccinoidea, gênero *Vaccinium* (RASEIRA, 2006) e apresenta um grande número de espécies (FONSECA e OLIVEIRA, 2007). É um fruto apreciado devido ao seu sabor exótico, pelo seu valor econômico e por seus poderes medicinais, sendo conhecido como o fruto da longevidade, característica conferida devido ao alto conteúdo de antocianidinas contidas nos pigmentos hidrossolúveis de cor azul-púrpura do fruto. Estes compostos têm a capacidade de atuar nas doenças relacionadas à visão (causados pela ruptura de pequenos vasos da retina), como catarata e glaucoma, melhorando a capacidade de leitura e o foco da visão (MADAIL e SANTOS, 2004).

O mirtilo é rico em vitaminas (A, B, C e PP), possui sais minerais, magnésio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, açúcares, pectina, tanino (SERRADO et al, 2008) e compostos fenólicos (betacaroteno, ácido cítrico, málico e tartárico) com um grande potencial antioxidante, anticancerígeno (evita principalmente câncer do cólon e de mama) e antiinflamatório; é capaz de exercer efeito protetor para o cérebro (contribui para melhorar a memória), retarda o envelhecimento e doenças relacionadas, como mal de Alzheimer (SALGADO, 2003), é desinfectante (cura inflamações bucais, previne cáries), usado no tratamento de doenças do trato urinário, reduz infecções do aparelho auditivo e respiratório (SERRADO et al, 2008). Oferece enormes benefícios à pele, fortalece as paredes dos vasos capilares (usado nos casos de varizes, hemorróidas), diminui problemas circulatórios, transtornos cardíacos, feridas externas e internas, edema, artrites, artroses e complicações da diabetes (ANTUNES e MADAIL, 2007). Quando consumido os frutos secos, estes combatem a diarreia, quando frescos são laxantes (SERRADO et al, 2008).

2.2.2 – Os grupos

De acordo com Galleta e Ballington (1996), o mirtilheiro é classificado em cinco grupos: “Highbush” – arbusto alto, com alta exigência em frio; “Half high” – arbusto de médio porte; “Southern highbush” – arbusto de porte alto, originário do sul dos Estados Unidos, tem baixa exigência em frio; “Lowbush” – arbusto de pequeno porte; “Rabbiteye” – também chamado ‘olho de coelho’, espécie hexaplóide, plantas com 2 a 4 m de altura. Essa classificação segue de acordo com o genótipo, hábito de crescimento, tipo de fruto produzido e outras características. A exigência climática também é uma característica importante e que diferencia os grupos de mirtilheiro. De acordo com Pagot (2006) o grupo Highbush necessita de 650 a 850 horas de frio abaixo de 7,2°C, no entanto, cultivares pertencentes ao grupo Southern Highbush são menos exigentes em frio, sendo suficiente 200 a 600 horas. No Brasil, Herter e Wrege (2004) indicam para regiões com cerca de 300 horas de frio, cultivares do grupo Rabbiteye.

2.2.3 – As cultivares utilizadas

Existe uma diversidade muito grande de cultivares, principalmente pertencentes ao grupo Rabbiteye, primeiro grupo introduzido no Brasil. Dentre as cultivares do grupo Rabbiteye, Bluebelle produz frutos firmes, tamanho pequeno a médio (PAGOT, 2006), sabor doce a ácido (RASEIRA, 2006). Pode apresentar até 48 dias de colheita (ANTUNES et al., 2008). A cultivar Climax apresenta frutos de tamanho médio, película de coloração azul-escura e polpa com bom sabor. O peso médio do fruto é de 1,8 g (RASEIRA, 2006). Apresenta até 43 dias de colheita (ANTUNES et al., 2008). Woodard tem maturação mais tardia que Clímax. Peso de fruto entre 1,0 a 1,2 g, porém muito macios o que pode ser uma limitação para o transporte a longas distâncias (RASEIRA, 2006). Pode apresentar até 43 dias de colheita (ANTUNES et al., 2008). Dentre as cultivares do grupo Highbush, O'neal (Southern Highbush), produz fruto grande, tem boa firmeza, cicatriz e sabor. A planta é vigorosa, produtiva, semi-ereta e de crescimento semi-vertical (BROOKS e OLMO, 1997). A produção é precoce e no Chile e Argentina é possível realizar a colheita ainda no mês de outubro (PAGOT, 2006). Georgiagem (Southern Highbush) tem crescimento rápido e é muito utilizada como polinizadora de O'neal. Ambas tem exigência em frio de 400 a 600. É muito produtiva, produz frutos médios e de excelente sabor (PAGOT, 2006), são firmes e de maturação precoce. A planta é vigorosa e semi-ereta (BROOKS e OLMO, 1997).

2.2.4 – Produção

No ano de 2005, haviam 69.948 ha cultivados no mundo com o mirtilheiro tipo “Lowbush” e 46.765 ha cultivados com “Highbush”. A América do Norte, em especial os Estados Unidos, responde por 69% da área mundial plantada com “Highbush” (BRAZELTON e STRIK, 2007). No entanto, tem sido observado um aumento no cultivo do mirtilheiro tipo “Lowbush”, onde em um período de 10 anos (1993-2003) foi observado um aumento de 33% (STRIK e YARBOROUGH, 2005).

Na América do Sul, o Chile destaca-se como principal produtor de pequenas frutas, como morango, amora-preta, mirtilo e framboesa (PAGOT e HOFFMANN, 2003). Em referência ao mirtilheiro, 17% da área cultivada mundialmente encontra-se no Hemisfério Sul, especialmente no Chile, que responde por 60% da área cultivada,

e na Argentina (STRIK, 2007). O destino da produção de mirtilheiro basicamente é para o mercado de frutas frescas, sendo que a América do Sul responde por 15% das frutas frescas produzidas mundialmente (BRAZELTON e STRIK, 2007).

As perspectivas de sucesso com o cultivo do mirtilo nos países do Hemisfério Sul são bastante animadoras, especialmente devido à época de colheita coincidir com plena entressafra dos países que são os maiores produtores mundiais (SANTOS, 2004).

O mirtilo é um dos frutos que compõe os chamados pequenos frutos (frutos de tamanho pequeno), juntamente com a amora-preta, a framboesa e o morango, que detém a maior área cultivada no Brasil (3.500 ha) (ANTUNES, 2005).

O cultivo do mirtilheiro no Brasil teve início através do plantio de algumas cultivares do grupo “Rabbiteye” na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas (RS), na década de 80. Limitações quanto à necessidade de horas de frio para superar o período de dormência, a recente difusão e a baixa adaptabilidade da cultura, têm limitado as áreas de plantio, praticamente se restringindo ao Estado do Rio Grande do Sul, em municípios como Vacaria, Caxias do Sul e Pelotas, e em algumas regiões de Minas Gerais (PAGOT e HOFFMANN, 2003). Sharpe (1980) aponta *Vaccinium virgatum* como o grupo de cultivares com melhor potencial adaptativo de cultivo para as condições do Sul do Brasil devido às condições edafoclimáticas favoráveis à sua adaptação. Tais condições estão principalmente relacionadas ao frio, à temperatura, à precipitação e à radiação solar. Especificamente no Rio Grande do Sul, há uma diversidade climática considerável, com regiões apresentando maior ou menor acúmulo de frio. De acordo com o zoneamento climático estabelecido por Herter e Wrege (2004) para a cultura do mirtilheiro, na região de Pelotas o número de horas de frio acumuladas abaixo de 7,2°C é de 400 a 500.

2.2.5 – Mercado

No Brasil, estima-se a área de cultivo do mirtilheiro em cerca de 100 ha, onde, destes, 30 ha localizam-se em Vacaria, 20 ha em Caxias do Sul e 10 ha na região de Pelotas, no Rio Grande do Sul. O restante está disperso em pequenos pomares

em outros municípios do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais (PAGOT, 2006). Quanto à produção brasileira, estima-se em cerca de 60 toneladas (MADAIL e SANTOS, 2004).

A cultura do mirtilheiro apresenta alta rentabilidade, devido à baixa utilização de insumos e, até o momento, facilidade de produção limpa, resguardando o ambiente e a segurança alimentar (SANTOS e RASEIRA, 2002). Quanto aos valores praticados no mercado, o mirtilo produzido pela empresa Nice Berry é comercializado hoje em embalagens de 125 gramas por um valor em torno de R\$ 8,00 (TODA FRUTA, 2007). Na região de Vacaria e na Serra Gaúcha, pequenos produtores recebem cerca de R\$ 10,00 a R\$15,00 pelo quilo da fruta fresca, podendo chegar a R\$ 20,00/quilo, quando vendida sem intermediação (PAGOT, 2009). O suco de mirtilo é encontrado de R\$ 10,00 até 12,00 a garrafa de 500 ml, o quilograma de mirtilo congelado a R\$ 15,00 (Informações pessoais – Cláudia Roissmann – Pomar Vale do Dourado), enquanto as mudas frutíferas adquiridas em viveiros comerciais podem custar entre R\$ 6,00 e R\$ 8,00, dependendo da quantidade.

2. 3 – Propagação

A propagação de plantas é a primeira fase da produção vegetal. É um conjunto de práticas destinadas a perpetuar as espécies de forma controlada, com o objetivo de se obter maior número de plantas (HOFFMANN et al., 2005b). A escolha do método de propagação a ser utilizado depende da espécie e do objetivo a ser alcançado. Basicamente, um bom método de propagação deve ser de baixo custo, fácil execução e deve proporcionar um elevado percentual de mudas obtidas (FACHINELLO et al, 1995).

2.3.1 – Propagação através da estaquia

A propagação assexuada consiste na reprodução de indivíduos a partir de partes vegetativas das plantas (FERNANDES et al., 2004), sendo a estaquia um dos

principais métodos de propagação de espécies frutíferas (FACHINELLO, 2005). A estaquia consiste no uso de uma porção do ramo, da folha ou da raiz, cujos segmentos darão origem há uma planta nova e completa (FACHINELLO, 2005; ZUFFELLATO-RIBAS e PAES, 2007).

As estacas, de acordo com sua consistência, podem ser classificadas em herbáceas, semilenhosas e lenhosas. São consideradas estacas herbáceas aquelas com folhas e com tecidos ainda não lignificados e que apresentam alta atividade meristemática, no entanto, dada a sua consistência tenra, apresentam o inconveniente de ter baixa resistência à desidratação, com posterior deterioração em condições ambientais adversas no processo de enraizamento. Estacas lenhosas são obtidas no período de dormência da planta, apresentam maior capacidade de sobrevivência e são altamente lignificadas. As estacas semilenhosas apresentam consistência intermediária entre a estaca herbácea e a lenhosa (FACHINELLO et al., 2005a; XAVIER et al., 2009).

No processo da estaquia, a constituição genética do clone é mantida inalterada durante as sucessivas gerações (FERNANDES et al., 2004). Esta técnica apresenta como vantagem a obtenção de uma grande quantidade de mudas obtidas a partir de uma única planta, em pequeno espaço de tempo; é uma técnica de fácil execução; não apresenta problemas de incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto e apresenta melhor uniformidade de plantas, além do baixo custo para a obtenção da mesma. Porém, o uso da estaquia não é viável quando a espécie ou cultivar apresentar baixo potencial para o enraizamento e fraco desenvolvimento à campo, sendo, em muitos casos, necessário o uso de fitorreguladores, o que vem a elevar o custo final para a obtenção desta muda (FACHINELLO, 2005; ZUFFELLATO-RIBAS e PAES, 2007).

Em relação às plantas lenhosas existem características que afetam a capacidade propagativa das mesmas, como a perda da juvenilidade através da maturação de seus tecidos. Plantas adultas ou maduras são aquelas que se caracterizam pela floração e frutificação, e redução do vigor (HARTMANN et al., 1997). Plantas mais juvenis tendem a possuir maior vigor vegetativo, maior tendência ao crescimento vegetativo que plantas adultas (GREENWOOD e HUTCHISON, 1993; HARTMANN et al., 1997). Na fase juvenil a planta apresenta dominância de características morfológicas e fisiológicas juvenis como, inabilidade à

floração, presença de espinhos; folhas lisas, lobuladas; caules rasteiros, esverdeados, ramificação e enfolhamento vigorosos; fácil enraizamento; ramos com internós longos e resistência às doenças. Do ponto de vista bioquímico, destaca-se a menor concentração dos ácidos nucléicos - desoxirribonucléico (DNA) e ribonucléico (RNA) - em seus tecidos foliares (ALI e WESTWOOD, 1966; JACKSON e SWEET, 1972; ZIMMERMAN, 1972; WESTWOOD, 1978; BUBAN, 1982).

A maior juvenilidade encontra-se na região basal das plantas e segundo Hartmann et al. (1997), isso se deve ao fato de que os meristemas mais próximos da base formaram-se em épocas mais próximas à germinação, que o meristema das regiões terminais.

Em fruticultura, o estágio adulto é importante devido à capacidade de frutificação, embora esta característica adulta prejudique a capacidade de clonagem. Isto pode ser minimizado com o rejuvenescimento. O rejuvenescimento consiste em reverter plantas ou parte delas de um estado maduro para um estado juvenil (WENDLING e XAVIER, 2005).

Plantas adultas necessitam de técnicas especiais para reverter a juvenilidade para resgatar condições favoráveis ao enraizamento e ao crescimento. O rejuvenescimento para o estágio juvenil, naturalmente, ocorre durante a reprodução sexuada e na apomixia. Através da propagação vegetativa também é possível o efeito do rejuvenescimento, sendo alcançado de várias maneiras: através da poda, aplicações de citocininas ou herbicidas, propagação seriada via enxertia ou estaquia e através da micropropagação (HIGASHI et al., 2000; WENDLING e XAVIER, 2001), além de outras técnicas menos utilizadas.

2.3.2 – Micropropagação

A propagação *in vitro* de plantas compreende várias técnicas que utilizam o cultivo asséptico em laboratório, sendo a micropropagação uma delas (HARTMANN et al., 1997). A micropropagação é assim denominada em função do tamanho dos propágulos utilizados (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). De acordo com Hartmann et al. (1997) entende-se como micropropagação uma forma de

propagação clonal massal de um genótipo selecionado por técnicas de cultura *in vitro*.

O processo de micropropagação divide-se em quatro estágios principais: o estágio I que é o estabelecimento do explante no meio de cultura; o estágio II em que ocorre a multiplicação ou indução de brotos múltiplos; o estágio III com a formação de raízes e o estágio IV que é a aclimatização, com a transferência gradual das plantas para a condição *ex vitro* (HARTMANN et al., 1997).

Para a propagação vegetativa de espécies lenhosas, e nesse caso inclui-se o mirtilheiro, a técnica mais comumente utilizada é a propagação através de gemas axilares (ou segmentos nodais) (XAVIER et al., 2007), onde se realiza o isolamento e a inoculação destes segmentos contendo gemas vegetativas axilares, propiciando a multiplicação direta (ausência de calo) de brotações que podem ser separadas em microestacas para enraizamento *in vitro* ou *in vivo* (NODARI e GUERRA, 2006).

A grande aplicação prática da técnica de micropropagação encontra-se na produção comercial de plantas, o que possibilita rápida multiplicação de material e em curtos períodos de tempo e espaço (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Permite também que plantas que apresentem dificuldades de enraizamento *in vivo* possam ser multiplicadas através da micropropagação (ALFENAS et al., 2004; ASSIS e MAFIA, 2007).

O material vegetal utilizado para a propagação *in vitro* fica submetido a condições controladas de luz, fotoperíodo e temperatura, interagindo com substâncias orgânicas, como os hormônios, que desempenham importante função na regulação do crescimento (SCHUCH e ERIG, 2005). Diversas espécies floriculturais, florestais e frutíferas são propagadas através da cultura de tecidos. Dentre as espécies frutíferas os gêneros *Pyrus*, *Prunus*, *Malus* além de culturas como a da videira, bananeira, morangueiro, abacaxizeiro estão consolidados como materiais viáveis para serem micropropagados (NODARI e GUERRA, 2006). Em espécies florestais o uso da técnica da micropropagação tem se mostrado eficiente, porém, apresenta como limitantes a falta de domínio da técnica e os custos elevados (WENDLING e XAVIER, 2001). Plantas micropropagadas de *Eucalyptus* spp. apresentaram aumento no processo rizogênico, com maior produção de mudas e diminuição do tempo de permanência no viveiro, além do aumento do vigor

vegetativo se comparado às plantas obtidas por macropropagação (TITON et al., 2002).

Quanto aos custos para a implantação de uma produção comercial utilizando-se a técnica da micropropagação, de acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a energia elétrica é um dos principais componentes responsáveis por elevar o custo final de uma planta micropropagada. Plantas micropropagadas são mais caras do que aquelas obtidas por outras técnicas de propagação vegetativa. Assim, dependendo das circunstâncias, se torna mais prático e econômico o uso de outros métodos de propagação.

No Uruguai já foi obtido bons resultados através da micropropagação na cultura do mirtilheiro. Em função da crescente demanda por mudas já é possível propagar variedades de mirtilheiro em escala comercial, através de um sistema desenvolvido e patenteado pelo INIA 'Las Brujas' (CASTILLO et al., 2004).

2.3.2.1 – Enraizamento ex vitro

No enraizamento ex vitro as partes aéreas dos explantes são manipulados como microestacas e todo o processo de enraizamento se dá em substrato (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Segundo McClelland et al. (1990) no processo de enraizamento *in vitro* as raízes formadas nos explantes apresentam dificuldades de sobrevivência no estágio de aclimatização. A regeneração de raízes diretamente no substrato produz um sistema radicular mais completo, funcional e com maior número de raízes secundárias (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

O custo final de obtenção de uma nova planta pela utilização de enraizamento *in vitro* é elevado (FERRI et al., 1998), assim o uso do enraizamento *ex vitro* se apresenta como uma alternativa para redução de custos, pois de acordo com Pedrotti e Voltolini (2001) esta técnica possibilita a redução em 50% dos custos finais de produção de uma nova planta.

Oltramari et al. (2000) verificaram aumento no número de raízes e um melhor estado funcional do sistema radicular de explantes de goiabeira serrana com indução de enraizamento ex vitro com AIB (100 mM) por 60 minutos em substato composto por vermiculita + casca de arroz carbonizada (1:1/ v:v). Neste mesmo trabalho os mesmos autores avaliaram o enraizamento *in vitro* e verificaram que há

viabilidade em se substituir o enraizamento *in vitro* pelo *ex vitro* e com isso reduzir o tempo e o custo de produção das novas plantas.

Um substrato adequado que seja poroso e assim possibilite boa drenagem é de extrema importância nesse processo. Terra Roxa Estruturada + Casca de Arroz Carbonizada mostrou-se eficiente no enraizamento *ex vitro* de porta-enxerto micropropagado de macieira 'Marubakaido' (MACIEL et al., 2002). Estes autores também concordam com Oltramari et al. (2000) em que há condições de redução de tempo para obtenção de nova planta e nos custos de produção, pois não são necessários meios de cultura e instalações de laboratório para a indução ao enraizamento.

Além do substrato utilizado, as condições ambientais proporcionadas aos explantes também interferem na resposta ao número de raízes, conforme observado por Maciel et al. (2002). Estes autores verificaram que a permanência dos explantes por 20 dias na sala de aclimatização (sala de crescimento) e 10 dias na câmara de nebulização antes de serem colocadas em casa de vegetação é uma forma viável. A época do ano recomendada para a realização do enraizamento de explantes de mirtileiro, de acordo com Damiani e Schuch (2009b), é no verão, pois é quando se obtêm melhores resultados.

2.3.2.2 – Aclimatização

Após a etapa de enraizamento *ex vitro* dos explantes, estes seguem para a aclimatização. Esta etapa consiste na transferência da planta da condição *in vitro* para casa de vegetação, onde é submetida a uma fase de endurecimento (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A etapa da aclimatização das plantas é uma fase crítica e limitante no processo da micropropagação, pois a planta passa de uma condição heterotrófica (laboratório) e necessita adaptar-se a uma condição autotrófica (casa de vegetação) (ZIMMERMAN, 1988). É comum a ocorrência de alto percentual de mortalidade das plantas durante esta fase, assim, para minimizar as perdas, a adaptação das plantas ao novo ambiente deve ser gradual (SOUZA et al., 2006) de forma que as plantas não sofram estresse e conseqüentemente venham a morrer (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Um cuidado especial deve ser dado para a manutenção da umidade relativa do ar, pois as plantas em condição *in vitro* apresentam reduzido fluxo transpiratório em função da elevada umidade relativa e baixa irradiância, pois seus estômatos não são funcionais e tais plantas, ainda, não desenvolveram cera epicuticular (CAMPOSTRINI e OTONI, 1996). Assim, a disponibilização de uma condição adequada de ambiente, mantendo as plantas sombreadas, com manutenção de alta umidade relativa, substrato adequado, controle fitossanitário e nutrição adequadas são suficientes para a sobrevivência e o desenvolvimento das plantas micropropagadas (SCHUCH e ERIG, 2005).

Nesta etapa, o uso de um bom substrato também se torna necessário. Segundo Backes e Kämpf (1991) a escolha e o manejo correto do substrato irão afetar a sobrevivência, o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo de suma importância o uso de um bom substrato para a obtenção final de mudas de qualidade.

No entanto, as espécies mostram comportamento diferente quanto à capacidade de aclimatização (SCHUCH e ERIG, 2005). Hoffmann et al (2001) não verificaram diferenças entre os substratos Plantmax, vermiculita, solo + areia média, composto orgânico + areia e solo + composto orgânico + areia na sobrevivência de plantas micropropagadas de porta-enxerto de macieira 'Marubakaido' durante a aclimatização. Erig et al. (2004) obtiveram 65 % de sobrevivência de plantas de marmeleiro cultivar MC aclimatadas em substrato solo + Plantmax®. É possível obter até 92% de sobrevivência durante aclimatização de plantas de amoreira-preta micropropagadas cv. Ébano com o uso de Plantmax® (VILLA et al. 2006).

Plantas de marmeleiro cultivar MC, micropropagadas apresentaram 78% de sobrevivência nos substratos Plantmax® e Plantmax® + vermiculita aos 30 dias de aclimatização enquanto que 'Adams' apresentou 50 e 85 % de sobrevivência, respectivamente, em Plantmax® e Plantmax® + vermiculita (ERIG et al., 2004).

2.3.3 – Microestaquia

A capacidade de rejuvenescer que a micropropagação proporciona pode ser utilizada na produção de mudas de mirtilheiro como um processo inicial, utilizando-se

a partir daí a microestaquia, eliminando-se desta forma, uma de suas limitações como técnica de propagação, que segundo Schuch e Erig (2005), é o elevado custo para a obtenção da muda. Esta técnica vem sendo utilizada com sucesso na produção de mudas de plantas lenhosas florestais selecionadas, como o eucalipto, onde a dificuldade de enraizamento de certos clones através da estaquia deve-se à maturação do material vegetal (TITON, 2001).

A microestaquia é uma técnica de propagação vegetativa onde são utilizados propágulos (microestacas) rejuvenescidos em laboratório de micropropagação, para posteriormente serem enraizados, visando maximizar a obtenção de mudas (FERRARI et al, 2004).

Segundo Xavier et al., (2001) e Titon (2001) nesse processo, o laboratório de micropropagação funciona como um local de rejuvenescimento de clones selecionados, para a produção de plantas que visam à formação do jardim microclonal, localizado no viveiro florestal. O jardim microclonal, constituído por microcepas, é o fornecedor de propágulos vegetativos (microestacas) para o processo de produção de mudas.

Dentre as vantagens desta técnica em comparação com a estaquia convencional, está o aumento no índice de enraizamento; melhor qualidade do sistema radicular em termos de vigor, uniformidade, volume, aspecto e formato; redução no tempo de permanência das mudas no viveiro; maior taxa de crescimento e sobrevivência das mudas no campo; obtenção de mudas de qualidade; redução na operacionalização (redução na mão-de-obra); eliminação do uso de fitorreguladores para promover o enraizamento (XAVIER e COMÉRIO, 1996; ASSIS, 1996; XAVIER et al., 1997; DUTRA et al., 2009).

No entanto, como limitações impostas pela técnica da microestaquia, devido ao material ser mais tenro e mais suscetível às oscilações de umidade relativa e temperatura, as microestacas apresentam maior sensibilidade às condições ambientais durante o enraizamento; há a necessidade de instalações adequadas (laboratório) para rejuvenescimento de material; algumas espécies/clones apresentam dificuldades de rejuvenescer, além de custos significativos para obtenção de uma muda (ASSIS, 1997).

Especificamente na cultura do mirtilheiro, Schuch et al. (2007), observaram melhores percentuais de enraizamento em microestacas da porção mediana do

ramo (entre 52 e 67%), independentemente da concentração de AIB utilizada, quando se comparou com microestacas apicais. No entanto, microestacas apicais respondem melhor ao enraizamento (64%) com a aplicação de AIB na proporção de 2000 mg.L⁻¹. Titon (2001), quando avaliou diferentes clones de *Eucalyptus grandis*, oriundos de propágulos vegetativos herbáceos e apicais observou melhor enraizamento das microestacas em relação às miniestacas.

2.3.4 – Miniestaquia

A técnica da miniestaquia segue os mesmos preceitos da microestaquia, no entanto, é eliminada a fase de laboratório (TITON, 2001). Na miniestaquia as cepas iniciais são formadas de mudas propagadas pela estaquia convencional, enquanto que na técnica da microestaquia o jardim clonal é formado por cepas que se originam de mudas micropropagadas (OLIVEIRA et al., 2006).

A miniestaquia se apresenta como técnica promissora na produção de mudas clonais (SANTOS et al., 2000) e tem sido utilizada com êxito no Brasil, com o objetivo de avaliar inicialmente o potencial de enraizamento de espécies florestais (XAVIER e COMÉRIO, 1996; WENDLING et al., 2000; XAVIER et al., 2003a; ALCÂNTARA et al., 2007; WENDLING et al., 2007), porém, esta técnica expandiu-se para as espécies frutíferas onde destacam-se trabalhos com a cultura da ameixeira (*Prunus salicina*) (TONIETTO, et al., 2001), figueira (*Ficus carica*) (PIO et al., 2002a; PIO et al., 2002b), aceroleira (*Malpighia glabra*) (RITZINGER e GRAZZIOTTI, 2005), goiabeira (*Psidium guajava*) (MARINHO et al., 2009), araçazeiro (*Psidium cattleianum*) (AZEVEDO et al., 2008) e mirtilheiro (*Vaccinium spp.*) (FISCHER, 2006).

Titon (2001), quando utilizou a técnica de miniestaquia na propagação de *Eucalyptus grandis*, obteve percentuais de enraizamento, aos 28 dias, entre 68,8 e 100%, de acordo com o tipo de clone avaliado. Xavier et al. (2003a), quando avaliaram o enraizamento de diferentes tipos de miniestacas de cedro-rosa, observaram maior sobrevivência na saída da casa de vegetação (100%) e na saída da casa de sombra (aproximadamente 92%), maior sobrevivência aos 60 (aproximadamente 87%) e 90 (aproximadamente 77%) dias de idade com o uso de miniestacas caulinares com folhas.

Aliado ao uso da técnica de miniestaquia é possível utilizar reguladores de crescimento como o AIB, por exemplo, cuja, uma das finalidades é a de proporcionar melhor enraizamento de estacas. Fischer et al.(2006), observaram em miniestacas semi-lenhosas de mirtilheiro, com uma folha inteira, cultivar 'Powderblue', aos 90 dias de idade, com o uso de 2000 mg.L⁻¹ de AIB, 96 % de enraizamento. Trevisan et al. (2008b) não verificaram diferenças na porcentagem de enraizamento, comprimento de raiz, porcentagem de estacas vivas, brotadas e mortas, em miniestacas de mirtilheiro do grupo Highbush (Georgiagem e O'neal) com o uso de 0 e 1000 mg.L⁻¹ de AIB. No entanto, Alcântara et al. (2008) verificaram que a utilização de AIB para o enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* causou redução na porcentagem de enraizamento e na sobrevivência das miniestacas em todas as épocas de realização de coleta das brotações (primavera, verão, outono e inverno).

Entretanto, necessita-se de pesquisas mais aprofundadas quanto ao uso da miniestaquia na fruticultura, em especial para espécies destinadas à produção comercial de mudas. Os resultados obtidos são muito variáveis em função das espécies, das cultivares (WENDLING e XAVIER, 2005), da época de realização (ALCÂNTARA, 2007, TORRES, 2003), do tipo de estaca utilizada (ALCÂNTARA, 2007, XAVIER et al., 2003a), dos tipos de substratos (ZANI FILHO e BALLONI, 1988), reguladores de crescimento (XAVIER e COMÉRIO, 1996; XAVIER et al., 2003b; SOUZA JÚNIOR e WENDLING, 2003), entre outros.

A miniestaquia é uma opção de uso para a propagação de clones que apresentam dificuldades no cultivo '*in vitro*' (XAVIER e WENDLING, 1998), além de ser possível maximizar a qualidade e a uniformidade das mudas produzidas, quando comparado com mudas obtidas através da estaquia convencional (SANTOS et al., 2000).

Para Assis (1997), a miniestaquia apresenta uma série de vantagens em relação ao enraizamento tradicional de estacas, como os benefícios operacionais, envolvimento de mão-de-obra na preparação de estacas e aplicação de hormônios de enraizamento (as operações de manejo do minijardim clonal, coleta e confecção de miniestacas são mais fáceis e rápidas de serem executadas; maior facilidade no controle de patógenos, bem como, das condições nutricionais e hídricas no minijardim clonal); maior grau de juvenilidade das miniestacas, aumentando o grau de iniciação e crescimento radicular, dando origem a mudas de melhor qualidade em

termos de vigor, uniformidade e volume, o que reflete positivamente na sobrevivência e no desempenho da planta no campo (WENDLING e SOUZA JÚNIOR, 2003; WENDLING e XAVIER, 2005), além da diminuição de gastos realizados durante a implantação, tratos culturais, irrigação, manejo e fertilização. Em relação às desvantagens da técnica estão a maior sensibilidade das miniestacas às condições ambientais e a necessidade de maior rapidez entre a coleta dos propágulos no minijardim clonal e a sua estaquia em casa de vegetação (XAVIER e WENDLING, 1998; WENDLING e SOUZA JUNIOR, 2003).

De modo geral, as estacas podem ser coletadas em qualquer época do ano, sendo o enraizamento, porém, determinado pelas condições ambientais durante a retirada do material a ser utilizado (KOMISSAROV, 1969). Sob o ponto de vista fisiológico, as estacas devem ser coletas no período de repouso vegetativo, devido ao equilíbrio carboidratos/nitrogênio estabelecido nessa ocasião, pelo efeito que exerce na iniciação e no desenvolvimento de raízes (SILVA, 1998). As variações sazonais modificam a atividade cambial e o estado fisio/morfológico da planta-mãe, alterando os níveis hormonais endógenos e nutricionais, o que favorece o enraizamento (TORRES, 2003). No entanto, cada espécie vegetal apresenta uma época mais adequada para a coleta das estacas, sendo esta época mais relacionada com as condições fisiológicas da planta do que com o período fixo do ano (FACHINELLO et al., 2005a). Kramer e Kozlowski (1972) citam que o enraizamento pode sofrer interferência de vários fatores, entre eles destacam-se: estado nutricional das plantas, época do ano, taxa de respiração e fotossíntese, bem como a relação carbono/nitrogênio. Segundo Alcântara et al., (2007), quando avaliou o efeito da sazonalidade sobre o enraizamento de estacas de *Pinus taeda* verificou que a época mais favorável para a coleta das miniestacas, quando a finalidade for promover o enraizamento, é no período do inverno.

Em termos gerais, as técnicas de propagação vegetativa através da microestaquia e da miniestaquia, onde são utilizados materiais rejuvenescidos, possibilitam a obtenção de mudas de melhor qualidade, com maior percentual, maior velocidade e qualidade de enraizamento, aliado à redução no tempo de formação da muda (WENDLING e XAVIER, 2001; TITON, et al., 2002). Em se tratando de ambas as técnicas, Oliveira et al. (2006), constataram que a microestaquia apresenta

melhor desempenho na propagação clonal em relação à miniestaquia, visto o rejuvenescimento promovido previamente por meio da micropropagação.

2.3.5 – Substrato

Embora seja o solo o material de uso mais comum para o cultivo de plantas, outros materiais, os substratos, tem a possibilidade de serem utilizados com a mesma finalidade. Assim sendo, entende-se como substrato todo o material sólido, natural, sintético ou residual, mineral ou orgânico, puro ou em mistura, utilizado como suporte físico para o desenvolvimento do sistema radicular e conseqüentemente para o crescimento de plantas cultivadas em recipientes (ABAD e NOGUERA, 1998; FERMINO, 2002).

Diferentes matérias-primas podem constituir os substratos, sejam elas de origem mineral, orgânica ou sintética. É possível ser utilizado substratos constituídos por apenas um material ou pode-se utilizar misturas destes materiais. Os materiais orgânicos mais utilizados a fim de constituírem um substrato são a turfa, esterco de animais, vermicomposto, casca de árvores picadas e compostadas, fibras de côco, xaxim, serragem, tortas, bagaços, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão, terriço, etc. Dentre os materiais de origem mineral é possível utilizar a vermiculita, a perlita, a areia, a lã de rocha. Dentre os materiais de origem artificial encontram-se a espuma fenólica e o isopor (GONÇALVES, 1995; PAIVA et al., 1996; ABREU et al., 2002).

O solo, o recurso natural mais facilmente disponível para uso, é substrato adequado para estacas lenhosas. Apresenta pouca drenagem quando utilizado sob nebulização e exige desinfestação, pois pode ser fonte de disseminação de doenças (HOFFMANN et al, 2005a).

A areia é um substrato de baixo custo, de fácil disponibilidade, com boa drenagem sob nebulização. Recomendada para uso com estacas herbáceas e semilenhosas. No entanto, pode proporcionar menor ramificação de raízes, devido à compactação em ambiente sob nebulização. Por apresentar peso elevado pode danificar as raízes no momento da repicagem (HOFFMANN et al, 2005a). Segundo Gonçalves (1981), substrato muito arenoso desenvolve um sistema radicular ralo,

sem ramificações e friável, enquanto que substratos mais estruturados promovem um sistema radicular fibroso, ramificado e mais flexível.

A turfa se apresenta como adequada para algumas espécies e tem reação ácida. No entanto, dependendo do local pode ser de difícil obtenção (HOFFMANN et al, 2005a). SCHMITZ et. al. (2002), quando avaliou as características químicas e físicas de diferentes substratos verificou que a turfa é um material com propriedades adequadas, o que possibilita seu uso na formulação de substratos. Dentre os materiais que foram avaliados, a formulação de turfa vermelha + resíduo decomposto de casca de acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) foi o que apresentou características mais favoráveis para uso na produção de mudas frutíferas e ornamentais.

A perlita apresenta boas propriedades de drenagem, porém tem custo elevado. A vermiculita é adequada para estacas herbáceas e semilenhosas; tem baixo peso, tem boas características fitossanitárias (não dissemina doenças) e físicas (confere boa porosidade e retenção de umidade) (HOFFMANN et al., 2005a; ZIETEMANN e ROBERTO, 2007), e por ser um substrato comercial, é de fácil obtenção (ZIETEMANN e ROBERTO, 2007). No entanto, também é um material que apresenta altos custos (HOFFMANN et al, 2005a) e apresenta baixa agregação com as raízes (HOFFMANN et al, 2001).

Dentre os diversos substratos comerciais encontrados no mercado, o Plantmax® tem como vantagem a uniformidade da composição química e física. Tal característica se apresenta como fundamental para a produção comercial de mudas e, de forma especial, para a pesquisa, haja vista a segurança na repetibilidade dos resultados. Por suas características, é o substrato recomendado para a fase de aclimatização de plantas micropropagadas (HOFFMANN et al, 2001).

Hartmann et al. (1997) mencionam que os principais efeitos dos substratos manifestam-se sobre as raízes, podendo acarretar algumas influências sobre o crescimento da parte aérea.

Compostos orgânicos têm sido muito utilizados, principalmente na horticultura. São fontes de nutriente, apresentam boa retenção de umidade e baixo custo. Entretanto, exigem desinfestação, pois podem ser fonte de inóculo (HOFFMANN et al, 2005a).

O substrato é um fator importante no enraizamento de estacas, principalmente em materiais de difícil enraizamento (HOFFMANN et al, 2005a). O substrato mais indicado para o enraizamento de estacas depende da espécie vegetal, do tipo da estaca, da estação do ano e da técnica de propagação. A função principal do substrato é sustentar as estacas durante o período de enraizamento. É importante que o substrato proporcione umidade adequada a fim de evitar a dessecação da base da estaca, espaço poroso para facilitar o enraizamento permitindo a aeração e evitando o desenvolvimento de doenças, bem como um ambiente escuro; boa agregação das raízes; capacidade de re-hidratação após secagem; boa capacidade de tamponamento contra alterações de pH; ausência de substâncias inibidoras do crescimento ou prejudiciais às plantas; apresentar sempre o mesmo comportamento a um dado manejo (GONÇALVES, 1981; GONÇALVES, 1995; HARTMANN et al., 1997; COUVILLON, 1998; RÖBER, 2000; FACHINELLO, 2005a).

Atributos físicos do substrato como densidade, tamanho de partícula, espaços com ar e água, condutividade hidráulica saturada podem ser melhorados através da combinação de substratos a fim de favorecerem o desenvolvimento das raízes (HOFFMANN et al, 2005a). No entanto, segundo Pokorny e Austin (1982), para algumas espécies vegetais, e mesmo cultivares, não há efeito de substrato.

De acordo com Kämpf (2005) a densidade, a porosidade e a disponibilidade de ar e água são as características físicas mais importantes em um substrato. Dentre as características químicas, incluem-se o pH, a capacidade de troca de cátions e a salinidade.

A eficiência do substrato também é dependente do tipo de recipiente utilizado. Recipientes com pouca altura, como no caso, por exemplo, da produção de mudas em plugs, tem a drenagem reduzida e elevada a retenção de água no recipiente, o que por sua vez tende ao encharcamento do substrato (MILKS et al., 1989). Diante de tal situação recomenda-se o uso de casca de arroz carbonizada, substrato que apresenta elevado espaço de aeração (PUCHALSKI e KÄMPF, 2000). As principais vantagens da casca de arroz carbonizada são o baixo custo e as qualidades físicas que confere, como umidade, porosidade e drenagem adequadas. Devido à fácil drenagem da água, quando utilizado sob nebulização intermitente, resulta em menor peso das bandejas, o que facilita o manuseio no viveiro

(ZIETEMANN e ROBERTO, 2007). No entanto, a presença de sais na casa de arroz pode ser prejudicial em estacas herbáceas (HOFFMANN et al, 2005a) e, para a produção de mudas em larga escala, pode haver dificuldade em se obter a palha de arroz em grandes quantidades e ainda há a necessidade de carbonizá-la antes de ser utilizada (ZIETEMANN e ROBERTO, 2007).

Dutra e Kersten (1996) trabalhando com estacas de ameixeira coletadas nos meses de janeiro e março em diferentes substratos, obtiveram bons percentuais de enraizamento com materiais como areia, vermiculita, serragem, areia+vermiculita, areia+serragem, vermiculita+serragem e cinza+serragem.

Especificamente na propagação vegetativa por estacas, na cultura do mirtilheiro, Hoffmann et al., (1995), quando avaliou três diferentes tipos de substratos: areia, areia+composto, cinza+vermiculita, verificou que o substrato afeta o enraizamento de estacas de mirtilo. Areia + composto e areia isoladamente promoveram maior enraizamento de estacas, e a areia isoladamente apresentou maior crescimento das raízes adventícias. No entanto, cinza+vermiculita proporcionou maior percentual de estacas sobreviventes (20,96 %) em relação aos outros substratos. Melhores resultados no enraizamento foram obtidos com a cultivar 'Powderblue' (54%), quando comparado com a cultivar 'Climax' (1,3%).

A viabilidade de utilização de um substrato é função do seu efeito no enraizamento de cada espécie vegetal, da facilidade de obtenção desse material bem como do baixo custo do mesmo (COUVILLON, 1998). Não há consenso quanto ao melhor substrato, no entanto acredita-se que tal fato deve-se à espécie e as condições em que se trabalha (PAIVA et al., 1996). No entanto, a escolha e o manejo correto do substrato são de suma importância para a obtenção de mudas de qualidade (BACKES e KÄMPF, 1991).

2.3.6 – Fitorreguladores

A adição de fitorreguladores, em culturas *in vitro*, tem como objetivo principal suprir possíveis deficiências de teores endógenos de hormônios nos explantes isolados da planta matriz, estimulando respostas como crescimento e alongamento ou multiplicação da parte aérea e radicular. No entanto, a resposta ao uso de

fitorreguladores é dependente da espécie utilizada e do estado fisiológico do explante (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990).

Dentre os fitorreguladores, as auxinas estão envolvidas na regulação de vários processos fisiológicos tais como a dominância apical, a formação de raízes laterais e adventícias, a abscisão foliar, o desenvolvimento de gemas florais e do fruto e na indução de diferenciação vascular (TAIZ e ZEIGER, 2004). Sua ação sobre o sistema radicular se dá em função de que estas estimulam a síntese de etileno o que por sua vez favorece a emissão de raízes (NORBERTO et al., 2001).

As citocininas fazem parte do grupo de fitorreguladores responsáveis por induzir a divisão e o alongamento celular, promover a diferenciação dos tecidos, retardamento da senescência, germinação (METIVIER, 1979a; DAVIES, 1990; SMITH, 1992), sendo indispensáveis para promover a quebra de dominância apical e a indução da proliferação de gemas axilares (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Acredita-se que a mobilidade das citocininas seja extremamente baixa, visto que aplicações exógenas de citocininas em folhas produzem efeitos muito locais. Sobre as raízes, apresentam efeito inibidor de iniciação e alongamento do eixo principal (METIVIER, 1979a).

As giberelinas atuam na indução da floração, sobre a expressão sexual, na partenocarpia, senescência e abscisão, germinação e quebra de dormência e no crescimento (em especial no alongamento do caule) (METIVIER, 1979b). Segundo Taiz e Zeiger (2004), um dos efeitos das giberelinas é estimular o alongamento e a divisão celular, promovendo o crescimento tanto pelo aumento do tamanho das células como pelo número de células.

Takahashi et al. (1991), consideram de importância fundamental o uso de giberelinas no crescimento de brotações, destacando a combinação de GA₄₊₇ como mais eficientes no aumento do comprimento de entrenós de estacas. Para Norton e Norton (1986), o tratamento de plantas de mamoeiro com citocinina associada com uma giberelina tem sido eficiente para induzir a formação de ramos laterais a partir de gemas axilares dormentes de plantas adultas, promovendo também seu alongamento e desenvolvimento. Segundo Ono et al. (2004), na avaliação dos fitorreguladores: citocininas e giberelinas, com e sem a remoção de gemas apicais sobre o desenvolvimento de gemas laterais de plantas de mamão *papaya*, os

resultados indicaram a influência do GA₃ e da citocinina sintética (Benziladenina) no processo de desenvolvimento celular. O tratamento das plantas com GA₃ 125 mg L⁻¹ + BA 125 mg L⁻¹ e GA₃ 250 mg L⁻¹ + BA 250 mg L⁻¹ observa-se melhores resultados quanto ao desenvolvimento das brotações laterais e o posterior crescimento destas. A giberelina parece ser indispensável para promover o crescimento em comprimento das brotações, através da sua atividade sobre o alongamento celular, enquanto que a citocinina tem importância sobre o crescimento em diâmetro, pela sua atividade na promoção da divisão celular.

2.3.7 Tempo de avaliação

É importante no processo de produção de mudas a redução no tempo para a sua formação. Assim, acelerando-se o processo de produção de mudas em viveiro, reduz-se o tempo de enraizamento em casa de vegetação e disponibilizam-se as estruturas de enraizamento mais rapidamente.

Segundo Ferreira et. al., 2004, em trabalho conduzido com miniestacas de *Eucalyptus* spp., verificaram que o processo rizogênico atinge o ótimo de enraizamento (80%) aproximadamente aos 20 dias quando utilizado o Clone 1 e, quando utilizado o Clone 2, o ótimo de enraizamento é atingido aos 30 dias, com percentual de enraizamento em torno de 60%.

Titon (2001), quando utilizou a técnica da miniestaquia na propagação de *Eucalyptus grandis*, obteve percentuais de enraizamento, aos 28 dias, entre 68,8 e 100%, de acordo com o tipo de clone avaliado. Porém, segundo Titon et al. (2002), a técnica da microestaquia possibilita atingir aos 28 dias, maior número, comprimento e massa seca de raízes, comparativamente à técnica da miniestaquia.

Em relação à sobrevivência de materiais utilizados na propagação, em alguns casos, há uma redução com o avanço no tempo de avaliação. Xavier et al., (2003) observaram em miniestacas de cedro-rosa um bom percentual de sobrevivência, aos 30 dias, na saída da casa de vegetação. Porém, aos 90 dias, miniestacas caulinares apicais desfolhadas e miniestacas foliares apresentaram 20% e 0% de sobrevivência, respectivamente, enquanto que miniestacas caulinares, caulinares apicais e intermediárias apresentaram entre 60 e 80% de sobrevivência.

3. METODOLOGIA GERAL

Os trabalhos aqui relatados foram desenvolvidos no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, na casa de vegetação e no telado pertencente ao Departamento de Fitotecnia, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, na Universidade Federal de Pelotas, no município de Capão do Leão (RS). Foram realizados cinco estudos, onde no primeiro deles foram utilizados explantes de mirtilheiro (*Vaccinium spp*) das cultivares Bluebelle, Woodard e Georgiagem e os substratos Plantmax[®], Plantmax[®] + serragem curtida, serragem curtida, Plantmax[®] + vermiculita e vermiculita para avaliar o enraizamento *ex vitro* das mesmas em casa de vegetação. Este trabalho foi avaliado aos 75 dias após a instalação.

No segundo estudo foram utilizados explantes de mirtilheiro da cultivar 'Climax' onde foi avaliado a aclimatização e o crescimento das mesmas, em casa de vegetação e telado, utilizando-se como substratos casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil[®], Plantmax[®] + vermiculita e solo + serragem jovem de pinus com o uso de dois sistemas de cobertura (com e sem cobertura plástica sobre as plantas). Este trabalho foi avaliado ao longo de 210 dias.

No terceiro estudo foi realizado o enraizamento de microestacas medianas e apicais de mirtilheiro 'Climax', em telado, em substrato composto por Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada, Húmus Fértil[®] e Vermicomposto Bovino. Este trabalho foi avaliado aos 110 dias.

No quarto estudo foi avaliado o uso de fitorreguladores – benzilaminopurina (BAP) e giberelina (GA₃) – em diferentes concentrações (testemunha – sem reguladores, 250 mg L⁻¹ de BAP, 250 mg L⁻¹ de BAP + 250 mg L⁻¹ de GA₃), no crescimento de miniestacas de 'O'Neal' em cinco tempos de avaliação (0, 30, 60, 90 e 120 dias). O local de condução deste foi em uma miniestufa e posteriormente em telado.

No quinto e último estudo foi abordado o crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro 'Georgiagem' com o uso de diferentes concentrações de GA₃ (0, 50, 100 e 150 mg L⁻¹) em função do tempo (0, 30 e 60 dias). Este estudo foi conduzido em casa de vegetação sem controle de temperatura do ar.

Assim sendo, como foi possível verificar, os estudos foram conduzidos em experimentos, sendo estes divididos em capítulos, os quais são apresentados a seguir.

CAPITULO I

ENRAIZAMENTO DE EXPLANTES DE MIRTILEIRO EM CONDIÇÃO *EX VITRO* EM DIFERENTES SUBSTRATOS

4.1 INTRODUÇÃO

O mirtilo é um dos frutos que compõe os chamados pequenos frutos, juntamente com a amora-preta, a framboesa e o morango, que detém a maior área cultivada no Brasil (ANTUNES, 2005). Estima-se em cerca de 100 ha a área de cultivo do mirtilo no Brasil, onde, destes, 30 ha localizam-se em Vacaria, 20 ha em Caxias do Sul e 10 ha na região de Pelotas, no Rio Grande do Sul. O restante está disperso em pequenos pomares em outros municípios do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais (PAGOT, 2006).

A micropropagação de plantas é uma técnica que possibilita a obtenção de novas plantas em um curto período de tempo e em pequeno espaço. O uso da micropropagação na cultura do mirtilo vem sendo conduzida com sucesso, principalmente no Uruguai, que conta com uma produção significativa desta espécie. Uma das etapas realizadas na micropropagação é o enraizamento dos explantes que classicamente tem sido realizada *in vitro*. Porém, como no enraizamento *in vitro* as raízes formadas apresentam dificuldades de sobrevivência no estágio de aclimatização (McCLELLAND et al., 1990), além de o custo de produção ser maior (FERRI et al., 1998), o uso do enraizamento *ex vitro* se apresenta como uma alternativa, possibilitando uma redução nos custos, pois de acordo com Pedrotti e

Voltolini (2001) esta técnica possibilita a redução em 50% dos custos finais de produção de uma nova planta.

Aliada à técnica do enraizamento *ex vitro*, um substrato com boas características também é importante para proporcionar melhor enraizamento dos explantes, já que este material suporte possibilita melhores condições físicas, químicas e biológicas para o desenvolvimento das plantas (KÄMPF, 2001; BATAGLIA e ABREU, 2001). Segundo Ferraz et al. (2005), a turfa, de origem vegetal, e a vermiculita, de origem mineral, são os substratos mais utilizados mundialmente.

Assim sendo, conduziu-se este experimento com o objetivo de avaliar a resposta ao enraizamento *ex vitro* de três cultivares de mirtilheiro (Georgiagem – Grupo Highbush e Bluebelle e Woodard – Grupo Rabbiteye) com o uso de diferentes substratos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas-RS, durante os meses de fevereiro a abril de 2009.

Foram utilizados como explantes segmentos caulinares de mirtilheiro 'Georgiagem' (*Vaccinium corymbosum*) pertencente ao grupo Highbush e 'Bluebelle' e 'Woodard' (*Vaccinium virgatum*) pertencentes ao grupo Rabbiteye, com sete gemas e folhas + ápice caulinar, com aproximadamente 10 subcultivos. A escolha destas cultivares foi em função da disponibilidade de material no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, por serem materiais pertencentes a dois grupos diferentes de mirtilheiro e que apresentam potencial para desenvolvimento à campo. Os explantes foram imersos por 10 minutos em solução de AIB (ácido indolbutírico) na concentração de 250 mg L⁻¹ e em seguida fez-se o estaqueamento em bandejas plásticas transparentes fechadas contendo cinco diferentes substratos: Plantmax[®]; Plantmax[®] + serragem curtida; serragem curtida; Plantmax[®] + vermiculita e vermiculita (Figura 1). O AIB foi diluído em base NaOH 1N e em álcool etílico. Todos os substratos foram autoclavados por uma vez, por 30 minutos, em

temperatura de 120°C. A vermiculita utilizada neste experimento apresentava granulometria média e a serragem curtida adquirida junto a madeireira da região era composta a base de pinus, apresentava coloração marron e estava completamente decomposta. Quando associados dois substratos, a proporção utilizada foi de 1:1 (v/v). Após o estaqueamento, as bandejas foram acondicionadas em casa de vegetação com temperatura controlada (± 25 °C). Efetuou-se a leitura do pH dos substratos onde foi utilizada a média de cinco repetições (Tabela 1). A média no número de horas de insolação e a radiação solar média, máxima e mínima observada no Campus Capão do Leão, na Universidade Federal de Pelotas encontram-se na Tabela 2.

Aos 75 dias foram avaliados: percentagem de enraizamento, formação de calo, explantes sobreviventes, comprimento das raízes, comprimento da maior raiz, número de raízes, altura do explante, massa fresca total e número de brotações.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com fatorial 3 x 5, com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída de 8 explantes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), através do programa estatístico Winstat 2.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003) onde os dados expressos em percentagem foram transformados em arco seno da raiz quadrada de $x/100$ e os dados numéricos foram transformados em raiz quadrada de $x+0,5$.

Tabela 1. Leituras de pH dos substratos Plantmax[®], Plantmax[®] + serragem curtida, serragem curtida, Plantmax[®] + vermiculita e vermiculita. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Substrato	pH
Plantmax [®]	5,2
Plantmax [®] + serragem curtida	4,3
Serragem curtida	4,3
Plantmax [®] + vermiculita	6,0
Vermiculita	6,7

Tabela 2. Média do número de horas de insolação (h) e radiação solar ($\text{cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$) média, máxima e mínima observada no Campus Capão do Leão durante os meses de fevereiro, março e abril de 2009. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Mês	Insolação (h)		Radiação solar ($\text{cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$)	
	Média	Média	Máxima	Mínima
Fevereiro	252,0	421,9	561,0	85,0
Março	203,7	264,5	476,0	9,0
Abril	250,3	349,1	431,0	174,0

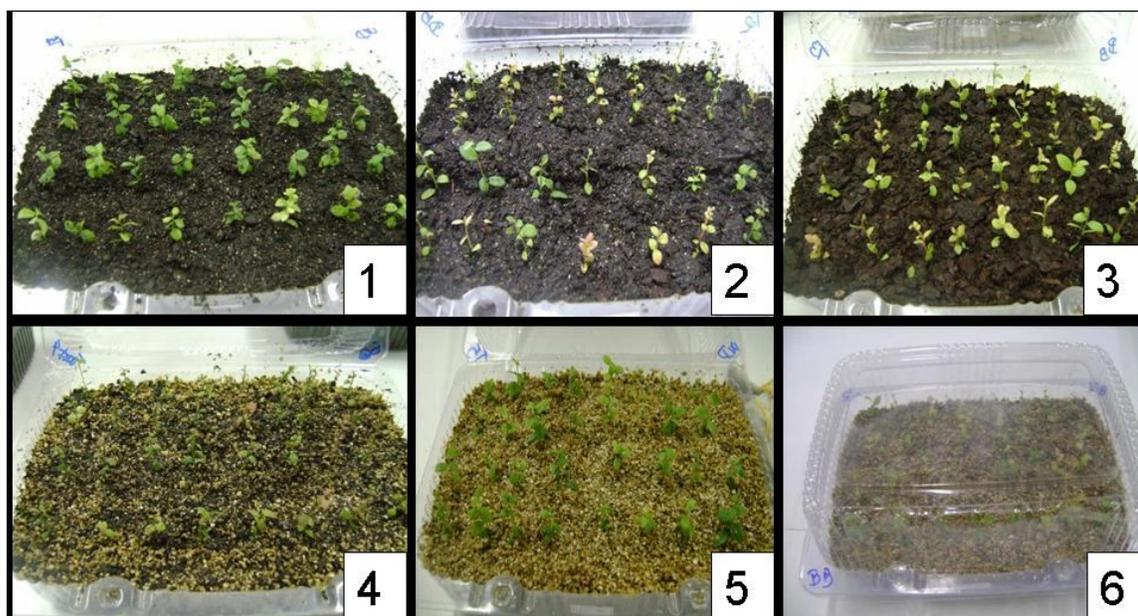


Figura 1. Ilustração dos explantes de 'Woodard' em substrato Plantmax[®] (1); explantes de 'Bluebelle' em substrato Plantmax[®] + serragem curtida (2), serragem curtida (3) e vermiculita (5); 'Georgiagem' em Plantmax[®] + vermiculita (4); parcela experimental - cubuca plástica fechada (6) quando da instalação do experimento. UFPEL/FAEM – Pelotas, 2009. Foto: Tânia Regina Pelizza.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância evidenciou-se interação entre os fatores cultivares x substrato para as variáveis comprimento e número de raízes, tamanho da maior raiz, altura do explante, massa fresca total e número de

brotações. Para as variáveis percentagem de enraizamento e percentagem de sobrevivência dos explantes houve efeito da cultivar; para percentagem de formação de calo houve efeito do substrato e da cultivar (Tabela 3).

Quanto à percentagem de enraizamento dos explantes verificou-se que as cultivares Bluebelle e Woodard, ambas pertencentes ao grupo Rabbiteye, apresentaram melhores resultados (98,7 e 97,5% de enraizamento, respectivamente), enquanto que a cultivar Georgiagem (Grupo Highbush) apresentou 77,5% de enraizamento (Figura 2A). Para a variável percentagem de sobrevivência dos explantes observou-se comportamento semelhante, pois 'Bluebelle' e 'Woodard' apresentaram 99,4 e 100% de sobrevivência, respectivamente, enquanto que 'Georgiagem' (91,9%) apresentou diferença estatística das demais (Figura 2B). Trevisan et al. (2008) verificaram em estacas herbáceas de mirtilheiro que as cultivares Bluebelle e Briteblue apresentaram 50% de enraizamento enquanto que 'Climax' apresentou 19,8%, o que caracteriza a diferença do potencial genético de cada cultivar em emitir raízes. Damiani e Schuch (2009a) observaram que a porcentagem de enraizamento *in vitro* de mirtilheiro é dependente do substrato, da cultivar e do local de enraizamento. Dentre as cultivares avaliadas Georgiagem se mostrou superior à Delite em condições de enraizamento em casa de vegetação.

Tabela 3 - Análise de variância das variáveis: percentagem de enraizamento (Enr), percentagem de formação de calo (Calo), percentagem de explantes sobreviventes (Sobr), comprimento das raízes (Cr), comprimento da maior raiz (Mr), número de raízes (Nr), altura do explante (He), massa fresca total (Mft) e número de brotações (Nb). UFPEL/FAEM, Pelotasm(2009).

Fonte de Variação	Quadrado Médio									
	GL	Enr %	Calo %	Sobr %	Cr (cm)	Mr (cm)	Nr -	He (cm)	Mft (mg)	Nb -
Cultivar	2	2843,75**	527,91*	408,85**	0,44*	0,45 ^{ns}	3,30**	1,21**	1743,39**	0,82**
Substrato	4	192,71 ^{ns}	1323,59**	41,67 ^{ns}	4,76**	9,71**	2,14**	2,45**	204,31**	0,61**
Cultivar*Substrato	8	112,63 ^{ns}	220,23 ^{ns}	47,53 ^{ns}	0,64**	0,67**	0,78**	1,94**	510,02**	0,25**
Resíduo	45	123,27	207,81	41,67	0,11	0,14	0,09	0,16	28,73	0,04
Média Geral		91,25	12,21	97,08	2,02	2,43	2,25	4,54	27,58	1,37
CV %		12	80	6	16	15	6	9	19	5

*, **, Valor de F significativo a 5 e a 1% de probabilidade de erro, respectivamente.

ns = não significativo

A porcentagem de formação de calo nos explantes de mirtilheiro pode ser considerada baixa em todas as cultivares. 'Woodard' foi a que apresentou maior valor (17,1%). 'Bluebelle' apresentou 12,6% de explantes com calo e 'Georgiagem' 6,9%, não diferindo estatisticamente entre si (Figura 2D). Como a porcentagem de enraizamento e de explantes sobreviventes foi menor para a cultivar Georgiagem justifica-se a pequena formação de calo nesta cultivar. Também foi possível observar que, quando utilizado o substrato à base de serragem curtida, não se observa formação de calo nos explantes de mirtilheiro nas três cultivares avaliadas (Figura 2C), ou seja, este substrato possibilita a formação direta das raízes. É possível que o baixo valor de pH observado neste substrato (4,3) possa ter contribuído para tal resultado (Tabela 1). Miranda e Miranda (2000) em trabalho realizado com propagação de estacas semilenhosas de mogno em câmara úmida observaram menor formação de calos com o uso de serragem (18%) e de areia fina (28%). Denomina-se calo a formação de uma massa de células desorganizadas (XAVIER et al., 2009) que surge devido à uma lesão nos tecidos do xilema e do floema (FACHINELLO et al., 1995) e dele poderá ou não ser emitidas raízes (XAVIER et al., 2009). Com frequência, surgem raízes após a formação dos calos (HARTMANN et al., 1997), no entanto, estas parecem não serem completamente viáveis.

De modo geral, o comprimento médio das raízes, nas três cultivares utilizadas, foi maior quando utilizado vermiculita (Tabela 4). A cultivar Bluebelle também apresentou o mesmo resultado quando utilizado Plantmax[®] + vermiculita. Maciel et al. (2002) obtiveram resultados distintos quando utilizado diferentes substratos no enraizamento de porta-enxerto *Marubakaido*, aos 90 dias de enraizamento. Segundo Damiani e Schuch (2009b) a vermiculita apresenta comportamento similar à perlita e ao ágar+carvão ativado quando explantes de mirtilheiro são colocados para enraizar em casa de vegetação e avaliado o comprimento da maior raiz.

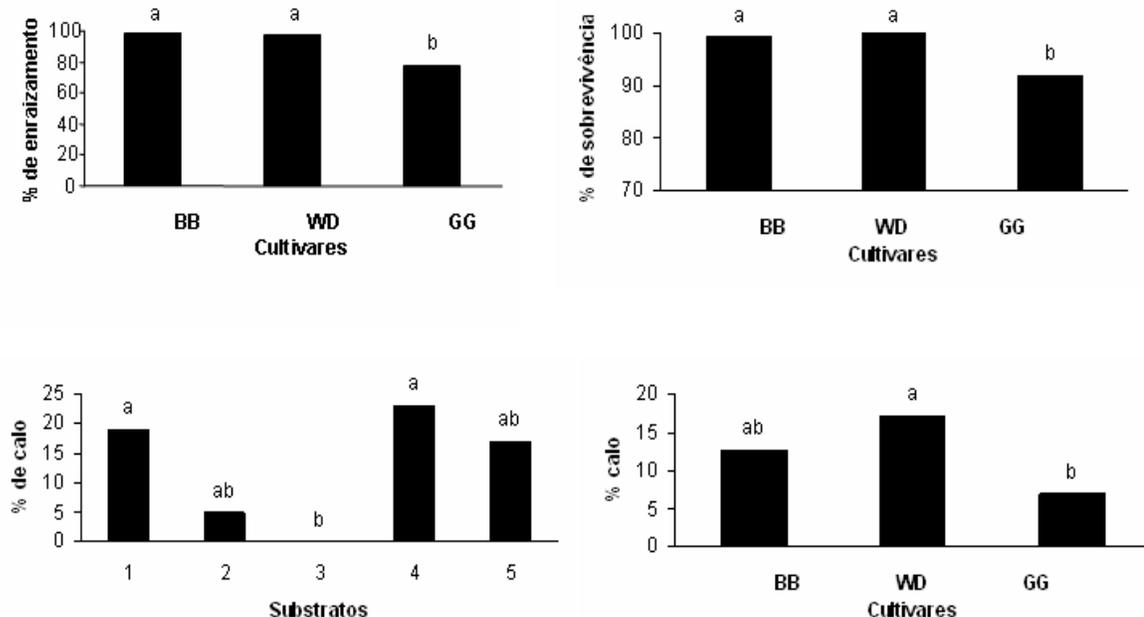


Figura 2. Percentagem de enraizamento (A), percentagem de sobrevivência (B), percentagem de formação de calo em função dos substratos (C) e em função das diferentes cultivares (D) de mirtilheiro. Substratos: 1- Plantmax[®]; 2- Plantmax[®] + serragem curtida; 3- serragem curtida; 4- Plantmax[®] + vermiculita; 5- vermiculita. Cultivares: BB = Bluebelle; WD = Woodard e GG = Georgiagem. Letras minúsculas iguais entre si não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. UFPEL/FAEM – Pelotas, 2009.

Quando avaliadas cada cultivar individualmente, o substrato vermiculita proporcionou melhores resultados quanto ao comprimento da maior raiz (Tabela 4). A vermiculita oferece boa aeração, alta capacidade de retenção de água, baixo peso (KÄMPF, 2005) e não dissemina doenças (HOFFMANN et al., 2005), características importantes no processo de enraizamento. Segundo Xavier et al. (2009) é recomendável testar cada substrato de acordo com as condições ambientais e a espécie a ser propagada.

Para a cultivar Georgiagem observou-se diferenças quanto aos substratos utilizados para a variável número médio de raízes (Tabela 4). Já 'Woodard' apresentou maior número médio de raízes quando utilizado serragem curtida e 'Bluebelle' quando utilizado vermiculita, embora este substrato não tenha diferido estatisticamente do uso de serragem curtida e Plantmax[®] + vermiculita. Além do substrato utilizado, as condições ambientais proporcionadas aos explantes também interfere na resposta ao número de raízes, conforme observado por Maciel et al. (2002), assim como a época do ano em que

se realiza o enraizamento, pois de acordo com Damiani e Schuch (2009b), no verão se obtêm melhores resultados.

As cultivares Bluebelle e Georgiagem não apresentaram diferenças entre os substratos testados quanto à altura média dos explantes, quando estas foram comparadas individualmente (Tabela 5). No entanto, 'Woodard' apresentou maior altura de explante no substrato serragem curtida. Parece haver uma relação oposta para estas cultivares quando comparadas com o comprimento de raiz, pois para um maior comprimento de raízes há uma menor altura de explante.

'Georgiagem' não apresentou diferença estatística entre os substratos para massa fresca total (Tabela 5) enquanto que para Bluebelle o melhor substrato foi vermiculita e para Woodard além de vermiculita, também Plantmax[®] + vermiculita foram eficientes. Porém, dentre todos os substratos, serragem curtida foi a melhor para todas as cultivares. Damiani e Schuch (2009b) observaram maior matéria fresca de mirtilheiro por explante quando enraizados *in vitro* em sala de crescimento, se comparado aos enraizados em casa de vegetação. No entanto, atribuem também haver influência da massa de calos formadas nos mesmos. Neste mesmo trabalho explantes enraizados com perlita e com vermiculita foram melhores para a matéria fresca total que o ágar+carvão ativado.

Tabela 4. Médias do comprimento das raízes (Cr), comprimento da maior raiz (Mr) e número de raízes (Nr) de diferentes cultivares de mirtilheiro. UFPEL/FAEM – Pelotas, 2009.

S	Cr (cm)			Mr (cm)			Nr (cm)		
	WD	BB	GG	WD	BB	GG	WD	BB	GG
1	1,97 Ba*	1,85 Bba	1,38 Bb	2,20 Ba	2,03 Ca	1,38 Bb	1,71 Ca	1,87 Ca	1,67 Aa
2	1,44 Ba	1,31 Bb	2,01 Ba	1,66 Ba	1,51 Ca	2,01 Ba	2,00 Ca	2,18 BCa	1,70 Aa
3	1,40 Ba	1,72 Ba	1,85 Ba	1,92 Ba	2,17 Ca	1,85 Ba	3,87 Aa	2,62 ABb	1,72 Ac
4	1,39 Bc	2,72 Aa	1,94 Bb	1,70 Bc	3,10 Ba	1,94 Bb	2,65 Ba	2,31 ABCa	1,70 Ab
5	3,14 Aa	3,21 Aa	3,00 Aa	4,10 Aa	4,21 Aa	3,00 Aa	2,68 Bab	2,97 Aa	2,21 Ab

* Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro. S = Substratos: 1- Plantmax[®]; 2- Plantmax[®] + serragem curtida; 3- serragem curtida; 4- Plantmax[®] + vermiculita; 5- vermiculita. Cultivares: BB = Bluebelle; WD = Woodard e GG = Georgiagem

Tabela 5. Médias de altura dos explantes (He), massa fresca total (Mft) e número de brotações (Nb) de diferentes cultivares de mirtilheiro. UFPEL/FAEM – Pelotas, 2009.

S	He (cm)			Mft (mg)			Nb		
	WD	BB	GG	WD	BB	GG	WD	BB	GG
1	3,78 CDa*	4,37 Aa	4,29 Aa	8,03 Cb	5,87 Cb	20,73 Aa	1,31 Aab	1,47 BCa	1,10 Bb
2	5,56 Ba	4,25 Ab	4,15 Ab	6,47 Cb	28,50 Ba	23,25 Aa	1,06 Ac	2,00 Aa	1,50 Bb
3	6,56 Aa	4,65 Ab	4,58 Ab	34,08 Ba	28,31 Ba	26,32 Aa	1,22 Ab	2,00 Aa	2,00 Aa
4	4,49 Ca	4,49 Aa	4,30 Aa	48,12 Aa	38,14 ABb	23,97 Ac	1,28 Aab	1,50 Ba	1,12 Bb
5	3,65 Db	4,63 Aa	4,33 Aab	53,88 Aa	42,35 Ab	25,70 Ac	1,12 Aa	1,10 Ca	1,18 Ba

* Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade de erro. S = Substratos: 1- Plantmax®; 2- Plantmax® + serragem curtida; 3- serragem curtida; 4- Plantmax® + vermiculita; 5- vermiculita. Cultivares: BB = Bluebelle; WD = Woodard e GG = Georgiagem.

O número médio de brotos para 'Georgiagem' foi maior na serragem curtida (Tabela 5). Para 'Bluebelle', além desta, também Plantmax[®] + serragem curtida foram eficientes, enquanto que para 'Woodard' não houve diferença para os substratos. De modo geral a diferença apresentada entre as cultivares de mirtilheiro e, mais especificamente entre os grupos pode ter ocorrido em função de que o material utilizado da cultivar Georgiagem, quando retirado do laboratório, encontrava-se em condições de menor qualidade que os demais, o que pode ter interferido na resposta das variáveis analisadas. É possível que tal resposta não esteja relacionada às diferenças entre grupos, mas pode ser uma característica intrínseca da própria cultivar.

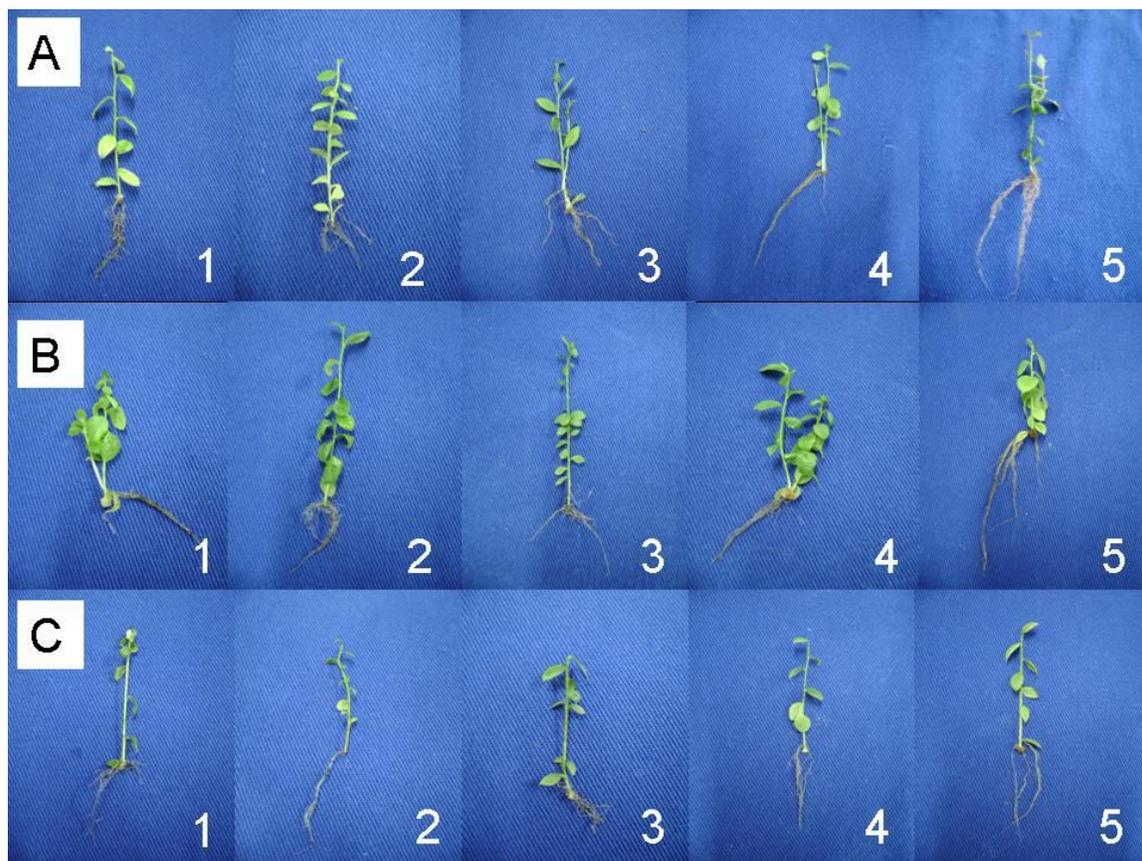


Figura 3. Ilustração dos explantes de mirtilheiro das cultivares Bluebelle (A), Woodard (B) e Georgiagem (C), nos substratos Plantmax[®] (1), Plantmax[®] + serragem curtida (2), serragem curtida (3), Plantmax[®] + vermiculita (4), vermiculita (5) aos 75 dias. UFPEL/FAEM – Pelotas, 2009. Foto: Tânia Regina Pelizza.

4.4 CONCLUSÕES

Recomenda-se o uso dos substratos vermiculita de granulometria média, serragem curtida de pinus e Plantmax[®] + vermiculita de granulometria média para o enraizamento *ex vitro* de explantes de mirtilheiro.

Maior potencial para o enraizamento *ex vitro* é alcançado com as cultivares Bluebelle e Woodard (Grupo Rabbiteye).

5. CAPITULO II

ACLIMATIZAÇÃO E CRESCIMENTO DE PLANTAS DE MIRTILEIRO 'CLIMAX' MICROPROPAGADAS EM FUNÇÃO DO SUBSTRATO E DA COBERTURA PLÁSTICA

5.1 INTRODUÇÃO

O mirtilheiro é uma espécie frutífera cujos centros de origem são a Europa e América do Norte, locais onde este fruto tem grande importância econômica (RASEIRA, 2006). Apesar de, ainda incipiente, a produção brasileira do mirtilheiro, apresenta grande potencial para expansão. Para que isso ocorra há a necessidade da disponibilização comercial de mudas de qualidade.

A micropropagação tem sido utilizada para obtenção de mudas de qualidade. São inúmeras as vantagens de seu uso, porém, o custo final é elevado (SCHUCH e ERIG, 2005). Para reduzir o custo e o tempo de permanência em laboratório, uma alternativa é o enraizamento *ex vitro*. Posteriormente realiza-se a aclimatização das plantas retirando-as de uma condição autotrófica (laboratório) e adaptando-as a uma condição heterotrófica (casa de vegetação) (ZIMMERMAN, 1988).

A etapa da aclimatização das plantas é uma fase crítica e limitante no processo da micropropagação. Esse processo deve ser progressivo de forma que as plantas não sofram estresse ou venham a morrer devido às mudanças de ambiente (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Vários trabalhos já foram conduzidos com

aclimatização de plantas frutíferas (HOFFMANN et al., 2001; ERIG et al., 2004; VILLA et al., 2006), no entanto, na cultura do mirtilheiro os trabalhos são praticamente inexistentes.

Durante a aclimatização, o fornecimento de um ambiente adequado para as plantas, a manutenção de sombreamento e de alta umidade relativa, substrato adequado, controle fitossanitário e nutrição adequadas são importantes para a sobrevivência e o desenvolvimento das plantas micropropagadas (SCHUCH e ERIG, 2005).

Durante a fase de aclimatização e crescimento das plantas é necessário o uso de um meio de sustentação e fornecedor de nutrientes: o substrato. A escolha e o manejo correto do substrato irão afetar a sobrevivência, o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo de suma importância o uso de um bom substrato para a obtenção final de mudas de qualidade (BACKES e KÄMPF, 1991).

Assim sendo, conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar a aclimatização e o crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro (*Vaccinium virgatum*) cv. 'Climax', em diferentes substratos e sistemas de cobertura.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e telado pertencentes ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, durante o período de abril a dezembro de 2008. Em abril de 2008, explantes de mirtilheiro da cv. Climax enraizados *ex vitro* em substrato comercial Plantmax®, com aproximadamente 2,5 cm de altura, foram acondicionados em sacos de polietileno preto, tamanho 10 x 15 cm, contendo diferentes substratos. Em seguida, estes foram acondicionados em bandejas plásticas onde, sobre elas, de acordo com o tratamento, foi colocado ou não plástico como cobertura. O plástico utilizado era de pvc e transparente. Utilizou-se 3 substratos: casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® (1:1 v/v); Plantmax® + vermiculita (1:1 v/v); Solo + serragem jovem de pinus (1:1 v/v) e dois sistemas de cobertura: com e sem cobertura plástica (Figura 4). O solo, um Planossolo predominante na região, foi retirado da camada superficial de uma área agrícola da Universidade e em seguida foi peneirado para uso. A escolha da cultivar "Climax"

para ser utilizada na condução deste trabalho foi em função da disponibilidade de material, sendo que esta foi a cultivar que se dispunha em maior quantidade no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas no momento da instalação deste experimento.

As plantas permaneceram em casa de vegetação com controle de temperatura, em $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 30 dias. Após, as plantas foram transferidas para casa de vegetação e permaneceram por 60 dias sem controle de temperatura. A temperatura e a umidade relativa do ar são apresentadas na Tabela 6. Aos 90 dias, as plantas foram transferidas para telado, sem cobertura plástica, onde permaneceram até os 210 dias. Neste período foram efetuadas leituras de temperatura e umidade relativa do ar no local cujos valores encontram-se na Figura 5. A irrigação por nebulização foi acionada a cada hora por 2,5 minutos. Porém, como o pH normal da água de irrigação estava próximo a 6,0, quinzenalmente adicionava-se água a pH 5,0 com auxílio de regador. A partir da entrada das plantas no telado iniciou-se aplicação quinzenal de solução nutritiva composta por sulfato de amônio (12 %), potássio (10 %), magnésio (10 %), uréia (35 %) e ácido fosfórico (10%). Durante a aclimatização efetuou-se irrigação manual com pulverizador, com pH da água igual a 5,0 de acordo com a necessidade das plantas. Efetuou-se leitura do pH dos substratos onde foi utilizada a média de cinco repetições (Tabela 7).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 2 \times 7$, sendo 3 substratos, 2 sistemas de cobertura (com e sem cobertura plástica), em 7 tempos de avaliação, com 4 repetições de 8 plantas cada. A percentagem de plantas sobreviventes foi avaliada mensalmente a partir dos 30 dias. As medidas de altura das plantas, realizada com o auxílio de régua graduada, iniciou aos 60 dias, e, a partir de então, se determinou o incremento de altura de plantas até os 210 dias. No tempo total de avaliação (210 dias) não estão acrescidas as fases da micropropagação, que correspondem há aproximadamente 60 dias. Para a determinação da biomassa seca do sistema radicular e da parte aérea das plantas foram coletadas todas as plantas do experimento. As mesmas foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar forçado por 72 horas a temperatura de 65°C . Após foram pesadas em balança analítica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) através do programa estatístico Winstat

(MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003). Quando necessário efetuou-se transformação dos dados através de arcoseno de $x/100^{1/2}$.

Tabela 6. Temperatura média, máxima e mínima do ar e umidade relativa do ar média, máxima e mínima no período de 60 dias no qual as plantas de mirtilheiro 'Climax' permaneceram em casa de vegetação sem controle de temperatura. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Mês	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)		
	Média	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima
Junho	15,05	21,60	11,05	85,32	91,91	56,10
Julho	15,77	22,79	11,88	86,60	94,05	59,05



Figura 4. Ilustração do aspecto inicial das plantas de mirtilheiro em substrato casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® (1); Plantmax® + vermiculita (2); Solo + serragem jovem de pinus (3) e os sistemas de cobertura: com (4) e sem (5) cobertura plástica. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009. Foto: Tânia Regina Pelizza.

Tabela 7. Leituras de pH dos substratos casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®, casca de arroz carbonizada, Húmus Fértil®, Plantmax® + vermiculita, Plantmax®, vermiculita, solo + serragem jovem de pinus, solo e serragem jovem de pinus. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Substrato	pH
Casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®	6,1
Casca de arroz carbonizada	6,7
Húmus Fértil®	5,6
Plantmax® + vermiculita	5,9
Plantmax®	5,2
Vermiculita	6,7
Solo + serragem jovem de pinus	5,6
Solo	6,4
Serragem jovem de pinus	4,6

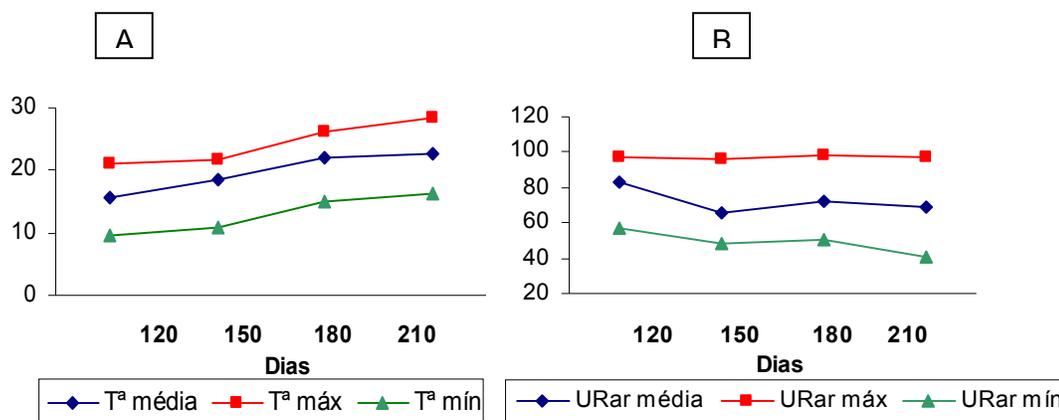


Figura 5. Temperatura média, máxima e mínima do ar e umidade relativa do ar média, máxima e mínima ocorridas no telado aos 120, 150, 180 e 210 dias de crescimento das plantas de mirtilheiro 'Climax'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância evidenciou interação tripla entre os fatores substratos x sistemas de cobertura (com e sem cobertura plástica) x tempo de avaliação, conforme pode ser verificado na Tabela 8. Efeitos significativos para a percentagem de sobrevivência das plantas também foram verificados nos fatores substrato, tempo de avaliação, sistema de cobertura e nas interações entre substrato x sistema de cobertura, substrato x tempo.

Tabela 8. Análise de variância para a variável percentagem de sobrevivência de plantas de mirtilheiro 'Climax' em função do substrato e sistemas de cobertura avaliadas ao longo de 210 dias. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	Sobrevivência (%)	
	GL	Quadrado médio ¹
Substrato (SU)	2	95276,2 **
Tempo (T)	6	3251,8 **
Sistema (SI)	1	12950,1 **
SU x T	12	1222,4 **
SI x T	6	365,5 ^{ns}
SU x SI	2	1161,6 *
SU x SI x T	12	757,9 **
Resíduo	126	265,38
Média geral		65,17
CV (%)		24

ns = não significativo pelo teste de F a 5 % de probabilidade de erro;

**, *, significativo a 1 % e a 5% de probabilidade de erro, respectivamente.

¹ Variável transformada através da expressão arco seno $(x/100)^{1/2}$.

Aos 30 dias de avaliação, período em que foi oferecido às plantas de mirtilheiro controle de temperatura do ar, o uso de casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® sem cobertura plástica já havia reduzido significativamente o número de plantas sobreviventes (37,5 %) e chegou aos 60 dias com todas as plantas mortas. A partir dos 60 dias, o mesmo substrato com cobertura plástica já se diferia estatisticamente dos demais e, ao final do experimento (210 dias), resultou no menor percentual de plantas sobreviventes (3,1 %) (Tabela 9).

Embora a casca de arroz carbonizada seja um material que proporciona boas condições físicas ao substrato devido à maior porosidade (MEDEIROS, 1998), drenagem rápida da água e boa aeração (KÄMPF, 2005), e esteja disponível em grande quantidade na região, é, ao mesmo tempo, um material levemente alcalino (MEDEIROS, 1998; KÄMPF, 2005). O Húmus Fértil® é um substrato que apresenta alto percentual de umidade e apresenta como valor de pH 5,6. A associação de casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® apresenta valor de pH igual a 6,1 (Tabela 9), ou seja, formam um substrato levemente alcalino, o que para plantas de mirtilheiro não é adequado, pois estas se adaptam melhor a materiais com pH do solo

ácido. Tais características possivelmente tenham sido responsáveis por afetar negativamente a sobrevivência das plantas de mirtilheiro.

Tabela 9. Médias da percentagem de sobrevivência de plantas de mirtilheiro 'Climax' em diferentes substratos e sistemas de cobertura durante 210 dias de avaliação. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Sistemas de cobertura	Sobrevivência (%)		
	Casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®	Plantmax® + vermiculita	Solo + serragem jovem
30 dias			
Com cobertura plástica	100,0 Aa*	100,0 Aa	100,0 Aa
Sem cobertura plástica	37,5 Bb	87,5 Aa	100,0 Aa
60 dias			
Com cobertura plástica	62,5 Ba	96,8 Aa	100,0 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Bb	78,1 Aa	96,8 Aa
90 dias			
Com cobertura plástica	40,6 Ba	93,7 Aa	100,0 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Cb	68,7 Ba	96,8 Aa
120 dias			
Com cobertura plástica	3,1 Ba	90,6 Aa	100,0 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Ca	68,7 Ba	96,8 Aa
150 dias			
Com cobertura plástica	3,1 Ba	90,6 Aa	96,8 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Ca	68,7 Ba	96,8 Aa
180 dias			
Com cobertura plástica	3,1 Ba	87,5 Aa	96,8 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Ba	68,7 Aa	75,0 Ab
210 dias			
Com cobertura plástica	3,1 Ba	87,5 Aa	96,8 Aa
Sem cobertura plástica	0,0 Ba	68,7 Aa	75,0 Ab

* Letras maiúsculas na linha e minúsculas coluna, dentro de cada tempo de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

Aos 90 dias de avaliação o uso do substrato Plantmax® + vermiculita sem cobertura plástica apresentou menor percentual de plantas sobreviventes que solo + serragem jovem sem cobertura plástica, o que não havia ocorrido até o momento (Tabela 9). Porém, Plantmax® + vermiculita com e sem cobertura plástica foram iguais estatisticamente entre si durante todos os períodos avaliados. O substrato comercial Plantmax® tem como vantagem a uniformidade da composição química e física. Por suas características, é o substrato recomendado para a fase de

aclimatização de plantas micropropagadas (HOFFMANN et al, 2001). Segundo Kämpf (2005), a vermiculita oferece boa aeração e alta capacidade de retenção de água além de baixo peso e não dissemina doenças (HOFFMANN et al., 2005), o que é possível de ocorrer quando se faz uso do solo sem a devida esterelização. Possivelmente pelas características citadas, de ambos os substratos, obteve-se boa sobrevivência das plantas. A eficiência da vermiculita também pode ser comprovada através de resultados de sua comercialização, pois segundo Ferraz et al (2005), a vermiculita, de origem mineral, e a turfa, de origem vegetal, são os substratos mais utilizados mundialmente.

Solo + serragem jovem apresentaram alto percentual de plantas sobreviventes, no entanto, neste substrato sem cobertura plástica, 25% das plantas morreram após estarem aclimatizadas e já estarem no telado (aos 180 e 210 dias) (Tabela 9). O solo, recurso natural mais facilmente disponível para uso, é um substrato que apresenta pouca drenagem quando utilizado sob nebulização e exige desinfestação, pois pode ser fonte de disseminação de doenças (Hoffmann et al, 2005). A serragem de pinus, ou de outra planta qualquer, é facilmente encontrada na região e pode ser adquirida gratuitamente. O inconveniente do uso deste material, de acordo com observações realizadas neste trabalho é de que, juntamente com o solo utilizado (solo da região – Planossolo, caracterizado por apresentar má drenagem, baixa soma de bases e baixos teores de matéria orgânica), resulta em um substrato compacto e com pouca drenagem o que dificultou a sobrevivência e o crescimento da planta. Em função da não esterilização do solo ocorreu formação de colônias de fungos saprófitos no substrato Solo + serragem jovem. Possivelmente tal fator tenha sido o principal responsável pela mortalidade de 25% das plantas no telado, onde plantas que não utilizaram cobertura plástica se mostraram mais sensíveis a tal situação, enquanto que plantas que foram submetidas ao uso da cobertura foram mais resistentes.

Hoffmann et al (2001) não verificaram diferenças na sobrevivência de plantas micropropagadas de porta-enxerto de macieira 'Marubakaido' aclimatizadas em casa de vegetação com nebulização intermitente, temperatura em torno de 30°C, umidade relativa do ar em torno de 93% e sombreamento parcial, com tela de sombreamento (50%), quando compararam diferentes substratos. De acordo com Villa et al. (2006) é possível obter até 92% de sobrevivência, aos 100 dias de aclimatização de amoreira-preta 'Ébano' micropropagada, pré-aclimatizadas com abertura de frascos

por 3 dias e aclimatizadas em bandejas plásticas com o uso de Plantmax®. Já para plantas de marmeleiro 'MC' e 'Adams', micropropagadas e aclimatizadas em garrafas plásticas transparentes, a percentagem de sobrevivência foi satisfatória para os substratos Plantmax® e Plantmax® + vermiculita (ERIG et al., 2004). Erig e Schuch (2004) obtiveram 65 % de sobrevivência de plantas de marmeleiro cultivar MC aclimatizadas em substrato solo + Plantmax®, em copos plásticos dentro de bandejas fechadas com vidro, após 30 dias.

De acordo com o substrato e o tipo de sistema de cobertura utilizado, ocorre morte das plantas de mirtilheiro com o avanço no tempo de aclimatização e crescimento das mesmas (Tabela 9). Segundo Marin e Gella (1988) uma queda drástica na sobrevivência de plantas de *Prunus cerasus* ocorre em torno dos 14 dias após o início da aclimatização. Carvalho et al. (2008) verificaram diminuição de aproximadamente 40% na sobrevivência de plantas de mirtilheiro ao final de 120 dias de aclimatização. De acordo com Marin e Gella (1988), esse fenômeno pode ser causado pela baixa eficiência na troca do metabolismo heterotrófico/mixotrófico (com dependência total ou parcial de uma fonte externa de carbono) para o metabolismo autotrófico do carbono (com dependência total da fotossíntese), pois para Pospíšilová et al. (1999) em condições de casa de vegetação, a irradiância é muito maior e a umidade do ar muito inferior às condições que as plantas dispunham na sala de crescimento, o que contribui para a morte das mesmas. Para que isso não ocorra, é importante que as plantas, quando passam para uma condição *ex vitro*, sejam expostas durante algumas semanas há uma progressiva redução na umidade do ar (BOLAR et al., 1998) e gradativo aumento de radiação.

Houve interação tripla entre substrato x sistema de cobertura (com e sem cobertura plástica) x tempo de avaliação para o incremento de altura das plantas de mirtilheiro (Tabela 10). Também foram verificados efeitos significativos para o incremento de altura das plantas nos fatores principais substrato, tempo, sistema de cobertura e nas interações entre substrato x sistema de cobertura, substrato x tempo.

Tabela 10. Análise de variância para a variável incremento de altura de plantas de mirtilheiro 'Climax' ao longo do tempo de avaliação (dias). UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	Incremento de altura (cm) ¹	
	GL	Quadrado médio
Substrato (SU)	2	431,08 **
Tempo (T)	4	126,66 **
Sistema de cobertura (SI)	1	175,6 **
SU x T	8	36,86**
SI x T	4	19,8 **
SU x SI	2	165,48**
SU x SI x T	8	10,23 **
Resíduo	90	3,02
Média geral		3,41
CV (%)		50

ns = não significativo pelo teste de F a 1 % de probabilidade de erro;

** significativo a 1 % de probabilidade de erro.

¹ Variável transformada através da expressão arco seno $(x/100)^{1/2}$.

Dos 60 aos 90 dias não houve diferença significativa entre substratos e, tampouco, entre os sistemas de cobertura (Tabela 11). Nesse período, que compreende parte da fase em que as plantas encontravam-se sem controle de temperatura, observa-se na Tabela 6, baixa temperatura média do ar. Aliado a isso, ocorreu nesse período, uma baixa radiação solar incidente, $210 \text{ cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ (ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS, 2009). Tais condições são desfavoráveis para o crescimento das plantas, pois afetam a realização da fotossíntese, com prejuízos para a produção de fotoassimilados (ANDRIOLO, 1999). Segundo Marengo e Lopes (2009), plantas expostas há alta luminosidade absorvem íons (nutrientes) mais rapidamente do que aquelas mantidas em condições de baixa irradiância, pois estas alocam menos fotoassimilados para as raízes.

A partir do período 60-120 dias, houve diferenças significativas entre os sistemas de cobertura para o substrato Plantmax® + vermiculita quanto ao incremento médio de altura de planta, onde o maior incremento se deu sem o uso da cobertura plástica. Plantmax® + vermiculita se destacam sobre os demais substratos, onde as diferenças são mais pronunciadas quando não se utiliza cobertura plástica sobre as plantas (Tabela 11). Embora o pH deste substrato fosse de 5,9, a vermiculita, que compõe este substrato, apresenta elevada porosidade e

boa retenção de umidade (HOFFMANN et al., 2005) o que juntamente com as qualidades do Plantmax® acredita-se que tenha contribuído para a formação de um bom substrato e assim possibilitou às plantas um maior incremento em altura.

De acordo com Andriolo (1999) a presença de uma camada de condensação espessa, formada nos materiais de cobertura, pode reduzir em até 50% a transmissividade da energia solar. Em função do exposto, acredita-se que este tenha sido um fator determinante que influenciou o crescimento das plantas em condição de uso da cobertura plástica, já que tal situação foi verificada neste trabalho (Figura 6).

Tabela 11. Médias do incremento de altura (cm) de plantas de mirtilheiro 'Climax' em diferentes substratos e sistemas de cobertura dos 60 a 210 dias de avaliação. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Sistemas de cobertura	Incremento médio de altura de planta (cm)		
	Casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®	Plantmax® + vermiculita	Solo + serragem jovem
60-90 dias			
Com cobertura plástica	0,90 Aa**	0,49 Aa	0,28 Aa
Sem cobertura plástica	0,00 Aa	2,53 Aa	0,22 Aa
60-120 dias			
Com cobertura plástica	0,83 Aa	0,99 Ab	0,33 Aa
Sem cobertura plástica	0,00 Ba	5,33 Aa	0,63 Ba
60-150 dias			
Com cobertura plástica	1,59 Ba	4,67 Ab	2,51 ABa
Sem cobertura plástica	0,00 Ba	11,85 Aa	2,55 Ba
60-180 dias			
Com cobertura plástica	1,64 Ba	6,01 Ab	1,90 Bb
Sem cobertura plástica	0,00 Ca	15,07 Aa	6,13 Ba
60-210 dias			
Com cobertura plástica	2,34 Ba	6,55 Ab	1,98 Bb
Sem cobertura plástica	0,00 Ca	17,20 Aa	7,79 Ba

* Letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, dentro de cada tempo de avaliação, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

Na aclimação de amoreira-preta cv. Ébano Villa et al. (2006) verificaram maior crescimento de parte aérea das plantas quando utilizado Plantmax® como substrato. O mesmo foi verificado por Chaves et al. (2006) e também com resultado semelhante para o uso associado do Plantmax® com vermiculita, na avaliação do crescimento da parte aérea de plantas de physalis, aclimatizadas em bandejas

alveoladas com 128 células, em telado protegido com sombrite e sem nebulização. Augusto et al. (2006) verificaram que para a aclimatação de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos, aclimatizadas em bandejas de poliestireno em túnel plástico, há maior crescimento das plantas quando comparado às condições de câmara de nebulização. Maciel et al. (2002), praticamente não observou diferenças quanto à altura de plantas micropropagadas de porta enxerto de macieira 'Marubakaido' quando utilizou diferentes substratos em avaliações realizadas dos 30 aos 90 dias, em diferentes ambientes de aclimatação. Neste mesmo trabalho os autores recomendam como melhor ambiente para as plantas a permanência de 20 dias na sala de aclimatização (sala de crescimento) e 10 dias na câmara de nebulização antes de serem colocadas em casa de vegetação. Ledo et al. (2007) não observaram diferenças no comprimento da parte aérea de plântulas de coqueiro-anão-verde (*Cocos nucifera* L.), quando testaram areia lavada e pó de casca de coco seco + areia lavada como substrato, aos 30 dias, quando aclimatadas em telado com 50% de sombreamento e cobertas nos primeiros sete dias com sacos de plástico transparente. No entanto, aos 120 dias o comprimento da parte aérea das plântulas foi superior em substrato composto por pó de casca de coco seco + areia lavada.

Tabela 12. Análise de variância para as variáveis biomassa seca de parte aérea e biomassa seca do sistema radicular de plantas de mirtilheiro 'Climax'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	Quadrado médio		
	GL	MSPA (g)	MSR (g)
Substrato (SU)	2	1,03**	0,06**
Sistemas de cobertura (SI)	1	0,90**	0,04**
SU x SI	2	0,67**	0,03**
Resíduo	11	0,03	0,00
Média geral		0,28	0,06
CV (%)		38	24

* Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, dentro de cada tempo de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.



Figura 6. Ilustração do aspecto geral das plantas de mirtilheiro 'Climax' aos 210 dias, em substrato casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® com cobertura plástica (1); Plantmax® + vermiculita com (2) e sem (3) cobertura plástica; solo + serragem jovem de pinus com (4) e sem (5) cobertura plástica; (6) aspecto de uma planta aclimatizada em Plantmax® + vermiculita sem cobertura plástica. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009. Foto: Tânia Regina Pelizza.

Houve interação entre substrato x sistema de cobertura (com e sem cobertura plástica) para as variáveis biomassa seca de parte aérea e biomassa seca do sistema radicular de plantas de mirtilheiro 'Climax' (Tabela 12). Também foram verificados efeitos significativos para biomassa seca de parte aérea e biomassa seca do sistema radicular nos fatores principais substrato e sistema de cobertura.

Com a utilização da cobertura plástica não houve diferenças estatísticas significativas para a variável biomassa seca de parte aérea em quaisquer dos substratos utilizados (Tabela 13). Porém, quando não se utilizou cobertura plástica sobre as plantas, o substrato Plantmax® + vermiculita sobressai-se aos demais. A biomassa seca do sistema radicular das plantas é maior em substrato Plantmax® + vermiculita em ambos os sistemas de cobertura comparativamente aos demais substratos. Tal resultado demonstra a capacidade que estas condições proporcionadas às plantas têm em favorecer o acúmulo de reservas nas mesmas.

Esta condição possivelmente contribua para o momento em as plantas forem levadas à campo, pois acredita-se que plantas de mirtilheiro com maior sistema radicular e maior biomassa vegetal tenham maiores chances de sobreviverem e adaptarem-se ao novo ambiente. Para Plantmax® + vermiculita e solo + serragem, a biomassa seca da parte aérea e do sistema radicular é maior no tratamento sem cobertura plástica sobre as plantas. A biomassa seca da parte aérea e do sistema radicular não diferiu para o substrato casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® quanto ao uso ou não da cobertura plástica.

Tabela 13. Médias de biomassa seca de parte aérea e biomassa seca do sistema radicular de plantas de mirtilheiro 'Climax' avaliadas aos 210 dias. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Biomassa seca de parte aérea (g)			
Sistemas de cobertura	Casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®	Plantmax® + vermiculita	Solo + serragem jovem
Com cobertura	0,06 Aa**	0,17 Ab	0,03 ABb
Sem cobertura	0,00 Ca	1,21 Aa	0,21 Ba

Biomassa seca radicular (g)			
Sistemas de cobertura	Casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil®	Plantmax® + vermiculita	Solo + serragem jovem
Com cobertura	0,00 Ca	0,05 Ab	0,01 Bb
Sem cobertura	0,00 Ca	0,28 Aa	0,04 Ba

** Letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, dentro de cada tempo de avaliação não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

Maciel et al. (2002), não verificaram diferenças para biomassa seca de raiz de plantas micropropagadas de porta enxerto de macieira 'Marubakaido' quando utilizado terra roxa estruturada + vermicomposto bovino (1:1 - v:v) e terra roxa estruturada + casca de arroz carbonizada (1:1 - v:v) aos 30 e 90 dias após enraizamento *ex vitro*. Segundo Wagner Júnior et al. (2004) a matéria seca da parte aérea de plantas micropropagadas de porta enxerto de ameixeira 'Mariana 2614' é maior quando utilizado casca de arroz carbonizada + Plantmax® como substrato, em relação ao uso de casca de arroz carbonizada + solo + esterco durante a aclimatização, realizada em casa de vegetação com túnel baixo de plástico e sombrite sobre as plantas. Porém, a matéria seca de raiz não é afetada pelo uso dos diferentes substratos. Villa et al. (2006) observaram ser o substrato Plantmax® o melhor dentre vários outros testados para a aclimatização de plantas

micropropagadas de amoreira-preta cv. Ébano. Verificaram maior peso seco e fresco da parte aérea e radicular das plantas, maior comprimento da parte aérea e de raízes em substrato Plantmax® utilizado isoladamente. Ristow et. al (2009) verificaram maior massa seca do sistema radicular e da parte aérea de plantas micropropagadas de mirtilheiro 'Georgiagem' quando utilizaram como substrato acícula de pinus + solo. No entanto Ferri (2008) observou que o uso do substrato constituído por 70% de serragem + 20% de fibra de coco + 10% de esterco bovino é o que proporciona maior matéria seca da parte aérea e radicular de plantas micropropagadas de mirtilheiro nas cultivares Climax e Aliceblue (Rabbiteye) enquanto que, para 'O'Neal' e 'Georgiagem' (Highbush), melhores resultados, para as mesmas variáveis, é observado em substrato constituído por 70% de casca de arroz carbonizada + 20% de serragem + 10 % de esterco bovino.

5.4 CONCLUSÕES

A percentagem de sobrevivência das plantas micropropagadas de mirtilheiro em substrato Plantmax® + vermiculita é igual quando utilizado ou não cobertura plástica.

O uso da cobertura plástica incrementa a altura média das plantas quando utilizado como substrato Plantmax® + vermiculita.

A maior biomassa seca de parte aérea e do sistema radicular é obtida com o uso de Plantmax® + vermiculita sem cobertura plástica sobre as plantas.

Recomenda-se evitar o uso da casca de arroz carbonizada + Húmus Fértil® para a aclimatização e crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro.

6. CAPITULO III

MICROESTAQUIA EM MIRTILEIRO: USO DE DIFERENTES PORÇÕES DO RAMO E SUBSTRATOS

6.1 INTRODUÇÃO

A cultura do mirtilheiro (*Vaccinium* sp) tem despertado o interesse de produtores e pesquisadores principalmente por ser uma nova opção de cultivo para regiões de clima temperado e com promissor mercado de fruta para exportação.

No entanto, um dos entraves para a expansão da cultura é a dificuldade na obtenção de bons resultados quanto à sua propagação, que pode se dar por meio da macropropagação (estaquia ou mergulhia) ou pela micropropagação (cultura de tecidos). A junção de técnicas como a micropropagação e a estaquia se apresentam como promissoras.

A técnica da microestaquia foi pioneira no Brasil com o uso em espécies florestais, mais especificamente na cultura do eucalipto. É uma técnica de propagação vegetativa na qual são utilizados propágulos (microestacas) de plantas, cujo material foi rejuvenescido através de técnicas de cultivo *in vitro*. De acordo com o número de folhas remanescentes, os propágulos podem ter tamanho entre 4 a 8 cm, variando de acordo com o tamanho dos internódios e vigor (XAVIER et al., 2009).

A época do ano, o uso de fitorreguladores, o estado nutricional das plantas, a taxa de respiração e a fotossíntese, bem como a relação carbono/nitrogênio são

fatores que podem interferir no enraizamento (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972; VÁLIO,1986). Além destes, o substrato é um fator importante no enraizamento de estacas. Ele deve proporcionar umidade adequada a fim de evitar a dessecação da base da estaca, espaço poroso para facilitar o enraizamento, que permita a aeração e evite o desenvolvimento de doenças; um ambiente escuro; boa agregação das raízes; capacidade de re-hidratação após secagem; boa capacidade de tamponamento contra alterações de pH; ausência de substâncias inibidoras do crescimento ou prejudiciais às plantas e apresentar sempre o mesmo comportamento a um dado manejo (COUVILLON, 1998; RÖBER, 2000; HARTMANN et al., 1997; FACHINELLO et al., 2005).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a capacidade de enraizamento de microestacas retiradas de duas porções (apical e mediana) dos ramos de mirtilheiro (*Vaccinium virgatum*) cv. 'Climax', provenientes de mudas micropropagadas, com a utilização de diferentes substratos.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado durante os meses de janeiro a maio de 2008, em telado pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, equipado com sistema de nebulização intermitente, acionado a cada hora por 2 minutos e meio. As plantas matrizes, da cultivar Climax, utilizadas para a realização deste experimento, com aproximadamente 2 anos e meio de idade, foram obtidas através do processo de micropropagação. Como substrato para as plantas matrizes foi utilizado substrato comercial Plantmax® + casca de arroz carbonizada, na proporção de 3:1 (v/v).

Foram utilizados dois tipos de microestacas (mediana e apical) e três substratos (Plantmax® + casca de arroz carbonizada (1:1); Húmus Fértil® e Vermicomposto Bovino). Nas microestacas apicais, manteve-se a gema apical com primórdio foliar e duas gemas laterais com 1/3 de folha cada. Para as estacas medianas, mantiveram-se três gemas e 1/3 de duas folhas. As microestacas apresentavam em média 3,0 cm de comprimento e 3,0 mm de diâmetro. Com auxílio de canivete realizou-se em ambos os lados das microestacas, duas lesões na base, em forma de bisel. Em seguida, foram imersas em água, a fim de se evitar a

oxidação das mesmas e após, realizou-se a imersão de sua base em 2000 mg.L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB), por 5 segundos. Este foi diluído em base NaOH 1N e em álcool etílico. Após o tratamento em AIB as microestacas foram transferidas para o substrato, em bandejas de poliestireno expandido com 72 células.

Quinzenalmente as microestacas receberam aplicações de solução nutritiva (20 ml cada) à base de sulfato de amônio (12 %), potássio (10 %), magnésio (10 %), uréia (35 %) e ácido fosfórico (10%), cujo valor do pH da solução era igual a 3,0. Haja vista o pH da água utilizada para irrigação ser elevado para as exigências desta cultura, efetuou-se irrigação manual quinzenalmente com água com pH 4,0, sendo este reduzido com o uso do produto comercial SolP₃₀.

Aos 110 dias da instalação do experimento foram avaliados: porcentagem de enraizamento; sobrevivência; formação de calo; número médio de raízes; comprimento médio de raízes e comprimento da maior raiz; número médio de folhas e de brotações.

Foram utilizadas quatro repetições de 12 estacas cada, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 3, sendo dois tipos de microestacas (apical e mediana) e três tipos de substratos (Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada (1:1); Húmus Fértil[®] e Vermicomposto Bovino). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, as médias foram comparadas entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$) através do programa estatístico Winstat 2.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003). Os dados expressos em número (raiz, folhas, brotações) foram transformados em raiz quadrada de $x+0,5$ e dados em porcentagem (enraizamento, calo, sobreviventes) foram transformados em arcoseno da raiz quadrada de $x/100$.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre tipo de microestaca x substrato (Tabela 14), para a variável número de raízes. Quanto ao tipo de microestaca utilizada as variáveis porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes e comprimento da maior raiz não foram significativos, e em relação aos tipos de substratos, a porcentagem de calo não foi significativa.

Tabela 14. Análise de variância das variáveis percentagem de enraizamento (Enr), formação de calo (Calo) e estacas sobreviventes (Sobr); comprimento (Cr) e número de raízes (Nr); tamanho da maior raiz (Mr); número de folhas (Nf) e de brotações (Nb) em microestacas medianas e apicais de mirtilheiro 'Climax' com o uso de diferentes substratos. Tipo – tipo de microestaca (apical/mediana); Subst – substrato. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	Quadrado médio								
	GL	Enr %	Calo %	Sobr %	Cr (cm)	Nr -	Mr (cm)	Nf (mg)	Nb -
Tipo	2	489,15 ^{ns}	1530,56 ^{**}	4629,53 ^{**}	0,00 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,00 ^{ns}	4,67 [*]	1,05 [*]
Substrato	1	7693,82 ^{**}	150,42 ^{ns}	4088,95 ^{**}	23,17 ^{**}	13,90 ^{**}	62,62 ^{**}	41,30 ^{**}	1,41 ^{**}
Tipo*Substrato	2	141,83 ^{ns}	185,17 ^{ns}	228,56 ^{ns}	0,25 ^{ns}	6,81 [*]	0,67 ^{ns}	0,97 ^{ns}	0,45 ^{ns}
Resíduo	18	332,74	178,41	397,39	0,29	1,19	0,51	1,10	0,14
CV %		42	18	26	29	19	26	13	15

^{**}, ^{*} Valor significativo a 1 e a 5% de probabilidade, respectivamente.
ns = não significativo

Microestacas da porção mediana apresentaram maior porcentagem de sobrevivência (72,2 %), maior número de folhas (4,2) e de brotações (1,2), porém, as mesmas desenvolveram maior porcentagem de calo (20,1 %) (Tabela 15). Acredita-se que a maior porcentagem de sobrevivência em microestacas medianas esteja relacionada há maior lignificação do material, já que microestacas apicais são menos lignificadas e, portanto, mais sensíveis à desidratação, além de estas apresentarem menor quantidade de reservas de carboidratos, pois segundo Fachinello et al. (2005), reservas mais abundantes de carboidratos correlacionam-se com maiores porcentagens de enraizamento e sobrevivência das estacas. E ainda, a composição química do tecido varia ao longo do ramo, sendo diferente de acordo com a porção do mesmo. As cultivares utilizadas, e principalmente na cultura do mirtilheiro, apresentam comportamento distinto entre ambas. Trevisan et al. (2008) em experimento conduzido com estacas herbáceas de diferentes cultivares de mirtilheiro em substrato composto por areia+terra, encontraram respostas diversas quanto à sobrevivência das mesmas. Observaram valores aproximados de 30 % de estacas mortas, nas cultivares Bluebelle e Woodard, e de até 90 % em Clímax. A sobrevivência das estacas é dependente também das condições de umidade presente no local de condução do experimento. A presença de folhas nas microestacas, apesar de contribuírem para o enraizamento, também atuam no processo transpiratório, onde, quando em excesso, podem levar as estacas à morte. No entanto, condições de alta umidade dificultam as trocas gasosas, facilita o desenvolvimento de doenças, impede o enraizamento e provoca a morte dos tecidos (XAVIER et al, 2009).

Tabela 15. Médias de porcentagem de formação de calo (Calo) e estacas sobreviventes (Sobr); número de folhas (Nf) e de brotações (Nb) em microestacas apicais e medianas de mirtilheiro 'Clímax'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Tipo	Calo %	Sobr %	Nf -	Nb -
Apicais	4,16 b*	44,4 b	3,5 b	0,7 b
Medianas	20,14 a	72,2 a	4,2 a	1,2 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Segundo Gautheret (1966) a formação de calos em tecidos jovens, local de alto grau de diferenciação de tecidos, está estreitamente relacionada à presença de substâncias reguladoras do crescimento. A utilização de AIB, neste experimento, pode ter interferido na formação de calo, pois segundo Devlin (1975), além de as auxinas promoverem a indução e a alongação de raízes e brotos e a retenção de folhas, também estimulam o calejamento em estacas, pois levam há um estímulo na atividade cambial. A ocorrência da calogênese não é interessante, pois muitas vezes os calos não se diferenciam em raízes (ONO et al., 1992) uma vez que são processos fisiológicos independentes.

Em microestacas apicais e medianas o número de raízes foi maior quando utilizado Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada, embora este substrato não difira do uso de Húmus Fértil[®], em microestacas apicais e Vermicomposto Bovino, em microestacas medianas (Tabela 16). Fischer et al. (2008) obtiveram um número de raízes igual a 14 em estacas semilenhosas de mirtilheiro 'Delite' quando tratadas com 2000 mg.L⁻¹ de AIB com o uso de areia grossa, enquanto que a cultivar 'Bluebelle' apresentou apenas 0,2 raízes por estaca. Zietemann e Roberto (2007) observaram que o substrato composto por solo + areia + matéria orgânica foi superior ao Plantmax[®] quanto ao número de raízes quando utilizaram estacas herbáceas de goiabeira 'Paluma' e 'Século XXI' imersas em 1500 mg.L⁻¹ de AIB. Segundo os autores, a combinação dos diferentes materiais proporciona equilíbrio entre as propriedades químicas, físicas e biológicas do substrato.

Tabela 16 - Número médio de raízes em microestacas medianas e apicais de mirtilheiro 'Climax' com o uso de diferentes substratos. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Substrato	Tipo de Microestaca	
	Apical	Mediana
Plantmax [®] + casca de arroz carbonizada	4,95 Aa*	4,81 Aa
Húmus Fértil [®]	3,75 Aab	1,62 Bb
Vermicomposto Bovino	1,75 Ab	3,31 Aab

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

O substrato Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada apresentou melhores resultados que os demais substratos quanto à porcentagem de enraizamento (68,7

%) e microestacas sobreviventes (84,4 %); comprimento médio de raízes (3,8 cm), raiz com maior comprimento (5,9 cm); número de folhas (6,6) e brotações (1,4) (Tabela 17 e Figura 7).

Tabela 17. Médias de porcentagem de enraizamento (Enr) e estacas sobreviventes (Sobr); número (Nr) e comprimento de raízes (Cr), tamanho da maior raiz (Mr); número de folhas (Nf) e de brotações (Nb) em microestacas de mirtilheiro 'Climax' com o uso de diferentes substratos. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2008.

Subst.	Enr %	Sobr %	Cr cm	Mr cm	Nf -	Nb -
A	68,75 a*	84,4 a	3,8 a	5,9 a	6,6 a	1,4 a
B	16,67 b	46,8 b	0,7 b	0,9 b	2,7 b	0,7 b
C	13,54 b	43,7 b	0,9 b	1,3 b	2,6 b	0,7 b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Subst = Substrato; A = Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada (1:1); B = Húmus Fértil[®]; C = Vermicomposto Bovino.

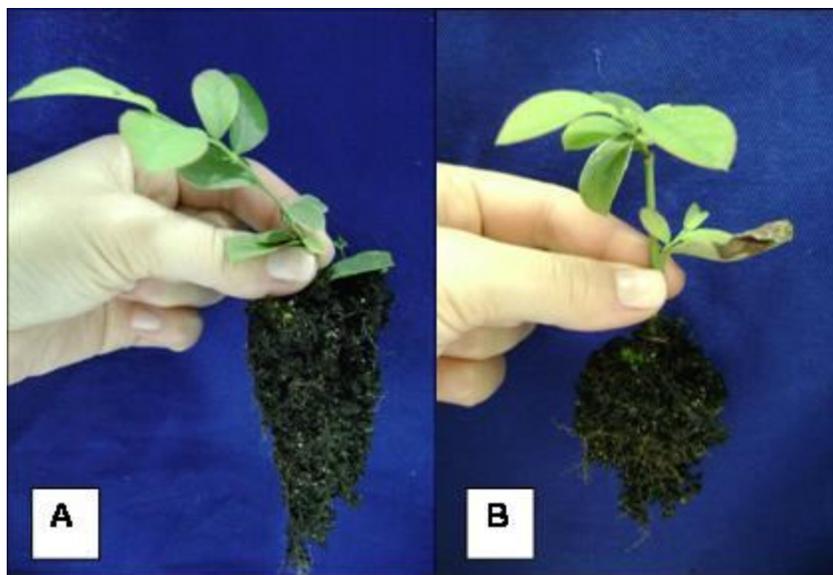


Figura 7. Ilustração de microestacas mediana (A) e apical (B) de mirtilheiro 'Climax' em substrato Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2008.

O número maior de folhas presentes no substrato Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada pode ter contribuído para o enraizamento das estacas, pois

segundo Xavier et al. (2009) estas são sítios produtores de carboidratos e hormônios e tem a função de estimular o enraizamento. Além disso, a época do ano (verão) pode ter contribuído no maior enraizamento das estacas, pois segundo Válio (1986) em plantas perenes de clima temperado os níveis de auxinas endógenas variam com as estações do ano, sendo as concentrações na primavera e verão superiores às encontradas no outono e inverno.

Em avaliação realizada por Hoffmann et al. (1995), com propagação vegetativa do mirtilheiro, verificou-se que o substrato afeta o enraizamento de estacas. Areia+composto e areia isoladamente promoveram maior enraizamento, e a areia isoladamente apresentou maior crescimento das raízes adventícias. Melhores resultados no enraizamento foram obtidos com a cultivar Powderblue (54%), quando comparado com a cultivar Climax (1,3%). É possível observar que, na cultura do mirtilheiro, os resultados obtidos quanto ao enraizamento de estacas ou com o uso de substratos diferentes, está estreitamente relacionado com a cultivar testada (HOFFMANN et al., 1995; SCHUCH et al., 2007; FISCHER et al., 2008). Schuch et al. (2007) verificaram ser importante a escolha do substrato para a sobrevivência de microestacas de mirtilheiro 'Climax' pois, 69,8% das microestacas sobreviveram quando utilizado substrato Plantmax[®] em comparação a 56,8% de microestacas sobreviventes quando utilizado areia.

Os bons resultados obtidos com o substrato Plantamax[®] e casca de arroz carbonizada (Figura 8) ressaltam a qualidade dos mesmos, possivelmente pelas suas características intrínsecas, pois, segundo Hoffmann et al. (2001), o Plantamax[®] apresenta uniformidade de composição química e física, diferentemente do que pode ocorrer com o solo e distintos materiais orgânicos, os quais podem variar muito em suas características. No entanto, para Neto et al. (1999), o substrato comercial Plantmax[®] possui boas características físicas, mas necessita da complementação de nutrientes por meio da aplicação de solução nutritiva para se obter mudas de melhor qualidade. Já a casca de arroz carbonizada apresenta como características a baixa densidade, baixa salinidade, elevada porosidade, destacando-se pelo elevado espaço de aeração, baixa retenção de água, manutenção da estrutura no decorrer do cultivo e pH próximo da neutralidade (FERMINO e BELLÉ, 2000; KÄMPF, 2005), no entanto, esta última característica é ruim para o cultivo do mirtilheiro, pois este se adapta melhor a pH do solo ácido. Na região de Pelotas, a casca de arroz

carbonizada é um material facilmente disponível, haja vista a grande produção orizícola e seu custo relativamente baixo. Há, no entanto, a necessidade de que este material seja carbonizado, para posteriormente ser utilizado. É importante citar que, além do benefício como componente de um substrato, está-se dando um destino final adequado a esta matéria-prima, grandemente produzida na região, através de um uso ecologicamente correto.



Figura 8. Ilustração de microestacas medianas (1) e apicais (2) de mirtilheiro 'Climax' em substrato Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada (A), Húmus Fértil[®] (B) e Vermicomposto Bovino (C). UFPEL/FAEM, Pelotas, 2008.

Compostos orgânicos têm sido muito utilizados, principalmente na horticultura. São fontes de nutriente, apresentam boa retenção de umidade e baixo custo, entretanto, exigem desinfestação, pois podem ser fonte de inóculo (HOFFMANN et al, 2005). Neste trabalho, o uso de substrato comercial Húmus Fértil[®] (composto à base de húmus de minhoca, estrume de rês e ovelha) e o vermicomposto bovino apresentaram resultados inferiores ao uso do Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada (1:1). Aqueles apresentaram alta retenção de umidade, são ao mesmo tempo materiais densos e com pouco espaço de aeração (KÄMPF, 2005), o que se acredita, tenham sido fatores responsáveis pelo baixo percentual de

enraizamento das microestacas. O vermicomposto é um material que pode ser produzido a custos baixos e é uma prática agrícola sustentável. Uma alternativa para o uso destes materiais orgânicos seria a mistura com outros materiais, a fim de proporcionar um substrato com maior capacidade de drenagem, como a casca de arroz, por exemplo.

6.4 CONCLUSÕES

Concluiu-se que, nestas condições experimentais, microestacas medianas proporcionam melhores resultados para o enraizamento de mirtilheiro 'Climax'.

A combinação de Plantmax[®] + casca de arroz carbonizada mostrou ser o melhor substrato para enraizamento de microestacas de mirtilheiro cultivar 'Climax', comparativamente aos demais substratos utilizados neste trabalho.

7. CAPITULO IV

CRESCIMENTO DE MINIESTACAS DE MIRTILEIRO COM O USO DE DIFERENTES FITORREGULADORES

7.1 INTRODUÇÃO

A técnica da miniestaquia compreende a formação de novas plantas obtidas através de plantas matrizes propagadas via estaquia convencional. Apresentam tamanho entre 3 e 5 cm e tem em média 1 a 3 pares de folhas (XAVIER e WENDLING, 1998).

A miniestaquia se apresenta como técnica promissora na produção de mudas clonais e tem sido utilizada com êxito principalmente no enraizamento de espécies florestais (WENDLING et al., 2000; XAVIER et al., 2003), em espécies frutíferas (RITZINGER e GRAZZIOTTI, 2005; TONIETTO, et al., 2001) e, dentre elas, mais recentemente trabalhos envolveram a cultura do mirtilheiro (FISCHER, 2006; TREVISAN et al., 2008; RISTOW, 2009).

A propagação vegetativa através da miniestaquia, onde são utilizados materiais rejuvenescidos, possibilita a obtenção de plantas de melhor qualidade, com maior percentual, maior velocidade e qualidade de enraizamento, aliado à redução no tempo de formação da planta (WENDLING e XAVIER, 2001; TITON et al., 2002).

Os fitohormônios, compostos orgânicos que em pequenas quantidades promovem, inibem ou modificam, qualitativamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas (RODRIGUES e LEITE, 2004), tem sido intensamente utilizados na fruticultura, com interesses diversos. As citocininas fazem parte do

grupo de fitorreguladores responsáveis por induzir a divisão e o alongamento celular (METIVIER, 1979), sendo indispensáveis para promover a quebra de dominância apical e a indução da proliferação de gemas axilares. As giberelinas atuam no crescimento, promovem aumento no tamanho e no número de células, estimulando o alongamento e a divisão celular (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Entretanto, necessita-se de pesquisas mais aprofundadas quanto ao uso da miniestaquia aliado ao emprego de fitorreguladores, em especial para espécies destinadas à produção comercial de plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' com o uso de diferentes concentrações de benzilaminopurina e giberelina.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido em telado e em miniestufa plástica na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL/FAEM), durante os meses de julho a novembro de 2008. Foram utilizadas miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' com aproximadamente 3 cm de altura. Sobre elas foram pulverizadas diferentes concentrações de citocinina e giberelina.

As miniestacas, já enraizadas, foram acondicionadas em sacos de polietileno preto com as dimensões de 20 x 30 cm com substrato composto por Plantmax[®] + serragem jovem (1:1 – v/v) até a metade do volume, onde o seu valor de pH foi de 5,4. A irrigação foi feita manualmente, de acordo com a necessidade, com pH da água reduzido para 5,0, através da adição de SOLP₃₀. Quinzenalmente foi aplicado às miniestacas solução nutritiva à base de sulfato de amônio (12 %), potássio (10 %) e magnésio (10 %); uréia (35 %) e ácido fosfórico (10%).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com fatorial 3 x 5, onde foram utilizadas 3 concentrações de reguladores (testemunha – sem regulador, 250 mg/L de BAP, 250 mg/L de BAP + 250 mg/L de GA₃) e 5 avaliações (0, 30, 60, 90 e 120 dias). Utilizou-se 3 repetições de 10 plantas cada. A parte aérea das miniestacas foi pulverizada quinzenalmente, com os reguladores, durante os 120 dias de execução do experimento. Este foi conduzido inicialmente em telado, com 30% de sombreamento, e aos 60 dias as miniestacas foram

transferidas para uma miniestufa, a fim de receberem maior luminosidade. Aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias após a instalação do experimento foram avaliados: altura das miniestacas, número e comprimento das brotações laterais e número de folhas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) através do programa estatístico Winstat 2.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003) e quando necessário efetuou-se transformação dos dados através de arcoseno de $x/100^{1/2}$.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre fitorregulador e tempo para a variável número médio de folhas, enquanto que para as variáveis altura média das miniestacas, número e comprimento médio de brotações laterais os fatores tiveram efeito separadamente (Tabela 18).

Tabela 18. Análise de variância para as variáveis altura, número e comprimento de brotações e número de folhas em miniestacas de mirtilheiro 'O'neal'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio			
		Altura (cm)	Número de brotações ¹	Comprimento de brotações (cm)	Número de folhas ¹
Regulador (R)	2	0,86 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,07**	0,24 ^{ns}
Tempo (T)	4	45,17**	1,45**	2,75**	9,55**
R x T	8	0,52 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,79*
Resíduo	30	0,62	0,03	0,18	0,40
Média geral		4,43	1,31	1,85	3,9
CV (%)		17	13	23	16

ns = não significativo pelo teste de F a 1 % de probabilidade de erro;

** significativo a 1 % de probabilidade de erro.

¹ Variável transformada através da expressão $x+0,5^{1/2}$

Para a variável altura média das miniestacas houve efeito apenas do tempo de avaliação. A altura das miniestacas foi maior aos 120 dias (Figura 9), independentemente do uso do fitorregulador (Figura 10). Até os 60 dias não houve alteração quanto ao crescimento das miniestacas. Aos 90 dias, quando as

miniéstacas já estavam em miniestufa há um mês, foi possível verificar o aumento na altura das mesmas. O início do mês de outubro (90 dias) é caracterizado, na região sul do Brasil, pelo aumento das temperaturas e do fotoperíodo, fatores estes que devem ter influenciado positivamente no crescimento das miniéstacas de mirtilheiro. A radiação solar atua diretamente sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas e é uma das responsáveis pela realização da fotossíntese. A radiação solar global observada para a região de Pelotas compreendida no período de julho a novembro é de 153,5; 221,5; 262,0; 334,2; 468,1 $\text{cal.cm}^{-2}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente (ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS, 2009). Como é possível verificar, a radiação solar global eleva-se durante esse período, fator esse que possivelmente tenha afetado os resultados observados nesse trabalho. De acordo com Pereira et al. (2002), a duração máxima da insolação (fotoperíodo) em horas, no 15º dia de cada mês, em latitude de 30º (o local de instalação deste experimento localiza-se em latitude de 31º 52'00''S) diminui a partir do mês de janeiro onde inicia com 13,7 horas, em julho atinge 10,2 horas e a partir de então começa a se elevar para 10,9; 11,8; 12,7; 13,5 horas nos meses seguintes.

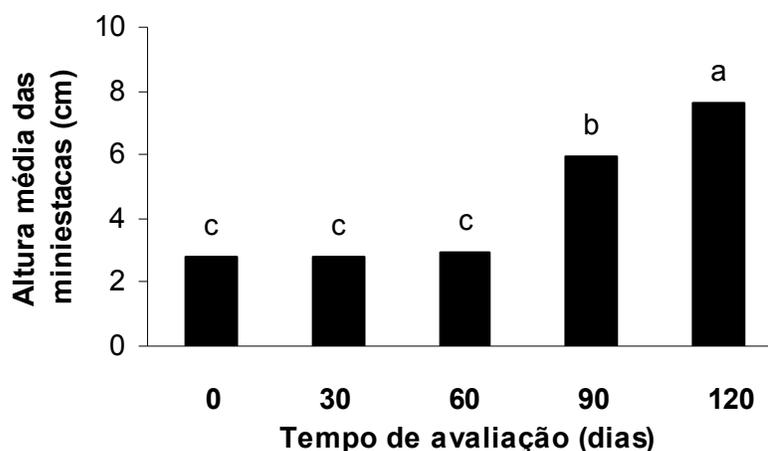


Figura 9. Altura média das miniéstacas de mirtilheiro 'O'neal' aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias. UFPEL/Pelotas, Brasil, 2009.



Figura 10 – Ilustração de miniestacas de mirtilheiro ‘O’neal’ aos 0 dias – 1 = testemunha; 2 = 250 mg/L de BAP e 3 = 250 mg/L de BAP + 250 mg/L de GA₃ e aos 120 dias (4 = testemunha; 5 = 250 mg/L de BAP e 6 = 250 mg/L de BAP + 250 mg/L de GA₃). UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Quanto ao número médio de brotações laterais das miniestacas, o comportamento foi semelhante ao ocorrido com a altura das mesmas, sendo apenas o tempo de avaliação responsável pelo efeito no crescimento das brotações laterais. O maior número de brotações laterais das miniestacas ocorreu aos 120 dias (Figura 11) e, a partir do aumento das temperaturas e do fotoperíodo também ocorreu resposta das miniestacas quanto ao aumento no número de brotações laterais. Possivelmente, durante o período de 60 dias, as miniestacas tenham passado por situação de estresse. A coordenação da resposta de estresse no corpo da planta é realizada pelos hormônios vegetais, o que resulta, nestes, mudanças a curto ou em longo prazo. Nesse período, compreendido por meses de baixas temperaturas, as mesmas tornam as biomembranas mais rígidas e aumentam a energia de ativação necessária para realizar os processos bioquímicos. Dependendo da intensidade e da duração as baixas temperaturas interferem nas atividades

metabólicas, no crescimento e na viabilidade da planta (LARCHER, 2006). O uso de miniestufa, a partir dos 60 dias, pode ter contribuído nos resultados observados neste trabalho, pois o plástico absorve e reflete parte da radiação solar incidente e o restante é transmitido para dentro do próprio ambiente. Embora o uso do plástico (miniestufas) atenuem em 20% a radiação global e em 13% a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) (PEREIRA et al., 2002), o efeito difusor das coberturas plásticas compensa em parte a atenuação imposta pelo plástico (FARIAS et al., 1993).

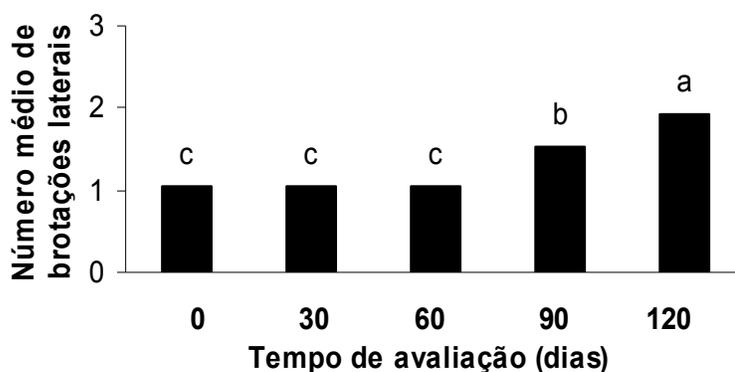


Figura 11. Número médio de brotações laterais de miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias. UFPEL/Pelotas, Brasil, 2009.

Para a variável comprimento médio de brotações laterais das miniestacas houve efeito dos tratamentos e do tempo de avaliação independentemente. Quanto ao tempo de avaliação, assim como ocorreu para as variáveis altura média das miniestacas e número médio de brotações laterais, observou-se aumento no comprimento com o passar do tempo (Figura 12). Houve uma resposta potencializada quando do emprego da combinação de BAP e GA₃ no que diz respeito ao comprimento médio das brotações, porém esta resposta foi estatisticamente semelhante ao controle. O emprego do BAP isolado causou efeito menos pronunciado sobre o crescimento das brotações, mesmo quando comparado ao controle (Figura 13). Giampan et al. (2005) observaram que aplicações isoladas de pasta de lanolina e pulverizações com BAP 500 mg L⁻¹ + GA mg L⁻¹ (Pro-Gibb®) em mamoeiro da cultivar 'Sunrise Solo', proporcionam melhores resultados quanto

ao comprimento de brotações laterais quando comparado ao controle e ao tratamento completo (pulverizações + aplicação de pasta de lanolina + injeção no tronco com BAP (500 mg L^{-1}) e GA(500 mg L^{-1}). Segundo Ono et al. (2004), o uso de GA₃ 250 mg L^{-1} + BA 250 mg L^{-1} em mamão *papaya*, proporcionou resultados satisfatórios quanto ao desenvolvimento das brotações laterais e o posterior crescimento destas. Segundo estes autores, a giberelina parece ser indispensável para promover o crescimento em comprimento das brotações, através da sua atividade sobre o alongamento celular, enquanto que a citocinina tem importância sobre o crescimento em diâmetro, pela sua atividade na promoção da divisão celular.

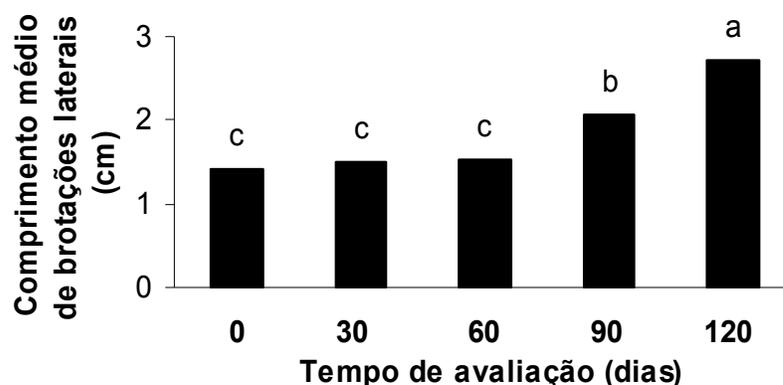


Figura 12. Comprimento médio de brotações laterais de miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' aos 0, 30, 60, 90 e 120 dias. UFPEL/Pelotas, Brasil, 2009.

Houve interação entre fitoregulador e tempo para a variável número médio de folhas das miniestacas de mirtilheiro 'O'neal'. Esta variável pode ser representada por curvas de segundo grau relacionando-se o tempo de avaliação com as concentrações de fitoreguladores (Figura 16). Observam-se curvas de regressão linear nos tratamentos testemunha e BAP 250 mg/L + GA₃ 250 mg/L , enquanto que BAP 250 mg/L apresentou curva de regressão quadrática. Assim, neste tratamento o número de folhas caiu no período de 0 até os 60 dias, quando a partir de então, aumentou até os 120 dias. O ponto de mínima, para este tratamento, é atingido aos 73 dias. Estímulos ambientais como o fotoperíodo e a temperatura afetam as

giberelinas. Em geral, em dias longos ocorre maior produção de giberelinas nas plantas do que em dias curtos (RODRIGUES e LEITE, 2004) o que pode justificar a elevação no número de folhas das miniestacas, principalmente a partir dos 60 dias, sendo ainda potencializado pelas aplicações exógenas da giberelina.

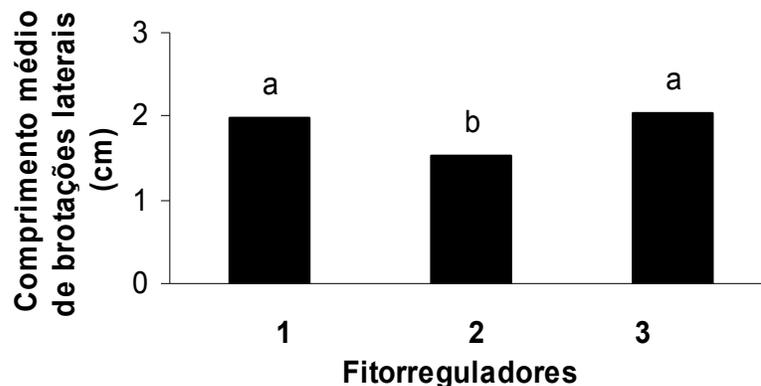


Figura 13. Comprimento médio de brotações laterais de miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' com o uso de reguladores de crescimento. Fitorreguladores: 1: Testemunha; 2: 250 mg/L de BAP; 3: 250 mg/L de BAP + 250 mg/L de GA₃. UFPEL/Pelotas, Brasil, 2009.

Segundo Castro et al. (1991), os reguladores vegetais geralmente atuam sobre as plantas perenes após períodos mais longos de tempo, acima de 30 dias, conforme observaram em trabalho conduzido com noqueira macadâmia. O tempo foi um fator importante que influenciou na resposta aos atributos avaliados, porém acredita-se que outros fatores tenham exercido ação sobre as miniestacas de mirtilheiro 'O'neal', como a qualidade das raízes das mesmas, o substrato utilizado, etc. Segundo Marenco e Lopes (2009), as plantas têm crescimento retardado quando cultivadas em materiais pouco arejados ou saturados de água, o que se acredita tenha ocorrido neste trabalho. Nestas condições as plantas reduzem o crescimento das raízes e a absorção de nutrientes minerais, pois reduzem a produção de energia (ATP).

De modo geral, plantas oriundas da técnica da miniestaquia apresentam um desempenho inferior quanto ao enraizamento (comprimento, número de raízes,

tamanho da maior raiz) do que em materiais oriundos da microestaquia (TITON et al, 2002), o que permite inferir que a qualidade radicial do material utilizado neste experimento possa ter sido um limitante para uma resposta positiva do uso dos fitorreguladores.

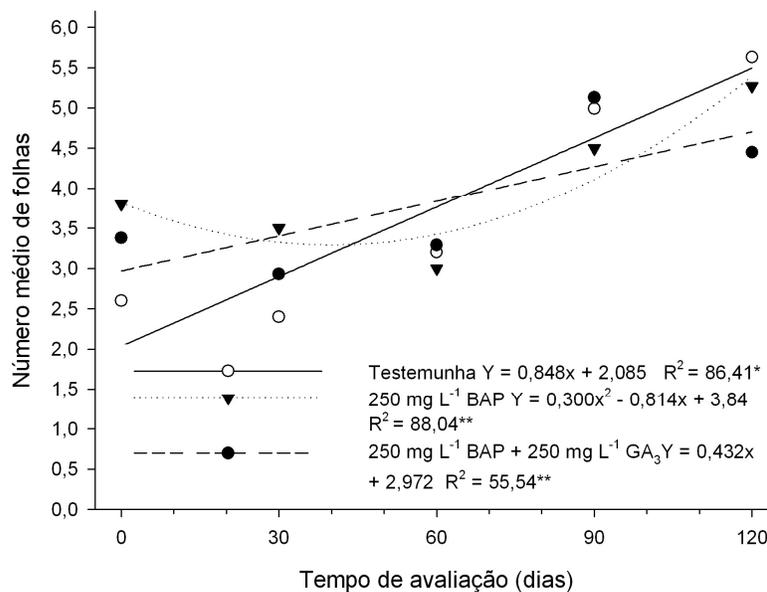


Figura 14. Número médio de folhas de miniestacas de mirtilheiro 'O'neal' com o uso de reguladores de crescimento. UFPEL/Pelotas, Brasil, 2009.

7.4 CONCLUSÕES

A associação de BAP + GA₃ promove maior crescimento das brotações laterais de miniestacas de mirtilheiro quando comparada à aplicação isolada de BAP.

O crescimento em altura e o número de brotações das miniestacas de 'O'neal aumentaram com o decorrer do tempo, independentemente do tratamento utilizado.

O número de folhas aumentou linearmente na testemunha e quando utilizado BAP + GA₃.

8. CAPITULO V

CRESCIMENTO DE MIRTILEIRO MICROPROPAGADO COM O USO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GA₃

8.1 INTRODUÇÃO

O mirtilheiro (*Vaccinium* sp.) é uma espécie frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte, locais onde este fruto tem grande importância econômica (WESTWOOD, 1982), e que tem despertado o interesse de produtores brasileiros. Hoje, o cultivo do mirtilheiro está difundido nas mais diversas regiões do Brasil, estendendo-se desde o Estado do Rio Grande do Sul até Minas Gerais e São Paulo (PAGOT, 2006).

Uma das dificuldades apresentadas pelas plantas de mirtilheiro é o seu lento crescimento, o que faz com que se busque alternativas eficientes para obter uma planta bem desenvolvida em um curto período de tempo. O uso de fitohormônios é uma possibilidade. Segundo Taiz e Zeiger (2004), as giberelinas estimulam o alongamento e a divisão celular, promovendo o crescimento tanto pelo aumento do tamanho das células como pelo número de células.

Trabalhos têm sido conduzidos com o uso de reguladores vegetais em aspectos relacionados à germinação de sementes (PICOLOTTO et al, 2007), ao crescimento e desenvolvimento de plantas (FERREIRA et al, 2002), à floração (SANCHES et al, 2001), ao retardamento da queda (Almeida et al, 2002) e à

produção de frutos (BOTELHO et al, 2004), dentre outros. Segundo WEAVER (1972) os órgãos vegetais de uma planta são alterados morfológicamente pela aplicação de fitorreguladores, de modo que o crescimento e o desenvolvimento das plantas são promovidos, inibidos, influenciando ou modificando os processos fisiológicos de modo a controlar a atividade meristemática.

Assim, conduziu-se este trabalho com o objetivo de verificar o efeito do regulador vegetal (giberelina) em função do tempo, com o uso de diferentes concentrações, sobre o crescimento de plantas micropropagadas de mirtilheiro.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido em casa de vegetação de vidro na Universidade Federal de Pelotas - RS (UFPEL/FAEM), durante os meses de novembro de 2008 a janeiro de 2009. Foram utilizadas plantas de mirtilheiro micropropagado 'Georgiagem', com 8 meses de idade onde foram testadas diferentes concentrações de GA₃.

As plantas foram acondicionadas em sacos de polietileno preto com as dimensões de 20 x 30 cm. Utilizou-se como substrato plantmax[®] + vermiculita (1:1 – v/v). As plantas tiveram seus ápices caulinares podados logo abaixo da primeira folha, no sentido ápice-base, antes do início do experimento. A irrigação foi feita manualmente, de acordo com a necessidade, com pH da água reduzido para 5,0, com a adição de produto comercial SOLP₃₀.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com fatorial 4 x 3, onde 4 foram as concentrações de giberelina e 3 tempos de avaliação, com 4 repetições de 5 plantas cada. Foram estabelecidos os seguintes tratamentos: T1: 0 mg L⁻¹ de GA₃, T2: 50 mg L⁻¹ de GA₃, T3: 100 mg L⁻¹ de GA₃ e T4: 150 mg L⁻¹ de GA₃. Foram realizadas aplicações quinzenais de GA₃, pulverizando-se a parte aérea da planta com pulverizador manual, durante um período de 60 dias, sempre no período da manhã. Aos 0, 30 e 60 dias após a instalação do experimento foram avaliados: altura de planta, número e comprimento de brotações e, no final da condução do experimento, aos 60 dias, avaliou-se a biomassa verde e seca da parte aérea e da raiz.

As medidas de altura de planta e comprimento de brotações foram realizadas com o auxílio de régua graduada. A biomassa verde da parte aérea e do sistema radicular da planta foi obtida pesando-se em balança analítica e para a determinação da biomassa seca o material foi seco em estufa de circulação forçada a 60°C, até atingir peso constante, sendo posteriormente pesado em balança analítica.

A temperatura média, máxima e mínima do ar, e a umidade relativa do ar média, máxima e mínima, foram obtidas diariamente no interior da casa de vegetação através de termômetro bimetálico fixado em parede. As leituras estão disponibilizadas na Tabela 19.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) através do programa estatístico Winstat 2.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2003) e quando necessário efetuou-se transformação dos dados através de \arcseno de $x/100^{1/2}$.

Tabela 19. Temperatura média, máxima e mínima do ar e umidade relativa do ar média máxima e mínima durante a condução do experimento em casa de vegetação. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Período	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)		
	Média	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima
Nov/Dez	25,01	33,01	20,28	74,56	91,61	46,06
Dez/Jan	24,42	33,80	18,11	76,08	91,62	48,46

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação entre concentração de regulador e tempo de avaliação para as variáveis altura de planta e comprimento médio de brotações. O número de brotações teve efeito para o fator principal tempo de avaliação. Não houve efeito significativo para as variáveis matéria fresca e matéria seca da parte aérea da planta (Tabela 20).

Tabela 20. Análise de variância para as variáveis altura, número e comprimento de brotações de plantas de mirtilheiro 'Georgiagem'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	Quadrado médio			
	GL	Altura de planta (cm)	Número de brotações ¹	Comprimento de brotações
Regulador (R)	3	7,30**	0,31 ^{ns}	8,27**
Tempo (T)	2	373,98**	8,93**	123,70**
R x T	6	5,64**	0,13 ^{ns}	5,32**
Resíduo	36	1,15	0,11	1,33
Média geral		10,37	1,74	8,5
CV (%)		10	7	13

ns = não significativo pelo teste de F a 1 % de probabilidade de erro;

** significativo a 1 % de probabilidade de erro;

¹ variável transformada através da raiz quadrada de $x+0,5$

Aos 60 dias de avaliação, para a variável altura de planta, o uso de 150 mg L⁻¹ (17,7 cm), 100 mg L⁻¹ (15,4 cm) e 50 mg L⁻¹ de GA₃ (15,7 cm) foram superiores à testemunha (13,0 cm) (Tabela 21). Tal observação indica que a giberelina apresenta resultados positivos quando se deseja o crescimento da planta em altura. Para este atributo da planta doses elevadas tendem a responder positivamente, conforme observaram Modesto et al (1996), em trabalho realizado com Limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), onde realizaram aplicações de ácido giberélico a cada 25 dias, a partir de plantas com 70 a 210 dias e verificaram maior comprimento do caule quando utilizaram a concentração de 150 mg L⁻¹ de GA₃. Sidamed (1978) observou maior incremento em altura em seedlings de *Citrus aurantium*, com oito meses de idade, quando utilizou doses de 100 e 200 ppm de GA₃ quando comparado ao uso de doses menores como 25 ppm de GA₃ ou sem o seu uso. No entanto, dependendo da espécie testada, a concentração que proporciona melhor resposta também pode variar, conforme observaram Ferreira et al (2002) em pesquisa realizada com porta enxerto de *Anona squamosa* onde utilizaram concentrações de ácido giberélico de 25, 50 e 75 mg/L e testemunha e observaram que aos 148 dias após a semeadura a máxima eficiência técnica calculada para GA₃ foi de 65,37 mg L⁻¹. Outro fator relevante quanto à resposta das plantas ao crescimento em função do uso de fitohormônios é o número de aplicações destes, conforme verificaram Pereira et al (2001) em plantas de macieira

micropropagadas, onde estas atingiram maior tamanho quando receberam três aplicações, em concentrações superiores a 200 mg L⁻¹ de GA₃.

Tabela 21 – Altura de plantas de mirtilheiro ‘Georgiagem’ aos 0, 30 e 60 dias de avaliação em função do uso de diferentes concentrações de giberelina (GA₃). UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Tratamentos	Tempo (dias)		
	0	30	60
0 mg L ⁻¹ de GA ₃	6,05 Ac*	9,00 Ab	13,00 Ca
50 mg L ⁻¹ de GA ₃	5,89 Ac	9,88 Ab	15,78 Ba
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	6,42 Ac	9,29 Ab	15,42 Ba
150 mg L ⁻¹ de GA ₃	5,17 Ac	10,82 Ab	17,76 Aa

* Letras maiúsculas coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

No tempo de avaliação 0 não houve diferença entre as concentrações de fitorregulador quanto ao comprimento médio das brotações laterais. Aos 30 dias apenas o uso de 150 mg L⁻¹ de GA₃ diferiu-se da testemunha, enquanto que, aos 60 dias, a maior concentração de regulador (150 mg L⁻¹ de GA₃) proporcionou maior comprimento médio de brotações (13,9 cm), quando comparado às demais (Tabela 22). Com o transcorrer do tempo, de 0 para 60 dias, todas as plantas apresentaram crescimento das brotações, indiferentemente das concentrações de fitorregulador. Giampan et al. (2005) observaram que aplicações isoladas de pasta de lanolina e pulverizações com BAP 500 mg L⁻¹ + GA 500 mg L⁻¹ (Pro-Gibb[®]) proporcionam bons resultados quanto ao comprimento de brotações laterais em mamoeiro da cultivar Sunrise Solo com 12 meses de idade. Segundo Ono et al. (2004), na avaliação dos fitorreguladores citocinina e giberelina, com e sem a remoção de gemas apicais, sobre o desenvolvimento de gemas laterais de plantas de mamão *papaya*, verificaram a influência do GA₃ e da citocinina sintética (Benziladenina) no processo de desenvolvimento celular. O tratamento das plantas com GA₃ 125 mg L⁻¹ + BA 125 mg L⁻¹ e GA₃ 250 mg L⁻¹ + BA 250 mg L⁻¹ apresentaram os melhores resultados quanto ao desenvolvimento das brotações laterais e o posterior crescimento destas. Segundo estes autores, a giberelina parece ser indispensável para promover o crescimento em comprimento das brotações, através da sua atividade sobre o

alongamento celular, enquanto que a citocinina tem importância sobre o crescimento em diâmetro, pela sua atividade na promoção da divisão celular.

Tabela 22 – Comprimento de brotações de plantas de mirtilheiro ‘Georgiagem’ aos 0, 30 e 60 dias de avaliação em função do uso de diferentes concentrações de giberelina (GA₃). UFPEL/Pelotas, 2009.

Tratamentos	Tempo (dias)		
	0	30	60
0 mg L ⁻¹ de GA ₃	6,01 Ab*	6,94 Bb	9,42 Ba
50 mg L ⁻¹ de GA ₃	5,89 Ac	8,37 ABb	11,28 Ba
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	6,42 Ab	8,33 ABb	11,06 Ba
150 mg L ⁻¹ de GA ₃	5,17 Ac	9,37 Ab	13,92 Aa

* Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

A variável número médio de brotações apresentou efeito somente para tempo de avaliação (Figura 15), o que demonstra que para esta variável não houve efeito de nenhuma das doses de GA₃ utilizadas. O maior número médio de brotações foi observado aos 60 dias e foi igual a 2,5. Embora doses crescentes de GA₃ afetem positivamente a altura das plantas e o comprimento de suas brotações, parecem não responder da mesma forma quanto ao número destas. O número de brotações é um atributo importante que caracteriza o crescimento de uma planta, e no caso de plantas de mirtilheiro, quando o objetivo é a retirada de material vegetal para a propagação, quanto maior o número destes mais facilmente se terá material disponível para produzir novas plantas. Provavelmente o aumento no número de brotações aconteça em um intervalo de tempo maior sendo uma característica intrínseca da própria espécie utilizada.

É possível que a associação de fitohormônios, como o uso de giberelina e citocina, possa responder positivamente para esta variável, conforme observaram Ono et al (2004) quando utilizaram GA₃ e citocinina (BA) em concentrações de GA₃ a 125 mg L⁻¹ + BA a 125 mg L⁻¹ e GA₃ a 250 mg L⁻¹ + BA a 250 mg L⁻¹, tanto na presença quanto na ausência da gema apical de plantas de mamoeiro. Porém, fazendo-se o uso de GA₃ ou BA isoladamente, nas concentrações de 250 e 500 mg/L, maior número de brotações é obtido com a retirada do meristema apical. Giampan et al. (2005) observaram que a pulverização com BAP 500 mg L⁻¹ + GA

500 mg L⁻¹ (Pro-Gibb®) proporcionou a melhor produção de brotações laterais em mamoeiro Sunrise Solo, seguida da aplicação por meio de pasta de lanolina e de injeção no tronco da planta com o fitorregulador. Além do maior número de brotos, a pulverização com BAP 500 mg L⁻¹ + GA 500 mg L⁻¹ confere uma produção constante de brotações durante as coletas.

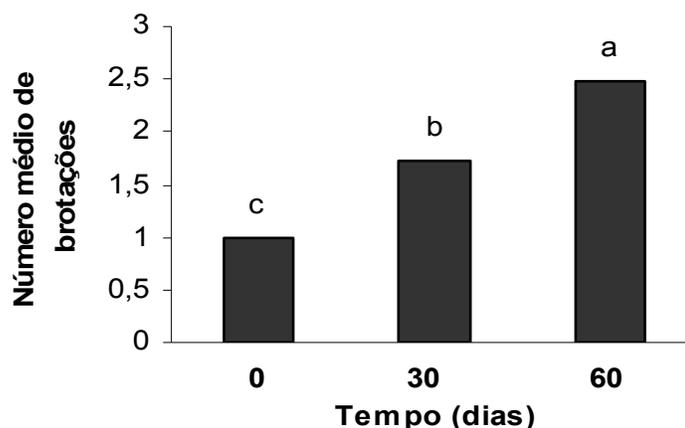


Figura 15. Número médio de brotações de plantas de mirtilheiro 'Georgiagem' aos 0, 30 e 60 dias. UFPEL/Pelotas, 2009.

Não houve efeito significativo para biomassa verde e seca da parte aérea das plantas de mirtilheiro (Tabela 23). Quanto à biomassa verde e seca de raiz a testemunha apresentou maior valor (0,57 g e 0,10 g, respectivamente) quando comparado aos demais tratamentos testados (Tabela 24 e Figura 16). Dessa forma, o uso de GA₃ parece afetar negativamente o desenvolvimento do sistema radicular das plantas de mirtilheiro. Este resultado confere com o observado por Wagner Júnior et al (2008) onde observaram que mudas de pessegueiro apresentam decréscimo na biomassa seca do sistema radicular com o aumento das concentrações de GA₃. No entanto, Ferreira et al (2002) em avaliação de porta enxerto de *Anona squamosa* onde utilizaram concentrações de 25, 50 e 75 mg L⁻¹ de GA₃ (com uso de produto comercial ProGibb), 25, 50 e 75 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + fenilmetil-aminopurina (com o uso de produto comercial Promalin) e testemunha, não verificaram diferenças para massa seca de raízes com o uso destes fitorreguladores e respectivas concentrações.

Tabela 23. Análise de variância para as variáveis biomassa verde e seca de parte aérea e de raiz de plantas de mirtilheiro 'Georgiagem'. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio ¹			
		Biomassa verde parte aérea	Biomassa seca de parte aérea	Biomassa verde de raiz	Biomassa seca de raiz
Regulador	3	0,08 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,07**	0,00**
Resíduo	12	0,04	0,00	0,01	0,00
Média geral		0,80	0,23	0,38	0,07
CV (%)		24	24	23	21

ns = não significativo pelo teste de F a 5 % de probabilidade de erro;

* significativo a 1 % de probabilidade de erro.

Tabela 24 – Biomassa verde de raízes (BVR) e biomassa seca de raízes (BSR) de plantas de mirtilheiro 'Georgiagem' aos 60 dias de avaliação em função do uso de diferentes concentrações de giberelina (GA₃). UFPEL/Pelotas, 2009.

Tratamentos	BVR (g)	BSR (g)
0 mg L ⁻¹ GA ₃	0,57 a*	0,10 a
50 mg L ⁻¹ GA ₃	0,37 b	0,07 b
100 mg L ⁻¹ GA ₃	0,35 b	0,07 b
150 mg L ⁻¹ GA ₃	0,25 b	0,05 b

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

A resposta dos fitorreguladores quanto ao crescimento das plantas provavelmente está relacionado a vários fatores. Além da concentração dos fitorreguladores utilizados outros fatores exercem ação sobre esta resposta, como descrito por Coelho et al (1983), como os fatores ambientais, o número de aplicações, a época de aplicação, o estágio de crescimento da planta e da natureza da espécie ou variedade testada.

De modo geral, a giberelina tem afetado o crescimento das plantas de mirtilheiro, mais especificamente, age sobre a altura da planta e o comprimento das brotações. No entanto, parece não agir da mesma forma quanto à emissão de novas brotações, bem como sobre a biomassa verde e seca da raiz e da parte aérea das plantas.



Figura 16 – Plantas de mirtilheiro ‘Georgiagem’ aos 60 dias de avaliação em função do uso de diferentes concentrações de giberelina (GA3). A = 0 mg/L; B: 50 mg/L; C: 100 mg/L; D: 150 mg/L. UFPEL/FAEM, Pelotas, 2009.

É importante ressaltar que aplicações em altas dosagens também acabam por afetar o desenvolvimento normal da planta. Foi possível observar visualmente, neste experimento, diferenças quanto ao aspecto morfológico das plantas, com redução no tamanho foliar e estiolamento do caule. O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, ramos ou partes desses em ausência de luz, o que causa o crescimento, geralmente alongado e com coloração amarela ou branca, em razão da ausência de clorofila (HARTMANN et al., 1997).

Em função dos resultados obtidos neste trabalho, onde o uso da concentração de giberelina de 150 mg L⁻¹ provocou grande estiolamento do caule das plantas e em razão das concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹ apresentarem resultados muito semelhantes, em função da economia de recursos, o uso de 50 mg L⁻¹ é indicado como o mais viável.

8.4 CONCLUSÕES

Plantas de mirtilheiro ‘Georgiagem’ respondem positivamente à ação da giberelina, sendo que está se dá principalmente sobre a parte aérea da planta.

A concentração de 50 mg L⁻¹ de GA₃ é suficiente para obter resposta das plantas de mirtilheiro quanto ao seu crescimento.

Considerações Finais

Por ser uma frutífera de clima temperado a cultura do mirtilheiro apresenta limitações quanto ao seu uso em testes de pesquisa científica principalmente devido a aspectos relacionados à adaptação climática. Esta cultura é relativamente recente no quadro nacional, no entanto, em termos gerais, já foi dado um ponto de partida para a realização de trabalhos com a cultura do mirtilheiro, como as atividades desenvolvidas no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas (UFPEL/FAEM).

Além de outros trabalhos já executados, com a condução desta tese foi possível ampliar os resultados obtidos relacionados à cultura do mirtilheiro. No entanto, outras lacunas ainda encontram-se abertas e pode-se dar continuidade às pesquisas com esta cultura.

A limitação inicial para a execução desta pesquisa foi a obtenção de material viável e em quantidade adequada para que os experimentos fossem conduzidos. Tal situação somente foi sanada após muito trabalho no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas (UFPEL/FAEM) e decorridos aproximadamente um ano e meio do curso de doutorado.

O uso de determinadas cultivares na condução dos trabalhos nem sempre foi uma escolha pelas melhores cultivares de mirtilheiro, mas esteve estreitamente relacionada com a quantidade de material disponível, o que impossibilitou que se fizesse um trabalho contínuo envolvendo uma mesma cultivar. Embora a maior parte das cultivares trabalhadas esteja sendo cultivadas à campo.

Em relação aos substratos, deve-se pesquisar mais profundamente uma composição adequada que inclua o uso de materiais sustentáveis, como vermicomposto e outros compostos orgânicos, além de buscar possível destino final à casca de arroz carbonizada, grandemente produzida na região. Considero importante buscar materiais de uso local e de baixo custo.

Quanto ao uso de fitorreguladores doses menores de BAP e GA₃ podem ser testadas para o crescimento de micro e miniestacas de mirtilheiro. No entanto, condições adequadas de infra-estrutura como casa de vegetação, controle de temperatura, radiação solar, cultivos preferencialmente no período de primavera/verão são importantes na maximização dos resultados para a cultura do mirtilheiro.

No entanto, com os trabalhos executados nesta tese já é possível obter mais rapidamente uma nova planta e dessa forma ter disponível maior quantidade de material (plantas matrizes) para a realização de novas pesquisas. Dessa forma, é possível dar continuidade a pesquisas mais avançadas. Em função da quantidade de novas plantas obtidas, trabalhos à campo já estão sendo conduzidos e novos resultados em breve estarão disponibilizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.; NOGUEIRA, P. Sustratos para el cultivo sin suelo y fertirrigación. In: CADAHÍA, C. (Coord.) **Fertirrigation: cultivos hortícolas y ornamentales**. Ediciones, 1998.

ABREU, M. F. de; ABREU, C. A. de; BATAGLIA, O. C. Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para produção de plantas**. Coord. Ângela Maria Cangiari Furlani, et al. Campinas; Instituto Agrônomo, 2002. 122 p. (Documentos IAC, 70). p. 17-28.

ALCÂNTARA, G. B. DE; RIBAS, L. L. F; HIGA, A. R.; RIBAS, K. C. Z.; HOEHLER, H. S. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.

ALCÂNTARA, G. B. DE; RIBAS, L. L. F; HIGA, A. R.; RIBAS, K. C. Z. Efeitos do ácido indolilbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes estações do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.

ALI, N.; WESTWOOD, M.N. Nucliec acids as related to juvenility in several *Pyrus* species. **Proceeding of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 89, p. 123-131, 1966.

ALMEIDA, I. M. L. DE; RODRIGUES, J. D. e ONO, E. O. Aplicação de reguladores vegetais no retardamento da abscisão de frutos de laranjeira-'Hamlin'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 306-311, 2002.

ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; FRÁGUAS, J.C.; ANDRADE, J. C. de; PEREIRA, L. V. Mercado de frutas em Lavras. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 18, Florianópolis, SC, 2004. **Anais...** Florianópolis, SC: SBF, 2004. CD Room.

ANDRIOLO, J. L. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 1999.

ANTUNES, L. E. C. Potencial de produção de pequenas frutas em diferentes regiões do sul do Brasil. In: Encontro Nacional de Fruticultura de Clima Temperado, 8., 2005, Fraiburgo. **Anais...** Caçador: Epagri, 2005.360 p. p.61-62.

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

ANTUNES, L. E. C.; MADAIL, J. C. M. **Mirtilo: uma oportunidade de negócio.** 2007. Disponível em: <
http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=15206 >.
 Acesso em: 10 jul. 2007.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2007. **Panorama.** Disponível em: <
<http://www.anuarios.com.br> > Acesso em: 17 set. 2007.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2008. **Cenário.** <
<http://www.anuarios.com.br> > Acesso em: 18 set. 2007.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2009. **Cenário.** <
<http://www.anuarios.com.br> > Acesso em: 19 set. 2007.

ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 1, p. 300-304.

AZEVEDO, E. B. de. ; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; MARINHO, C. S. Propagação do araçazeiro por miniestaquia. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, XX, Vitória, ES, 2008. **Anais...** Vitória - ES: SBF, 2008. DVD.

BACKES, M. A.; KÄMPF, A. N. Substratos à base de composto de lixo urbano para a produção de plantas ornamentais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4/5 p. 753-758, 1991.

BATAGLIA, O.C.; ABREU, C.A. **Análise química de substratos para crescimento de plantas: um novo desafio para cientistas de solo.** Viçosa: SBCS, 2001. v. 26, p. 8-9 (Boletim informativo).

BOTELHO, R. V.; PIRES, E. J. P. e TERRA, M. M. Efeitos de reguladores vegetais na qualidade de uvas 'niagara rosada' na região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 74-77, 2004.

BRAZELTON, D.; STRIK, B. Perspective on the U.S. and global blueberry industry. **Journal of the American Pomological Society**, Pennsylvania, v. 61, n. 3, p. 144-147, 2007.

BROOKS, R. M; OLMO, H. P. **Register of fruit and nut varieties.** 3 ed. Alexandria: ASHS, 1997. 743 p.

BUBAN, T. Flower bud induction in apple trees: internal control and differentiation. **Horticultural Reviews**, New York, v. 4, p. 174-203, 1982.

CASTILLO, A.; CARRAU, J.S.F.; LEONI, C. et al. Investigación en arandanos en Uruguay: propagación *in vitro* y evaluación de variedades por INIA. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., Pelotas, RS, 2004. **Palestras e Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. (Embrapa Clima Temperado. Documentos 124). p. 225-228.

CASTRO, P.R.C.; PENTEADO, S.R.; TERAMOTO, E.R.; DEMÉTRIO, C. G. B.; ANZAI, N. H. **Promoção do desenvolvimento de nogueira macadâmia com reguladores vegetais visando enxertia precoce.** Anais Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba, v. 48, p. 155-166, 1991.

CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W. C. Aclimatização de plantas: Abordagens recentes. **ABCTP Notícias**, Brasília, v.25, p.1-5, 1996.

CARVALHO, G. L.; PELIZZA, T. R.; SOUZA, A. L. K. de; SCHUCH, M. W. Enraizamento *ex vitro* de cultivares de mirtilheiro em diferentes substratos. In: Congresso de Iniciação Científica, XVIII, Encontro de Pós-graduação, XI, Pelotas, RS, 2008. **Resumos...** Pelotas, RS: UFPEL/FAEM, 2008. CD-room.

CHAVES, A. DA C.; ERIG, A. C.; SILVA, L. C. DA; SCHUCH, M. W. **Aclimação de plântulas de *Physalis peruviana* L.** Toda Fruta, jun. 2006. Disponível na internet: http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=12591 >. Acesso em: 24 ago. 2008.

COELHO, Y. S.; OLIVEIRA, A. A. R.; CALDAS, R. C. Efeitos do ácido giberélico (GA3) no crescimento de porta-enxertos para citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 11, p. 1229-1232, 1983.

COUVILLON, G. A. Rooting responses to different treatments. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 227, p. 187-196, 1998.

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

DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Diferentes substratos e ambientes no enraizamento *in vitro* de mirtilo. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 563-566, 2009b.

DAVIES, P. J. **Plant hormones and their role in plant growth and development.** Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1990. 681 p.

DEVLIN, R. M. **Fisiologia vegetal.** 2 ed. Barcelona: Omega, 1975. 468 p.

DUTRA, L. F.; KERSTEN, E. Efeito do substrato e da época de coleta dos ramos no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 361-366, 1996.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I; BRONDANI, G. E. Micropropagação do eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p.49-59, 2009.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W.; CHAVES, a. da C. Enraizamento in vitro e aclimatização de mudas de marmeleiro cvs. Mc e Adams, utilizadas como porta-enxerto para a pereira. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 5, n. 1-2, p. 61-68, 2004.

ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS – CAPÃO DO LEÃO. Boletim Agroclimatológico. < <http://www.cpact.embrapa.br/agromet/estacao/boletim.html> > Acesso em 22 out. 2009.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; ELIO KERSTEN. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 69-109.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. de. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 1995. 178 p.

FARIAS, J. R. B.; BERGAMASCHI, H.; MARTINS, S. R.; BERLATO, M.A. Efeito da cobertura plástica de estufa sobre a radiação solar. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 1, n. 1, p. 31-32, 1993.

FERNANDES, M. S. Perspectivas de mercado da fruta brasileira. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, Cabo Frio, RJ, 2006. **Frutas do Brasil; Saúde para o Mundo. Palestras e Resumos**. Ed. Carvalho, A. J. C.; Vasconcellos, M. A. da S.; Marinho, C. S.; Campostrini, E. Cabo Frio, RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006. 598 p.

FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; SILVA, D.J.H.; BARBOSA, J. G. Produção de mudas de tomateiro por meio de estacas enraizadas em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 4, p. 343-348, 2004.

FERMINO, M. H. O uso da análise física na avaliação da qualidade de componentes e substratos. In: **Caracterização, manejo e qualidade de substratos para produção de plantas**. Coord. Ângela Maria Cangiani Furlani, et al. Campinas; Instituto Agrônomo, 2002. 122 p. (Documentos IAC, 70). p. 30-37.

FERMINO, M. H.; BELLÉ, S. Substratos hortícolas. In: PETRY, C. (ORG.) **Plantas ornamentais: aspectos para produção**. Passo Fundo: EDIUPF, 2000. p.29-40.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 94).

FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F. e BEUTLER, A. N. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 209-214, 2005.

FERREIRA, E. M.; ALFENAS, A. C.; MÁFIA, R. G.; LEITE, H. G.; SARTORIO, R. C.; PENCHEL FILHO, R. M. Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. **Árvore**, v. 28, n.2, p. 183-187, 2004.

FERREIRA, G.; ERIG, P. R. e MORO, E. Produção do porta-enxerto (*Annona squamosa* L.) com o uso de reguladores vegetais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 637-640, 2002.

FERRI, J. **Micropropagação e desenvolvimento vegetativo de mirtilo**. 2008. 215 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FERRI, V.C.; CENTELLAS, A. Q.; HELBIG, V.E.; FORTES, G.R.L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM 111. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 561-565, 1998.

FISCHER, D. L. de O.; FACHINELLO, J. C.; ANTUNES, L. E. C.; TIMM, C. R. F.; GIACOBBO, C. L.; TOMAZ, Z. F. P. Enraizamento de miniestacas de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 3., ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL 2., Pelotas, RS, 2006. **Resumos...** Ed. Luis Eduardo Corrêa Antunes, Maria do Carmo Bassols Raseira – Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2006. 384 p. p.162-167.

FISCHER, D. L. de O.; FACHINELLO, J. C.; ANTUNES, L. E. C.; TIM, C. R. F.; GIACOBBO, C. L. Enraizamento de estacas semilenhosas de mirtilo sob o efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 557-559, jun. 2008.

FONSECA, L. L. da; OLIVEIRA, P. B de. **A Planta de Mirtilo: Morfologia e Fisiologia**. Folhas de divulgação Agro 556, n. 2, 2007. Disponível em: <[http://www22.sede.embrapa.br/snt/piue/Produ%E7%E3o%20Integrada%20na%20Uni%E3o%20Europ%E9ia/H\)%20Inst.Ensino%20e%20Pesquisa%20-%20PI/H3\)%20Portugal/Pesq.%20e%20Transf.%20de%20Tec.%20Pequenas%20Frutas/2%20Mirtilo.pdf](http://www22.sede.embrapa.br/snt/piue/Produ%E7%E3o%20Integrada%20na%20Uni%E3o%20Europ%E9ia/H)%20Inst.Ensino%20e%20Pesquisa%20-%20PI/H3)%20Portugal/Pesq.%20e%20Transf.%20de%20Tec.%20Pequenas%20Frutas/2%20Mirtilo.pdf)>. Acesso em: 23 jun. 2009.

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

GAUTHERET, R. J. Factors affecting differentiation of plant tissues grown in vitro. In: Beermann, W., Gautheret, R. J., Nieuwkoop, P. D. **Cell differentiation and morphogenesis**. Amsterdam: Noth-Holland, 1966. p. 55-95.

GIAMPAN, J. S.; CERQUEIRA, T. S.; JACOMINO, A. P.; REZENDE, J. A. M.; SASAKI, F. F. Indução de brotos laterais de mamoeiro (*carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 185-187, 2005.

GONÇALVES, A. L. Recipientes, embalagens e acondicionamentos de mudas de plantas ornamentais. In: MINAMI, K. (Ed.) **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo: T.A. Queiroz, 1995. 128 p.

GONÇALVES, A. N. **Aspectos fisiológicos da multiplicação vegetativa**. In: SEMINÁRIO SOBRE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA, Brasília, 1981. 8 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPq, v.1, 1998. p.183-260.

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Ed.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

HERTER, F. G.; WREGÉ, M. S. Fatores climáticos. In: RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C. **A cultura do Mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 69 p. p. 11-14. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 121).

HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A.; GONÇALVES, A.N. Monitoramento nutricional e fertilização em macro, mini e microjardim clonal de *Eucalyptus*. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.191-217.

HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. Enraizamento de estacas de duas cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 7-11, 1995.

HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C. Infra-estrutura para propagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005a. p. 13-43.

HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C. Formas de propagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005b. 221 p. p. 45-56.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N.N.J.; FRÁGUAS, C.B. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas de porta-enxertos de macieira "Marubakaido". **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, 2001.

IBRAF (Instituto Brasileiro de Frutas), 2007. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: 16 set. 2007.

JACKSON, D.O.; SWEET, G.A. Flower initiation in temperate woody plants. **Horticultural Abstracts**, Farnham Royal, v. 42, n. 1, p. 9-25, 1972.

- KÄMPF, A. N. **Análise física de substratos para plantas**. Viçosa: SBCS. 2001. v. 26, p. 5-7 (Boletim Informativo).
- KÄMPF, A. N. Substrato. In: KÄMPF, A.N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2005a. 254 p. p. 45-72.
- KÄMPF, A. N. Viveiros. In: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agrolivros, 2005b. 256 p.
- KOMISSAROV, D. A. **Biological basis for the propagation of wood plants by cuttings**. Jerusalém: Israel Program of Scientific Translations, 1969. 250 p.
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, I. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Caloute. Gulbenkian, 1972. 745 p.
- MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **Sistema de análise estatística para Windows**. Winstat. Versão 2.0. UFPel, 2003.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2006.
- MACIEL, S. da C.; VOLTOLINI, J. A.; PEDROTTI, E. L. Enraizamento *ex vitro* e aclimação do porta-enxerto de macieira Marubakaido micropropagado. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 289-292, 2002.
- McCLELLAND, M.T.; SMITH, M.A.L.; CAROTHERS, Z.B. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 23, p. 115-123, 1990.
- MADAIL, J.C.M.; SANTOS, A.M. Aspectos econômicos. In: RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C. **A cultura do Mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 69 p. p. 63-68. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 121).
- MARENCO, R. A e LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal**. Viçosa: UFV, 2009. 486 p.
- MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol.31, n.2, pp. 607-611, 2009.
- METIVIER, J. R. Citocininas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EPU: Ed. da Universidade de São Paulo, 1979a. p. 93-127.
- METIVIER, J. R. Giberelinas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EPU: Ed. da Universidade de São Paulo, 1979b. p. 129-161.
- MILKS, R. R. FONTENO, W. C.; LARSON, R. A. Hidrology of horticultural substrates: II Predicting physical properties of substrate in containers. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 144, n. 1, p. 52-56, 1989.

MIRANDA, E. M. de; MIRANDA, K. R. de. **Propagação vegetativa de mogno (*Swietenia macrophylla* King) por enraizamento de estacas semilenhosas em câmara úmida**. Rio Branco: EMBRAPA Acre, 2000. 15 p. (Embrapa Acre. Circular Técnica, 32).

MODESTO, J. C.; RODRIGUES, J. D. e PINHO, S.Z. Efeito do ácido giberélico sobre o comprimento e diâmetro do caule de plântulas de limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, p. 332-337, 1996.

NETO, A.A.; MENDES, A. N. G; GUIMARÃES, P. T. G. Avaliação de substratos alternativos e tipos de adubação para a produção de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em tubetes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p.270-280, 1999.

NODARI, R. O. e GUERRA, M. P. **Apostila de Biotecnologia 1 – Cultura de tecidos vegetal**. CCA/UFSC: Florianópolis, 2006.

NORBERTO, P. M.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. D.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p.533-541, 2001.

NORTON, M.E.; NORTON, C.R. An alternative to *in vitro* propagation axillary shoot enhancement on whole plants. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 61, p. 423-427, 1986.

OLIVEIRA, M. L. DE, XAVIER, A., SANTOS, A. P. dos; ANDRADE, H. B. Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones híbridos de *Eucalyptus* spp. **Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 4, p.503-512, 2006.

OLTRAMARI, A. C.; VESCO, L. L. DAL; PEDROTTI, E. L.; DUCROQUET, J. P. H. J.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 61-68, 2000.

ONO, E. O., RODRIGUES, J. D., PINHO, S. Z. Interações entre auxinas e ácido bórico, no enraizamento de estacas caulinares de *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo. **Scientia agrícola**, Piracicaba, v. 49, n. 1, p. 23-27, 1992.

ONO, E. O.; GRANA JÚNIOR, J. F.; RODRIGUES, J. D. Reguladores vegetais na quebra da dominância apical de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 348-350, ago, 2004.

PAGOT, E. **Cultivo de pequenas frutas: amora-preta, framboesa, mirtilo**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR. 2006.

PAGOT, E. **Sobre o Mirtilo**. 2009. Disponível em: < <http://www.appefrutas.com.br/BORTOLOTTTO/sobreomirtilo.php> >. Acesso em: 23 jun.2009.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., Vacaria, RS, 2003. **Anais...** Ed. Alexandre Hoffmann, Sandra de Souza Sebben - Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 64 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos 37). p. 9-17.

PAIVA, H. N. de; GOMES, J. M.; COUTO, L. et al. Propagação vegetativa de eucalipto por estaquia. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 18, n. 185, p. 23-27, 1996.

PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 234-239, 2001.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, J. C. **Agrometeorologia: Fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: Agropecuária. 2002.

PEREIRA, J. E. S., FORTES, G. R. DE L. e SILVA, J. B. da. Crescimento de plantas micropropagadas de macieira em casa de vegetação com aplicações de ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 881-886, 2001.

PIO R.; GONTIJO, T. C. A; CARRIJO, E. P.; VISIOLI, E. L.; TOMASETTO, F; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. Diferentes substratos e presença da gema apical no enraizamento de miniestacas de figueira. **Unimar Ciências**, Marília, v. 9, n. 1/2, p. 77-80, 2002a.

PIO R.; GONTIJO, T. C. A; CARRIJO, E. P.; VISIOLI, E. L.; TOMASETTO, F; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. Efeito do ambiente protegido e da presença da gema apical no enraizamento de miniestacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Unimar Ciências**, Marília, v. 9, n. 1/2, p. 71-76, 2002b.

PICOLOTTO, L., BIANCHI, V. J. E FACHINELLO, J. C. Ação de giberelinas e citocininas na germinação de sementes de pessegueiro. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 225-232, 2007.

POKORNY, F.A.; AUSTIN, M.E. Propagation of blueberry softwood terminal cuttings in pine bark and peat media. **Hortscience**, St. Joseph, v. 17, p. 640-642, 1982.

PUCHALSKI, L. E. A; KÄMPF, A. N. Efeito da altura do recipiente sobre a produção de mudas de *Hibiscus rosa-sinensis* L. em plugs. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. (ed.) **Substrato Para Plantas: A base da produção vegetal em recipientes**. Porto Alegre: Gênese, 2000. p. 209-215.

RASEIRA, M.C.B. Descrição da planta, melhoramento genético e cultivares. In: RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C. **Sistemas de Produção – Cultivo do Mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 99 p.

RISTOW, N. C. **Multiplicação de mirtileiro (*Vaccinium* spp.) por estaquia**. 2009. 85 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

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

RITZINGER, R.; GRAZZIOTTI, P. H. **Produção de mudas de acerola por mini-estaquia**. Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, 2005. 2 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Documentos, 10).

RÖBER, R. Substratos hortícolas: Possibilidade e limites de sua composição e uso; Exemplos da Pesquisa, da indústria e do consumo. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. (ed.) **Substrato Para Plantas: A base da produção vegetal em recipientes**. Porto Alegre: Gênese, 2000. p. 209-215.

RODRIGUES, T. DE J. D. E LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal – hormônios das plantas**. Jaboticabal: FUNEP, 2004.

SALGADO, J.M. O emprego de amora, framboesa, mirtilo e morango na redução do risco de doenças. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., Vacaria, RS, 2003. **Anais...** Ed. Alexandre Hoffmann, Sandra de Souza Sebben - Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 64 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos 37). p.33-36.

SANCHES, F. R.; LEITE, I. C e CASTRO, P. R. DE C. e. Efeito do ácido giberélico (AG₃) na floração e produção da lima ácida 'tahiti' (*Citrus latifolia* tan.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 504-509, 2001.

SANTOS, A. M. Pequenas Frutas: Novas alternativas de diversificação com fruticultura em pequenas propriedades. In: Encontro Nacional Sobre Fruticultura de Clima Temperado, 6., Fraiburgo, SC, 2003. **Anais...** Fraiburgo, SC: Paula Cópias, 2003. p.7-14.

SANTOS, A. M. Situação e perspectivas do mirtilo no Brasil. In: Simpósio Nacional do Morango, 2., e Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercossul, 1. **Palestras ...** p.282-285, 2004. CD-room.

SANTOS, A. M.; RASEIRA, M. do C.B. **A cultura do mirtilo**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 23 p., 2002. (Embrapa Clima Temperado, Documentos 96).

SANTOS, G.A.; XAVIER, A. WENDLING, I.; OLIVEIRA, M. L. Uso da miniestaquia na propagação clonal de *Cedrela fissilis* (Cedro-Rosa). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS, 6., 2000, Porto Seguro. **Resumos Técnicos...** Rio de Janeiro: Instituto Ambiental Biosfera, 2000. p. 203.

SHARPE, R.H. **Consultant's Report**. Pelotas, IICA/EMBRAPA-UEPAE de Cascata, 1980. 11 p.

SCHMITZ, J. A. K.; SOUZA, P. V. D. DE; KÄMPF, A. N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, vol. 32, n. 6, p. 937-944, 2002.

SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Micropropagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A. NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília, Df: Embrapa Informação tecnológica, 2005. p. 155-173.

SCHUCH, M. W.; DE ROSSI, A.; DAMIANI, C. R. ; SOARES, G. C. AIB e substrato na produção de mudas de mirtilo cv. "Climax" através de microestaquia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1446-1449, 2007.

SERRADO, F; PEREIRA, M.; FREITAS, S.; MARTINS, S.; DIAS, T. **Mirtilos: guia de boas práticas para produção, promoção e comercialização**. 2008. Disponível em: < http://www.adrimag.com.pt/downloads/cooptransnacional/mirt_livro.pdf >.

SIDAHMED, O. A. Effects of different levels of gibberellic acid (GA₃) on growth of sour orange (*C. aurantium* L.) seedlings. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 84, p. 165-169, 1978.

SILVA, O. R. **Enraizamento de estacas de *Eucalyptus grandis* via sistema hidropônico**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 142 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

SMITH, R. H. **Plant Tissue Culture - Techniques and Experiments**. Academic Press, San Diego, 1992. 171 p.

SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; NETO, H. P. da S. Aclimatização. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 131-140.

SOUZA JÚNIOR, L.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus dunii* via miniestaquia de material juvenil**. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n. 46, p. 21-30, 2003.

STRIK, B. C. Horticultural practices of growing Highbush blueberries in the ever-expanding U.S. and global scene. **Journal of the American Pomological Society**, Pennsylvania, v. 61, n. 3, p. 148-150, 2007.

STRIK, B. C.; YARBOROUGH, D. Blueberry production trends in North America, 1992 to 2003, and predictions for growth. **HortTechnology**, Alexandria, v. 15, n. 2, p. 391-398, apr./jun. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

TITON M.; XAVIER, A.; OTONI W. C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *eucalyptus grandis*. **Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TAKAHASHI, N.; PHINNEY, B.O.; MAC MILLAN, J. **Gibberellins**. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 199-210.

TITON M.; XAVIER, A.; OTONI W. C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *eucalyptus grandis*. **Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TODA FRUTA. Frutas Finas 2007. Disponível em: < http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=15102 > On line. Acesso em: 17 set. 2007.

TONIETTO, A.; FORTES, G.R.de R.; BATISTA DA SILVA, J. Enraizamento de mini-estacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 373-376, 2001.

TORRES, A.G.M. **Relação entre sazonalidade, desrrema e carboidratos no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. 79 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Universidade Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

TREVISAN, R.; FRANZON, R. C.; FRITSCH NETO, R., GONÇALVES, R. da S.; gonçalves, e. D.; ANTUNES, L. E. C. Enraizamento de estacas herbáceas de mirtilo: influência da lesão na base e do ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 402-406, 2008a.

TREVISAN, R.; PEREIRA, I. DOS S.; ANTUNES, L. E. C. Ácido indolbutírico no enraizamento de mini-estacas de mirtilo. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, XX, e Annual Meeting of the Interamerican Society for tropical Horticulture, 54, 2008, Vitória. **Resumos...** Vitória: Incaper, 2008b. DVD.

VÁLIO, I. F. M. Auxinas. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: EDU/EDUSP, v. 2, 1986. 392 p.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G. de; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plântulas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 47-53, 2006.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Árvore**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Árvore**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.

XAVIER, A., COMÉRIO, J., IANNELLI, C. M. Eficiência da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 4, p. 40-45.

XAVIER, A.; OTONI, W. C.; PENCHEL, R. M. Micropropagação e enxertia in vitro de espécies florestais. In: BORÉM, A. (ed.). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, 2007. p. 55-74.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003a.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; OLIVEIRA, M. L. de. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003a.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. dos; WENDLING, I.; OLIVEIRA, M. L. de. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 139-143, 2003b.

XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa, MG: SIF, 1998. 10 p. (Informativo Técnico SIF, 11).

XAVIER, A.; WENDLING, I., SILVA, R. L. da. **Silvicultura Clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Editora UFV, 2009. 272 p.

ZANI FILHO, J.; BALLONI, E. A. Enraizamento de estacas de eucalyptus: efeitos do substrato e do horário de coleta do material vegetativo. **IPEF**, n. 40, p. 39-42, dez. 1988.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S. R. Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 137-142, 2007.

ZIMMERMAN, R.H. Juvenility and flowering in wood plants: a review. **HortScience**, Alexandria, v. 7, n. 5, p. 447-455, 1972.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of woody plants: post tissue culture aspects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 227, p. 489-499, 1988.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; PAES, E. da G. B. **Aspectos gerais da propagação vegetativa por estaquia**. 2007. Disponível em: <
<http://www.sbfv.org.br/materialdidatico/download/propagracaporestaquiakatia.pdf> >.
Acesso em: 18 jul. 2007.

WAGNER JÚNIOR, A.; SILVA, J. O DA C. E E., SANTOS, C. E. M DOS; PIMENTEL, L. D.; NEGREIROS, J. R. DA S.; BRUCKNER, C. H. Ácido giberélico no crescimento inicial de mudas de pessegueiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1035-1039, 2008.

WEAVER, R. J. **Plant growth substances in agriculture**. San Francisco: W.H. Freeman, 1972. 594 p.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.

WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. **Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil**. In: 3º CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA MATE, 1ª FEIRA DE AGRONEGOCIO DA ERVA MATE, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó, SC. CD- rom.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**. Viçosa, v. 8, n.1, p.187-194, 2001.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e no vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Árvore**. Viçosa, v. 29, n. 6, p. 921-930, 2005.

WENDLING, I.; XAVIER, A; GOMES, J. M.; PIRES, I. E. ; ANDRADE, H. B. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 181-186, 2000.

WESTWOOD, M.N. **Fruticultura de zonas templadas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1982.

WESTWOOD, M.N. **Temperate-zone pomology**. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 1978. 428p.