

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

LYGIA WERLANG MOMOLI

CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MIRTILO, CULTIVAR
CLÍMAX, INOCULADAS COM *Azospirillum brasilense*

PONTA GROSSA – PR
2018

LYGIA WERLANG MOMOLI

CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MIRTILO, CULTIVAR
CLÍMAX, INOCULADAS COM *Azospirillum brasilense*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Agronomia. Área de
Concentração: Agricultura. Linha de Pesquisa:
Fisiologia, Melhoramento e Manejo de Culturas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub
Coorientadora: Prof. Dra. Carolina Galvão

PONTA GROSSA – PR
2018

M733 Momoli, Lygia Werlang
Crescimento e desenvolvimento de plantas de Mirtilo, cultivar clímax, inoculadas com *Azospirillum Brasiliense*/ Lygia Werlang Momoli. Ponta Grossa, 2018.
73 f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura – Fisiologia, Melhoramento e Manejo de Culturas), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub.
Coorientadora: Profa. Dra. Carolina Galvão

1. Mirtilo. 2. Blueberry. 3. *Azospirillum Brasiliense*.
4. Produção – Campos Gerais - PR. 4. Crescimento vegetal – Bactéria promotora. I. Ayub, Ricardo Antonio. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD : 634.38



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: **“Crescimento e produção de mirtilheiro C.V Climax inoculadas com *Azospirillum brasilense* na região dos Campos Gerais”.**

Nome: Lygia Werlang Momoli

Orientador: Ricardo Antonio Ayub

Aprovado pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub


Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho


Dr. Cláudio Medeiros da Silva

Data da Realização: 01 de agosto de 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais pelo incentivo, suporte e orações. Aos meus filhos Pedro Henrique e Maria Fernanda por todo amor, apoio e compreensão. Ao meu esposo Cidinei pelo amor, carinho, companheirismo, por me fazer lutar e acreditar que eu sou capaz, sem você nada seria possível. Ao meu irmão Carlos Eduardo pelo encorajamento e força nos momentos difíceis. À minha irmã Carolina por todo estímulo e amor, mesmo de longe sei o quanto você torce por mim. Ao meu tio Pedro Afonso pelo apoio. À toda minha família pelo encorajamento e força.

Ao meu orientador, Professor Doutor Ricardo Antonio Ayub, por ter me aceito como orientada, por toda a paciência, empenho e disponibilidade com que sempre me orientou neste trabalho. Muito obrigada por me ter corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar. À minha coorientadora professora Doutora Carolina Galvão pela contribuição durante esta etapa.

À Professora Doutora Silvana Ohse e ao Professor Doutor Rodrigo Matiello pela atenção e amizade. À toda equipe do Laboratório de Fruticultura aplicada à Biotecnologia, especialmente ao Wilson. À equipe do Laboratório de Microbiologia Molecular Microbiana, especialmente à Ligia.

Às amigas de uma vida inteira Ana Elisa, Helena, Josélia e Flávia por me manterem firme nos meus objetivos. Ao amigo Heverton por me incentivar a seguir sem perder meu foco. Aos amigos mestrando Iohann, Keren, Kamila, Jessé e ao amigo doutorando André pelo auxílio e apoio constante.

Especialmente pela amizade, apoio, motivação e trabalho duro em todas as etapas do mestrado com muita gratidão à Isabela, Evaldo, Marianne e Pedro.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo aprendizado que me proporcionou. À Fazenda Escola Capão da Onça pelo auxílio em todas as etapas do experimento. À CAPES pela bolsa de estudos. À empresa Agrocete pela doação do inoculante utilizado no experimento. A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Ninguém vence sozinho... Obrigada a todos!!!

“O Pensamento é uma força como a eletricidade e a gravitação. E a mente humana uma centelha da consciência onipotente de Deus. Posso mostrar-lhe que acontece imediatamente tudo quando a sua poderosa mente acredita com muita intensidade.”

RESUMO

Também conhecida por *blueberry*, arándano ou uva-do-monte, o mirtilo se inclui no grupo de pequenas frutas. Muito apreciado pelo seu sabor exótico, valor comercial e suas alegações terapêuticas, sendo considerado como uma das frutas que fornece fonte de longevidade. Apesar da sua grande importância comercial em outros países, ainda é inexpressiva no Brasil. O mirtilero pode desenvolver associações com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Essas associações estimulam a ampliação de sua zona radicular de absorção de nutrientes e, em troca, a planta fornece compostos fotoassimilados a esses microrganismos. Muitos estudos têm demonstrado que o *Azospirillum brasilense* estimula o desenvolvimento e a produtividade de várias espécies de plantas, muitas delas com grande relevância agrônômica e ecológica. O presente trabalho teve como objetivo verificar a produção do mirtilero e a qualidade físico-química dos frutos em função da inoculação com o *Azospirillum brasilense* (AZ) AbV5/AbV6 ativo e estéril, associado ou não com nitrogênio na região dos Campos Gerais no Paraná. Foram analisadas variáveis de crescimento como número de ramos vegetativos (RV), número de folhas (NF), área foliar (AF), número de frutos (NFRU), massa fresca (MF) e diâmetro dos frutos (DM), produtividade (PR), produção por planta (PP). Variáveis fisiológicas como taxa de fotossíntese (TF), condutância estomática (CE) e taxa de transpiração (TT). Analisou-se também as variáveis químicas dos frutos como: sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH, teor de antocianinas (TA) e teor de polifenóis totais (PF). A inoculação com AZ favoreceu o crescimento de ramos vegetativos, aumentou o número de folhas e a área foliar das plantas inoculadas. A produção por planta e a produtividade das plantas inoculadas com o AZ foram superiores à produção da testemunha. T. AZ apresentou maior quantidade de frutos, com maior massa, porém com menor valor de sólidos solúveis. Condutância estomática no estágio de floração foi mais eficiente para AZ com nitrogênio, AZE com nitrogênio obteve melhores resultados na fotossíntese e eficiência do uso da água. As condições climáticas influenciaram a produção e a composição química dos frutos. Há necessidade de mais estudos sobre a interação do mirtilero, *Azospirillum brasilense* e condições edafoclimáticas.

Palavras-chave: mirtilo, *Azospirillum brasiliense*, Produção – Campos Gerais – PR, Crescimento vegetal – Bactéria promotora.

ABSTRACT

Also known as blueberry, cranberry or blueberry, blueberry is included in the small fruit group. Much appreciated for its exotic taste, commercial value and its therapeutic claims, being considered as one of the fruits that provides source of longevity. Despite its great commercial importance in other countries, it is still inexpressive in Brazil. The goldfish may develop associations with plant growth promoting bacteria. These associations stimulate the expansion of their root zone of nutrient absorption, and in return, the plant provides photo-assimilated compounds to these microorganisms. Many studies have shown that *Azospirillum brasilense* stimulates the development and productivity of several plant species, many of them with great agronomic and ecological relevance. The present work had as objective to verify the production of the blue herring and the physical-chemical quality of the fruits as a function of the inoculation with active and sterile *Azospirillum brasilense* (AZ) AbV5 / AbV6, associated or not with nitrogen in the Campos Gerais region of Paraná. Growth variables such as number of vegetative branches (VN), number of leaves (NF), leaf area (FA), number of fruits (NFRU), fresh mass (DM) and fruit diameter), production per plant (PP). Physiological variables such as photosynthesis rate (TF), stomatal conductance (EC) and transpiration rate (TT). Fruit chemical variables were analyzed as: soluble solids (SS), titratable acidity (AT), pH, anthocyanin content (AT) and total polyphenol content (PF). The inoculation with AZ favored the growth of vegetative branches, increased the number of leaves and the leaf area of the inoculated plants. The yield per plant and the productivity of the plants inoculated with AZ were higher than the production of the control. T. AZ presented higher amount of fruits, with higher mass, but with lower soluble solids value. Stomatal conductance at the flowering stage was more efficient for AZ with nitrogen, AZE with nitrogen obtained better results in photosynthesis and efficiency of water use. The climatic conditions influenced the production and the chemical composition of the fruits. There is a need for further studies on the interaction of the bluebird, *Azospirillum brasilense* and edaphoclimatic conditions.

Key words: blueberry, *Azospirillum brasiliense*, production.- Campos Gerais – PR, plant growth promoter,.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Figura 1. Implantação do experimento na Fazenda Escola Capão da Onça em Agosto de 2016.....	30
Figura 2. Plantio do mirtilheiro em setembro de 2016 na Fazenda Escola Capão da Onça (Ponta Grossa, PR).....	31
Figura 3. Ponto de colheita do mirtilo em dezembro/2016. Ponta Grossa (PR).	32
Figura 4. Determinação da acidez titulável.	33
Figura 5. Preparação das amostras para análise de antocianinas dos frutos de mirtilheiro	33
Figura 6. Médias dos tratamentos Testemunha (T), inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> AbV5 / AbV6 estéril (AZE) e <i>Azospirillum brasilense</i> AbV5 / AbV6 ativo (AZ) para as variáveis número de folhas (a), área foliar (b) e número de ramos vegetativos (c), características do crescimento vegetativo, e para sólidos solúveis (d), característica química dos frutos. Ponta Grossa (PR), 2016/2017.	38
Figura 7. Médias dos tratamentos Testemunha (T), inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> AbV5 / AbV6 estéril (AZE) e <i>Azospirillum brasilense</i> AbV5 / AbV6 ativo (AZ) para as variáveis produtividade (a), produção por planta (b), número de frutos por planta (c) e massa fresca dos frutos (d). Ponta Grossa (PR), 2016/2017.....	40
Figura 8. Excesso de chuva e encharcamento do pomar na Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa (PR), 2017.....	54
Figura 9. Produtividade acumulativa das safras 2016/2017 e 2017/2017.....	55
Figura 10. Variáveis analisadas em plantas de mirtilheiro para os tratamentos Testemunha (T1), Testemunha com nitrogênio (T2), <i>Azospirillum brasilense</i> estéril (T3), <i>Azospirillum brasilense</i> estéril com nitrogênio (T4), <i>Azospirillum brasilense</i> ativo (T5) e <i>Azospirillum brasilense</i> ativo com nitrogênio (T6). Ponta Grossa (PR), UEPG, safra 2017/2018. a) Sólidos Solúveis; b) Acidez Titulável; c) Teor de Antocianinas; d) Condutância Estomática; e) Taxa Fotossintética.....	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 FRUTICULTURA BRASILEIRA.....	13
3.2 PEQUENAS FRUTAS.....	13
3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.....	13
3.3.1 Produção brasileira.....	15
3.3.2 Produção mundial e sul-americana	15
3.4 O MIRTILEIRO.....	16
3.4.1 Origem e classificação botânica do mirtilheiro	16
3.4.2 A planta do mirtilheiro	16
3.4.3 Grupos	17
3.4.4 Cultivar Clímax.....	19
3.4.5 Manejo da cultura.....	19
3.5 ADUBAÇÃO NITROGENADA.....	20
3.5.1 Adubação nitrogenada para o mirtilheiro	20
3.6 FATORES FISIOLÓGICOS E AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM O DESENVOLVIMENTO	21
3.7 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO	22
3.8 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS (BPCP)	22
3.8.1 Gênero <i>Azospirillum</i> sp.	24
3.8.2 <i>Azospirillum brasilense</i>	25
4 CAPÍTULO I - CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DO MIRTILEIRO CV. CLÍMAX INOCULADO COM <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i>	27
4.1 RESUMO.....	27
4.2 ABSTRACT	27
4.3 INTRODUÇÃO	28
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.5.1 Número de folhas (NF), área foliar (AF) e ramos vegetativos (NR)	35

4.5.2 Número de frutos (NF), massa fresca (MF) e diâmetro dos frutos (DF).....	36
4.5.3 Produtividade (PR) e produção média por planta (PP)	37
4.5.4 Sólidos solúveis (SS), pH, acidez titulável (AT) e teor de antocianinas (TA)	37
4.6 CONCLUSÃO	41
5 CAPÍTULO II – CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MIRTILEIRO CV. CLIMAX INOCULADO COM <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> COM ADUBAÇÃO NITROGENADA	42
5.1 RESUMO.....	42
5.2 ABSTRACT	43
5.3 INTRODUÇÃO	44
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.5.1 Determinação da taxa de fotossíntese (TF), condutância estomática (CE) e taxa de transpiração (TT)	51
5.5.2 Número de ramos vegetativos (NR) e de folhas (NF) e área foliar (AF)	52
5.5.3 Número de frutos (NF), massa fresca de frutos (MF) e diâmetro de frutos (DF).....	53
5.5.4 Produtividade (PR) e produção por planta (PP).....	54
5.5.5 Sólidos solúveis (SS), pH, acidez titulável (AT), teor de antocianinas (TA) e teor de polifenóis (TP).....	56
5.6 CONCLUSÃO	59
6 REFERÊNCIAS.....	60
ANEXOS	73
ANEXO A - PLUVIOSIDADE EM MILÍMETROS NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2016 A JANEIRO DE 2017	73

1 INTRODUÇÃO

O mirtilheiro (*blueberry* em inglês; arándano, em espanhol) pertence à família *Ericaceae*, é uma frutífera de clima temperado; classificada dentro da subfamília *Vaccinioideae*, na qual se encontra o gênero *Vaccinium*; é originário de algumas regiões da Europa e América do Norte (RANDUNZ et al., 2016).

Seu sabor único e sua cor inconfundível são fatores que atraem diretamente o consumidor, além dos pigmentos antociânicos presentes na composição do mirtilos, substâncias de alto poder antioxidante e que atuam na prevenção de doenças degenerativas (CONÇENSO et al., 2014).

A cultura do mirtilheiro vem sendo apontada como uma nova possibilidade na área de fruticultura nas regiões sul e sudeste do Brasil, e isso ocorre devido à sua alta rentabilidade, baixa utilização de insumos e facilidade de produção limpa (preservação do meio ambiente e segurança alimentar) (ARRUDA et al., 2017).

Seu cultivo é relativamente recente no país e alguns entraves dificultam sua expansão como a pouca disponibilidade e o alto custo das mudas. Também há a necessidade de pesquisa específicas sobre manejo nas diferentes condições edafoclimáticas, para os grupos cujo cultivo é mais expressivo, sendo eles *Rabbiteye* e *Highbush* (COUTINHO et al., 2007).

É uma planta caducifólia, tem porte arbustivo ou rasteiro, produz de três a cinco quilos de frutos por planta, sendo o fruto tipo baga de cor azul intensa, recoberto de pruína, com diâmetro entre 1,5 a 2,5 cm e 1,5 a 4 g de massa (EGER et al., 2016).

Necessita para seu bom desenvolvimento solos leves, com alto teor de matéria orgânica, não sujeitos à encharcamento prolongado com pH entre 4,5 à 5,5. Os mirtilheiros do grupo *Rabbiteye* se desenvolvem melhor em áreas onde não houve plantio de outras culturas ou recém desmatadas. Seu crescimento pode ser prejudicado em solos ricos em cálcio, a não ser quando houver alto teor de matéria orgânica, áreas com excesso de fósforo podem comprometer a utilização do ferro pelas plantas (KREWER; CLINE; NESMITH, 2015).

O mirtilheiro apresenta um sistema radicular muito superficial e compacto, sem pêlos radiculares (GONÇALVES et al., 2016). Sendo assim, há a probabilidade que suas raízes formem associações simbióticas com fungos micorrízicos, onde o fungo fornece nutrientes à planta e esta devolve açúcares em troca (SPINARDI; AYUB, 2013).

Microorganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) têm sido utilizados como beneficiadores de muitas espécies vegetais. Dentre eles, segundo Graças et al. (2015), as bactérias que influenciam positivamente o crescimento das plantas, são chamadas de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP). Elas são utilizadas como inoculantes,

propiciando benefícios que vão desde o crescimento da planta até a preservação do meio ambiente, sendo que a sustentabilidade agrícola está também na microbiota do solo, além da redução dos custos para o agricultor (NASCIMENTO, 2016).

Geralmente seu uso se destaca nas culturas anuais de ciclo curto, como abóbora, alface, feijão, trigo, morango entre outras; existem alguns estudos na promoção de crescimento em plantas perenes como café e citros (SANTOS, 2017).

Pouco se têm dado ênfase aos benefícios sobre a associação de frutíferas ou demais culturas perenes, de estrutura lenhosa ou semi-lenhosa, com microrganismos promotores de crescimento vegetal (SANTANA, 2016).

O gênero *Azospirillum* sp. especificamente vem sendo considerado de grande importância quando utilizado na agricultura, atuando na redução de custos de produção e no consequente aumento na sustentabilidade ambiental (ZUFFO, 2016). As bactérias deste gênero, além da fixação do nitrogênio livre, possuem a capacidade de produzir fitormônios promovendo crescimento em plantas inoculadas, principalmente sob condições de estresse (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016).

O *Azospirillum brasilense* destaca-se pelos resultados positivos alcançados em suas associações principalmente ao elevado potencial dos seus mecanismos de ação relacionados ao desenvolvimento radicular proveniente da produção de hormônios pela planta, levando à um maior crescimento e desenvolvimento de plantas, culminado em aumento de produção.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral foi avaliar o crescimento e produção do mirtilheiro, espécie *Vaccinium ashei*, grupo Rabiteye, cultivar Climax, quando inoculados com *Azospirillum brasilense*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (i) Avaliar o efeito da inoculação do *Azospirillum brasilense* no crescimento do mirtilheiro
- (ii) Avaliar o efeito da inoculação do *Azospirillum brasilense* nas características físico químicas do fruto.
- (iii) Avaliar o efeito da inoculação do *Azospirillum brasilense* na produção e produtividade do mirtilheiro
- (iv) Avaliar o efeito da adubação nitrogenada no crescimento e produção do mirtilheiro associada à inoculação do *Azospirillum brasilense*
- (v) Avaliar a influência da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado ou não com nitrogênio sobre a fotossíntese, condutância estomática e taxa de transpiração, em diferentes estádios fenológicos do mirtilheiro.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FRUTICULTURA BRASILEIRA

Entre as atividades econômicas que se destacam no agronegócios brasileiro, a fruticultura somou 38,775 milhões de toneladas de frutas frescas colhidas no ano de 2016 (IBGE, 2016). O Brasil mantém a posição de terceiro produtor mundial de frutas, ficando atrás apenas de China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2017).

O setor frutícola emprega 5,6 milhões de pessoas, que corresponde a 27% da mão de obra agrícola. Seus alicerces de fundamentam principalmente em pequenas e médias propriedades (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2016). Em 2016, foram plantados 2,5 milhões de hectares, correspondendo a 3,4% da área total ocupada pela agricultura brasileira. O valor da produção foi avaliado em R\$ 33,3 bilhões de reais, acréscimo de 26,0% quando comparado ao obtido em 2015 (IBGE, 2016).

3.2 PEQUENAS FRUTAS

Conhecidas como *berries* ou também frutas vermelhas, são pequenas frutas cultivadas no Hemisfério Norte como, por exemplo: morangos (*strawberries*), framboesas (*raspberries*), mirtilos (*blueberries*), amoras-pretas (*blackberries*) e outras pouco conhecidas no Brasil, como as groselhas, gooseberries, cranberries e loganberries (VIZZOTTO, 2012). Estão entre os sistemas de produção com francas ascendências nas regiões de maior altitude e clima frio do Brasil (ZAMBONI PINOTTI et al., 2011).

3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Ainda pouco conhecida no Brasil, porém com grande potencial produtivo, principalmente no Estado do Rio Grande do Sul, devido ao clima temperado, a sua produção ainda é restrita, mas podem ser incrementadas como alternativa econômica, especialmente em pequenas propriedades tendo uma promissora perspectiva de cultivo (BIANCHI, 2017).

A falta de conhecimento dos consumidores com relação ao mirtilo, vêm diminuindo devido à tendência do consumo de alimentos funcionais e de suas propriedades nutracêuticas,

o que têm favorecido o consumo das pequenas frutas, entre elas, o mirtilos (MOURA et al., 2017).

Alimentos funcionais são aqueles cujo consumo em uma dieta habitual demonstram benefícios fisiológicos que podem reduzir o risco de doenças crônicas, além de seus benefícios nutricionais. A definição do termo nutracêutico se relaciona a uma grande quantidade de alimentos e compostos alimentares com forte apelo à saúde, o que implica na existência de relação entre o alimento ou composto alimentar e doença ou condição relacionada à saúde (GOMES; MAGNUS; SOUZA, 2017).

É conhecido como o “Rei dos Antioxidantes” e o “Fruto da Juventude”, é rico em vitaminas, A, B, C e PP, possuindo ainda sais minerais, magnésio, potássio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, açúcares, pectina, tanino, ácido cítrico, málico e tartárico. (SERRADO et al., 2008). Tem um conteúdo particularmente elevado de polifenóis tanto na casca quanto na polpa, os quais conferem funções de proteção sobre as paredes das células (FACHINELLO, 2008).

Acredita-se que muitas de suas propriedades biológicas sejam associadas com a atividade antioxidante dos pigmentos antocianinas, flavonóides e outros compostos fenólicos (ZARDO, 2014). O fruto do mirtilo pode inibir a angiogênese, prevenir a carcinogênese e doenças cardíacas, minimizando danos ao DNA, proliferação de células cancerosas e aumento da apoptose de estudos *in vitro*, *in vivo* clínicos (WANG et al., 2017).

O termo “antocianina”, derivado do grego (*anthos*: flores e *Kyanos*: azul), foi criado por Marquart em 1835 para designar os pigmentos azuis das flores. Seu espectro de cores vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as colorações, resultando em tons de púrpura. A coloração atrativa de muitos frutos, folhas e flores, se deve à estes pigmentos, os quais se encontram dispersos nos vacúolos celulares (PERTUZZATI, 2009).

As frutas do mirtilheiro são frequentemente processadas como suco ou suco concentrado para subsequente uso em bebidas, xaropes e outros produtos alimentícios (ZARDO, 2014). Na cosmetologia, uma grande quantidade de produtos tem utilizado o fruto do mirtilo com inúmeras alegações de propriedades biológicas, na formulação de uma variedade de produtos como cremes hidratantes, esfoliantes, protetores da radiação ultravioleta, entre outros (SPAGOLLA et al., 2009).

3.3.1 Produção brasileira

No Brasil, o mirtilheiro foi introduzido na década de 1980, a partir de plantas obtidas na Universidade da Flórida, Estados Unidos. Atualmente, estima-se que cerca de 200 ha são cultivados com mirtilheiros, principalmente nos estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais (DIEZ-RODRÍGUEZ et al., 2017).

O destino da produção é a exportação, pois apenas parte é absorvida no mercado interno. O Rio Grande do Sul é o maior produtor, pois concentra cerca de 45 produtores, que ocupam uma área de produção de 65 ha, os quais ofertam cerca de 150 toneladas por ano (MADAIL; BELARMINO; BINI, 2010). Essa demanda de mercado podem gerar oportunidades de negócio para o setor produtivo brasileiro, desde que haja adoção de tecnologia para a produção e a utilização de cultivares adequadas (ZARDO, 2014).

Segundo Fachinello (2008), alguns fatores atrapalham a expansão da cultura no país, como as condições de clima e solo, o crescimento lento da planta, as dificuldades no manejo da colheita e a falta de mudas, a dificuldades de propagação em algumas cultivares e ao pouco conhecimento técnico sobre a cultura.

O pacote tecnológico utilizado pelos produtores tem sido adaptado de outros países e adequado às condições locais, sendo seu cultivo ainda pouco explorado (CANTUARIAS-AVILÉS, 2014). A demanda pela fruta é maior que a oferta, tanto no mercado interno quanto para exportação, provavelmente, devido à pouca oferta de produto no mercado brasileiro, à fragilidade dos frutos e sua reduzida conservação pós-colheita (SPINARDI; AYUB 2013).

Necessita de muita mão de obra, principalmente na colheita, e seu cultivo depende de uma logística de transporte, embalagem adequada e frio para chegar ao mercado. É fundamental que os produtores estejam organizados de forma associativa no momento da comercialização. A espécie *Vaccinium ashei* é a mais promissora, então as perspectivas de cultivo no Brasil são promissoras, tanto para consumo interno como para exportação (FACHINELLO, 2008).

3.3.2 Produção mundial e sul-americana

Atualmente, a produção comercial de mirtilos ocorre principalmente na América do Norte (EUA e Canadá), na Europa (Polônia, Alemanha) e também em países do Hemisfério Sul (Chile, Argentina, Uruguai, Austrália e do Brasil) (CANTUARIAS-AVILÉS, 2014). A

produção mundial de mirtilos no ano de 2017 foi de 1,7 milhão de toneladas, sendo que nos próximos dois anos, a colheita deve chegar a 2 milhões de toneladas, de acordo com (MAXWELL, 2016).

Na América do Sul houve um incremento de 478% na área plantada com mirtilheiros no período de 2003-2008 (RETAMALES; HANCOCK, 2012). O Chile é o país que tem a maior produção, em janeiro e fevereiro de 2017, pico da colheita no Chile, os mirtilos exportados foram vendidos à US\$ 10,04 o quilo, em média, comparando-se com os preços obtidos nos Estados Unidos cujos valores ficaram em torno de US\$ 6,40 kg⁻¹ (MAXWELL, 2016).

3.4 O MIRTILEIRO

3.4.1 Origem e classificação botânica do mirtilheiro

O mirtilheiro é uma frutífera que pertence a família *Ericaceae* e é classificado dentro da subfamília *Vaccinioideae*, na qual se encontra o gênero *Vaccinium*. É originária de algumas regiões da Europa e América do Norte (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

3.4.2 A planta do mirtilheiro

Segundo Hoffmann (2002), o mirtilheiro possui porte arbustivo ou rasteiro, podendo atingir de 0,5 à 4m de altura, é um planta caducifólia. O fruto é uma baga de cor azul escura, de formato achatado, coroada pelos lóbulos persistentes do cálice e com aproximadamente 1 a 2,5 cm de diâmetro e 1,5 a 4 g de peso. Apresenta em seu interior muitas sementes e tem sabor doce-ácido a ácido (CHILDERS; LYRENE, 2006). É um fruto não climatérico, não sendo observadas variações significativas na taxa respiratória ao longo do tempo de colheita e conservação (LAVADINHO et al., 2001).

Os ramos do mirtilheiro apresentam coloração amarelo dourada ou avermelhada, surgem da base da planta, sendo herbáceos no primeiro ano, tornando-se lenhosos no segundo ano. Podem atingir alturas entre 0,1m a 6 metros dependente da variedade e grupo (GASPAR, 2017).

As folhas do mirtilheiro variam entre as espécies, mas de modo geral formam-se nos nós dos ramos, são simples, dispostas alternadamente, têm formato oval, alongadas, alternadas, decíduas, grandes (3-5 cm/7-9 cm) (RETAMALES; HANCOCK, 2012). Com o frio e a redução das horas de luz, ocorre diminuição nos níveis de clorofila e aumento na produção do pigmento responsável pela coloração avermelhada das folhas, que substitui a cor verde escuro que se observa no restante do ano (MOURA, 2013).

As flores são compostas por inflorescências que formam ráceros que se desenvolvem na parte terminal dos ramos. Cada rácermo contém de 8 a 16 flores, variando de acordo com a espécie e a cultivar (MOURA, 2013).

A corola é formada por 4 a 5 pétalas soldadas que formam uma campânula invertida. As corolas invertidas e a localização das anteras relativamente aos estiletos desfavorecem a autopolinização e promovem a polinização cruzada. São oito a dez estames por flor, cada um composto por uma antera biapendiculada deiscente por onde sai o pólen. Para a produção comercial satisfatória, o mirtilo necessita que pelo menos 80% das flores frutifiquem (SEZERINO, 2017).

O sistema radicular do mirtilheiros é bastante superficial e compacto, composto por dois tipos distintos de raízes, raízes finas, com menos de 1 mm de diâmetro, que tem como principal função a absorção de água e nutrientes; raízes mais grossas, superiores a 1 mm e podendo chegar até 1 cm de diâmetro tem, a função de suporte, fixação do solo e até mesmo de reserva de carboidratos (GASPAR,2017).

Ao contrário das raízes da maior parte das plantas, as do mirtilheiro não possuem pelos radiculares, que são as estruturas que asseguram mais de 90% de absorção de água e nutrientes nas plantas que às possuem. Sendo assim, pode ocorrer simbiose com vários tipos de fungos de solo e estes assumem o papel dos pelos radiculares ausentes e asseguram a absorção tanto de água quanto nutrientes necessários ao desenvolvimento do mirtilheiro (FONSECA; OLIVEIRA, 2007).

3.4.3 Grupos

Segundo Zardo (2014), no mundo existem três grupos principais de mirtilo cultivados comercialmente: os *Lowbush*; os *Highbush* e os do tipo *Rabbiteye*.

Highbush: (arbusto alto) são plantas com dois ou mais metros de altura. A necessidade em frio hibernal das plantas deste grupo está geralmente entre 650 e 850 horas; *Rabbiteye Lowbush* (arbusto de pequeno porte): plantas com menos de meio metro de altura. A maioria delas pertence à espécie *V. angustifolium*, embora esteja neste grupo, o mirtilo do Canadá (*V. myrtilloides* e *V. boreale*) (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

Rabbitteye "olho de coelho" (espécie hexaplóide): são plantas que podem alcançar de dois a quatro metros de altura; o acúmulo médio de horas de frio nas regiões produtoras no Brasil situa-se entre 400-600 h, as principais cultivares utilizadas no país pertencem à esse grupo (PASA et al., 2014).

Comparando-se as cultivares do grupo *Highbush* às do grupo *Rabbiteye*, as do primeiro grupo apresentam floração tardia e menor período de desenvolvimento da fruta (PASA et al., 2014).

3.4.3.1 Grupo *Rabbitteye*

Os mirtilheiros do grupo *Rabbiteye* ("olho-de-coelho") representam 15% da produção mundial, sendo cultivados principalmente na África do Sul, Austrália, Chile e no Brasil, com aproximadamente 65% destes frutos sendo destinados ao processamento (CANTUARIAS-AVILÉS et al., 2014).

O potencial produtivo das cultivares do grupo *Rabbiteye* nas condições brasileiras, vêm sendo comprovado por estudos que demonstram o alto vigor, longevidade e produtividade, baixa necessidade em frio, produzindo frutos com maior firmeza de polpa e de longa duração. As cultivares deste grupo apresentam boa brotação e floração com apenas 360 horas de frio), condição está encontrada em muitos municípios do sul do Brasil (RADUNZ et al., 2016).

Entre as limitações das cultivares desse grupo, destaca-se a completa coloração do fruto antes do ponto ideal de colheita, que interfere no sabor, e é quando se apresentam mais ácidos e com tendência a rachar a epiderme em períodos chuvosos, longo período até alcançar o máximo de produtividade, cor escura da película correlacionada com frutas mais doces e autoesterilidade (RASEIRA; ANTUNES, 2004).

3.4.4 Cultivar Clímax

Pertence ao grupo *Rabitleye*, e de acordo com Coletti (2009), a cultivar Clímax é originária de Tifton, Geórgia, desenvolvida pela *Coastal Plain Experimental Station* e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, obtida do cruzamento entre ‘Callaway’ e ‘Ethel’. O início da floração da cultivar Clímax se dá na terceira semana de agosto, e a maturação é no final de novembro. Os frutos amadurecem de maneira relativamente uniforme (RASEIRA; ANTUNES, 2004). A colheita compreende um período que vai de 21 a 41 dias.

As frutas são de tamanho médio, com película de coloração azul escura, e polpa saborosa. A produção é de 3,2 kg por planta e a massa do fruto de 1,8 gramas (PEREIRA et al., 2013). Apresenta uma película denominada pruína, cuja presença dá ao fruto sua coloração azulada. O teor de sólidos solúveis varia de 10° a 12,4° Brix, com sabor doce ácido (RASEIRA, 2004).

A cv. Clímax se desenvolve bem na região de Ponta Grossa (PR), Brasil (SPINARDI; AYUB, 2013). A dificuldade na obtenção das mudas devido ao baixo poder germinativo da semente, ao longo período de desenvolvimento da muda por estaquia elevam o custo da muda, o que dificulta a expansão do cultivo (PASQUALINI; SANTOS; AYUB, 2016).

Plantas da cultivar Clímax são vulneráveis aos ventos frios tardios, que podem acontecer após a abertura das flores. No verão as temperaturas do ar acima dos 30°C podem levar à morte das folhas, principalmente se estão completamente expostas ao sol, fato associado à insuficiência em absorver água para compensar as perdas por transpiração (RANDUNZ et al., 2016). De acordo com Coletti (2009), ventos fortes são prejudiciais ao crescimento e à polinização, devendo ser instalados quebra vento para proteção do pomar.

3.4.5 Manejo da cultura

Segundo Fachinello (2008), alguns fatores dificultam a expansão do cultivo do mirtilo no Brasil, tais como as condições de clima e solo, o crescimento lento da planta, as dificuldades no manejo da colheita e a falta de mudas, devido as dificuldades de propagação em algumas cultivares e ao pouco conhecimento técnico sobre a cultura.

Para Antunes et al. (2012), os fatores climáticos atuam diretamente na fase de desenvolvimento, determinando o potencial de produção. Durante a fase de repouso, o frio é o fator principal; durante a fase vegetativa, a temperatura, a precipitação e a radiação solar são

os fatores mais importantes. Com relação à água, esta deve ser manejada de forma adequada para que não haja baixo crescimento, redução da produção de frutos, excesso de ramos secos e até a morte da planta. Sob condições de déficit hídrico na planta, é uma das poucas frutíferas em que há extração de água dos frutos. (SANTOS, 2007).

O mirtilheiro necessita de solos arenosos, franco-arenosos ou argilosos não muito profundos e de baixa fertilidade, bastante poroso com pH entre 4,5 e 5,5 e alto teor de matéria orgânica. É uma planta sensível à compactação e a má drenagem do solo (HOFFMAN, 2006).

Ainda de acordo com Hoffmann (2006), possui uma demanda nutricional distinta quando comparada à outras culturas frutíferas, sendo que muitas práticas culturais comuns à outros cultivos não são adequados para a produção de mirtilo. Isto refere-se a baixo pH do solo, bem como a maioria dos nutrientes. A recomendação de fertilizantes para o mirtilheiro deve levar em conta as necessidades de cultura, a taxa de crescimento e as condições ambientais.

3.5 ADUBAÇÃO NITROGENADA

Segundo Martins et al. (2003), o nitrogênio é o mais abundante elemento químico na atmosfera terrestre, contribuindo com aproximadamente 78% de sua composição. Qualquer processo que resulte na transformação do N_2 da atmosfera em outros compostos de nitrogênio é denominado de fixação de nitrogênio.

O nitrogênio faz parte de vários compostos como proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, enzimas, coenzimas, pigmentos e produtos secundários. Tem importância em processos essenciais à planta como a fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular, portanto sua deficiência inibe o desenvolvimento vegetal (MALAVOLTA, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Dentre os nutrientes, o nitrogênio é o mais exigido pelas culturas, sendo assim é aplicado em doses elevadas. Dessa forma, a contaminação de águas subterrâneas e dos mananciais e a elevação dos teores de $N-NO_3^-$ (nitrato) nos alimentos, principalmente naqueles de consumo “in natura” como as hortaliças e as frutas (FAQUIN, 2005).

3.5.1 Adubação nitrogenada para o mirtilheiro

O nitrogênio (N) deve ser aplicado em taxas ideais e no momento apropriado, para uma absorção eficiente, evitando perdas (HOFFMANN, 2006). Sendo essa aplicação efetuada

na época da brotação, que normalmente ocorre em setembro. É absorvido pelas raízes como nitrato ou sais de amônio (SANTOS, 2007).

A utilização de sulfato de amônio, como fonte de adubo nitrogenado, dependendo na dose, pode aumentar ou diminuir o crescimento e desenvolvimento de frutos do mirtilheiro. Perdas ou exportação de nitrogênio pelas plantas devem ser considerado ao longo do ciclo de desenvolvimento (AMARAL, 2018).

De acordo com Leitzke (2015) a importância do fertilizante nitrogenado para a cultura do mirtilheiro, associada aos fatores edafoclimáticos, umidade do solo e disponibilidade de nutrientes foram consideradas como os principais modificadores nos padrões de absorção de nutrientes e que supõe-se que o uso de diferentes taxas de nitrogênio influenciam o comportamento vegeto-produtivo e qualidade dos frutos do mirtilheiro.

3.6 FATORES FISIOLÓGICOS E AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM O DESENVOLVIMENTO

O metabolismo vegetal é influenciado pelas condições ambientais, que determinam as taxas e proporções da fotossíntese e da respiração. A radiação solar é a principal fonte de energia para os processos de fotossíntese e evapotranspiração das culturas da também a área foliar, o tipo do sistema de condução e o manejo cultural empregado. Influenciando os estádios fenológicos (repouso vegetativo, brotação, floração, frutificação (RAMOS, 2015).

A atividade fotossintética é responsável pelo acúmulo de aproximadamente 90% de matéria seca no decorrer do crescimento da planta. Além disso, características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes (fonte) e dos órgãos consumidores dos fotoassimilados, conhecidos como drenos influenciam a produtividade (TAIZ; ZEIGER, 2017).

No florescimento carboidratos são direcionados de forma prioritária para os frutos, tubérculos e raízes de reserva (RAMOS, 2015).

O estresse hídrico causa alterações como redução no potencial hídrico foliar e teor relativo de água, na condutância estomática e na taxa de transpiração, causadas pelo fechamento dos estômatos, até a queda acentuada na taxa fotossintética, esta ocorrendo por fatores estomáticos, em virtude da redução na condutância estomática, restringindo as trocas gasosas entre a planta e o meio externo, ou por fatores não estomáticos, como danos no

aparato fotossintético e decréscimo na atividade de enzimas do Ciclo de Calvin (COSTA., et al. 2015).

3.7 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é o nutriente que mais influencia a produção agrícola, desta forma compreendendo grande parte dos solos das regiões tropicais, incluindo a maior parte dos solos considerados de baixa fertilidade da América Latina (URQUIAGA et al., 2006).

Algumas bactérias e também algumas algas azuis (cianobactérias), realizam a fixação biológica do nitrogênio com função de transformar o nitrogênio existente no ar atmosférico em formas assimiláveis para as plantas e animais. Antes de ser absorvido, o nitrogênio é retirado do ar e transformado em amônia solúvel em água, que é utilizado diretamente pela planta, quando ocorre o processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN). Quando fixado pode ser transformado no solo em nitrato, forma que também é disponível para as plantas sendo a enzima universal conhecida como nitrogenase (ARAÚJO et al., 2015).

Embora muitas espécies de plantas possuam a capacidade natural de associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, a eficiência da fixação de N pode ser melhorada com o uso de bactérias mais específicas e eficientes. Essa eficiência foi constatada por pesquisas que isolaram bactérias com alta capacidade de fixação de nitrogênio. As bactérias selecionadas são vendidas comercialmente apenas com o nome de inoculante (URQUIAGA, 2006).

3.8 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS (BPCP)

Quando em seus habitats naturais as bactérias podem colonizar o interior e exterior de órgãos de plantas, podendo ser benéficas, neutras ou prejudiciais ao seu crescimento. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte da população que coexistem nas plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas (MARIANO et al., 2004).

A relação entre a planta hospedeira e a comunidade de bactérias que a colonizam é influenciada pelo genótipo, estágio de crescimento, status fisiológico, tipo de tecido da planta, práticas agrícolas, além de condições ambientais como temperatura, oferta de água e nutrientes). Pode ainda diferir dependendo da espécie, do cultivar, e até mesmo entre espécies transgênicas e suas respectivas progenitoras. A evolução da relação entre a planta com as

bactérias pode contribuir de diferentes formas na sanidade e desenvolvimento da planta (POLESI, 2010).

Quando associadas com plantas, resultam em aumento substancial da área da raiz, levando a uma maior eficiência na retirada de água, macro e micronutrientes pelas plantas. As BPCP podem apresentar efeito antagônico sobre muitos microrganismos patogênicos, promovendo assim um eficiente controle biológico na natureza (KAPPES et al., 2013).

Elas coexistem associativamente nas superfícies radiculares, na rizosfera e filosfera, e nos tecidos internos de diferentes espécies vegetais, estimulando as ramificações e a permeabilidade das raízes, aumentando a biomassa da parte aérea e das raízes, melhorando a absorção de minerais em geral, e aumentando a resistência em condições adversas como seca, salinidade e compostos tóxicos, além de intensificar a produção dos hormônios auxina, giberelina e citocinina (BASHAN; BASHAN, 2005; HUNGRIA et al., 2011).

Segundo Graças et al. (2015), há um grande número de trabalhos que comprovam o incremento de crescimento proporcionado pelas bactérias promotoras de crescimento de plantas, principalmente em leguminosas e gramíneas. Entretanto, poucos estudos têm dado ênfase aos benefícios destas bactérias em frutíferas, sendo assim essencial selecionar estirpes com potencial para produção de bioinoculantes para uso nestas espécies, havendo a necessidade de estudos sobre a interação da bactéria com essas referidas plantas (RODRIGUES, 2016).

A utilização das bactérias na forma de inoculantes biológicos é uma das tecnologias eficientes em substituir métodos tradicionais de adubação com fertilizantes a base de uréia (SILVEIRA, 2008). Desta forma pode levar à diminuição da quantidade aplicada em ambientes de produção agrícola (HUNGRIA et al., 2011).

Segundo Xavier, Rumjanek e Guedes (2005), o inoculante é um produto que contém microrganismos com ação benéfica para o desenvolvimento das plantas. O inoculante contendo bactérias formadoras de nódulos nas raízes das plantas (rizóbios) é desenvolvido e produzido de acordo com protocolos estabelecidos pela rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola (RELARE). A multiplicação das bactérias selecionadas pela pesquisa posteriormente é disponibilizada aos agricultores (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2017).

Dentre as vantagens da inoculação com bactérias estão: aumento da produtividade da cultura sem utilizar fertilizantes nitrogenados; preservação da microflora e a microfauna do solo; redução do custo de produção; ausência de danos ao meio-ambiente e recuperação dos solos de baixa fertilidade (BURYTI et al., 2014).

A aplicação de inoculante bacterianos como biofertilizantes tem aumentado o crescimento e rendimento de muitas culturas de cereais, sendo atribuído a esses efeitos benéficos o uso de rizobactérias que fixam o biologicamente o nitrogênio, além de produzirem fitormônios, que promovem o desenvolvimento e proliferação radicular, resultando em uma captação mais eficiente de água e nutrientes (POLESI, 2010).

3.8.1 Gênero *Azospirillum* sp.

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCP de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da terra. Há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas. O Brasil possui uma longa tradição em pesquisa com *Azospirillum* e hoje, está entre as lideranças mundiais em pesquisa básica com essas bactérias (HUNGRIA, 2011).

A inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* sp. aumentaram o rendimento em importantes culturas, como por exemplo, soja, milho e arroz, embora ressaltem que o ganho vai além de simplesmente fixar biologicamente o N, aumentando a superfície de absorção das raízes da planta, volume de substrato do solo explorado e das substâncias promotoras de crescimento, podem produzir ácido orgânico glucônico que solubiliza fontes de fosfato inorgânico insolúvel, fazendo com que disponibilize mais P presente no solo para a planta (LINO, 2018).

O *Azospirillum* sp. age através de diversos mecanismos, sendo principalmente via produção de hormônios do crescimento de plantas, resultando em maior crescimento de raízes, tornando assim a planta mais eficiente para absorção de nutrientes e água, incluindo também melhor aproveitamento de fertilizantes (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2017).

O *Azospirillum* sp. tem a capacidade de fixar nitrogênio do ar, deixando-o disponível no solo na forma mineral. A promoção do crescimento verificado nas culturas agrícolas apresenta-se em função dessa disponibilidade de nitrogênio (SANTANA, 2016). Além disso, Araújo (2015) salienta que o *Azospirillum* sp. apresenta também antagonismo a agentes patogênicos, não é muito sensível às variações de temperatura e ocorre em todos os tipos de solo e clima (RADWAN, 2004).

De acordo com Cassán e Diaz-Zorita (2016), a prática de inoculação com cepas selecionadas de *Azospirillum* sp. fornece uma contribuição direta para o aumento do rendimento das culturas e aumenta a eficácia no uso de recursos de produção com benefícios prolongados para o ambiente. O uso comercial de *Azospirillum* sp. como inoculantes vêm

sendo utilizado em aproximadamente 3,5 milhões de hectares, principalmente cultivados com cereais na América do Sul.

3.8.2 *Azospirillum brasilense*

Os estudos com *Azospirillum brasilense* têm, em sua maioria, foco em cereais, algodão, cana-de açúcar, café, braquiárias e outras (REIS, 2007). Algumas estirpes foram efetivas para o crescimento de várias espécies de plantas, fazendo com que estes organismos sejam potencialmente valiosos para estudos futuros (PEREG; DE-BASHAN; BASHAN, 2016). Atuam no crescimento das plantas, ocasionando maior desenvolvimento radicular, o aumento do processo da redução assimilatória de nitrato disponível no solo e a fixação biológica de nitrogênio (MUNBACH, 2015).

A produção de fitohormônios tem sido apresentada como um dos mecanismos que explicam a promoção do crescimento de plantas. Isso ocorre pela produção ou metabolização por parte do *Azospirillum brasilense* de compostos de sinalização química que alteram o alongamento e conformação das raízes, formação de pelos radiculares ocasionando um aumento no volume de solo explorado pela planta, incrementando de forma indireta a captura de recursos vegetais existentes no solo. Os processo fisiológico nos quais se incluem os citados são regulados pelos hormônios vegetais produzidos (OLIVEIRA, 2015).

A inoculação do *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo, favoreceu aumento significativo na quantidade de vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofilas “a” e “b”, e nos pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que tornam as plantas mais verdes e sem estresse hídrico (ZUFFO, 2016).

Segundo Alfonso, Leyva e Hernández (2005), a eficácia agrobiológica do *Azospirillum brasilense* está estabelecida pelo alto índice populacional na rizosfera de plantas de tomate inoculadas, como responsável pelo aumento positivo no crescimento e estado nutricional das plantas de tomate, bem como o rendimento agrícola da cultura.

O *Azospirillum brasilense* apresentam uma ampla faixa de tolerância contra estresses abióticos, como a seca por exemplo; ainda assim estimula o crescimento das plantas, como é o caso da banana, onde os efeitos benéficos dos biofertilizantes têm sido amplamente relatados (BORA et al., 2016).

O *Azospirillum brasilense* confere maior tolerância da alface à viroses do grupo Tospovirus, principal agente causador da morte de plantas e o uso de *A. brasilense* associado à

enraizador atenua os efeitos da larva-minadora em menores doses de N em cobertura (LIMA et al., 2017).

Em um estudo com morango, utilizou-se a associação de *Azospirillum brasilense* com silício, havendo maiores valores de número médio de frutos por planta, massa fresca dos frutos por planta e massa fresca dos frutos comerciais, características desejáveis em frutos comerciais, pois representam maior rentabilidade por área de cultivo ao produtor (BUBANZ; RAMOS; BETEMPS, 2017).

O *Azospirillum brasilense* REC3 participou ativamente na indução da proteção sistêmica de plantas de morango contra antracnose causada por *C. acutatum* M11, ocasionando acúmulo transiente de ácido salicílico e indução de genes relacionados à defesa, sugerindo que esta resposta está relacionada à modificações da estrutura celular como consequência do aumento observado em compostos fenólicos e deposição de calose (TORTORA; DÍAZ-RICCI; PEDRAZA, 2011).

Santos (2017) em seu estudo sobre crescimento de mudas frutíferas sob ação de microrganismo promotores de crescimento vegetal, dentre eles o *Azospirillum brasilense* sugere que mais estudos são necessários para que técnicas de inoculação e microrganismos selecionados sejam compatíveis com as espécies frutíferas para que atendam às expectativas dos produtores, que dependem desta atividade econômica.

Santana (2016), em seu trabalho reforça a necessidade de mais estudos relativos à associação do *Azospirillum brasilense* com frutíferas ou demais culturas perenes de estrutura lenhosa ou semi-lenhosa, sendo então este o objetivo do presente trabalho.

4 CAPÍTULO I - CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DO MIRTILEIRO CV. CLÍMAX INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

4.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de plantas de mirtilheiro da cv. Climax com *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 na região dos Campos Gerais no Paraná. O experimento utilizou 3 tratamentos: testemunha (T), *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 estéril (AZE) e *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 ativo (AZ). Foram analisados número de ramos vegetativos (RV), número de folhas (NF), área foliar (AF), número de frutos (NFRU), massa fresca (MF) e diâmetro dos frutos (DM), produtividade (PR), produção por planta (PP) e características químicas dos frutos como: sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH e teor de antocianinas (TA). A inoculação com AZ favoreceu o crescimento de ramos vegetativos, aumentou o número de folhas e a área foliar das plantas inoculadas. A produção por planta e a produtividade das plantas inoculadas com o AZ foram superiores a produção de T. AZ apresentou maior quantidade de frutos, com maior massa, porém com menor valor de sólidos solúveis. Estes resultados mostram uma possibilidade viável na associação do *Azospirillum brasilense* com o mirtilheiro.

Palavras-chave: *Vaccinium ashei*, bactéria promotora de crescimento vegetal, produção.

4.2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of blueberry plants of cv. Climax with *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 in the Campos Gerais region of Paraná. The experiment used 3 treatments: control (C), *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 sterile (AZE) and *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 active (AZ). The analyses were: the number of vegetative branches (VB), number of leaves (NL) leaf area (LA), mass of fruits (FM), number of fruits (NF) fruit diameter (FD), production (PR), production per plant (PP) and chemical characteristics of fruits such as soluble solids (SS), titratable acidity (TA), pH and anthocyanin content (AC). The inoculation with AZ favoured the growth of vegetative branches, increased the number of leaves and the leaf area of the inoculated plants. The production per plant and the productivity of the plants inoculated with AZ were higher than the production of C. AZ showed higher amount of fruits, with higher mass, but with lower soluble solids value.

Key words: *Vaccinium ashei*, plant growth promoter, production.

4.3 INTRODUÇÃO

O mirtilheiro (*Vaccinium ashei*) é uma espécie originária de regiões da Europa e da América do Norte. Seu consumo vem aumentando mundialmente, por ser uma fonte valiosa de compostos bioativos que promovem a saúde (MICHALSKA, 2015).

Atualmente o mirtilo é reconhecido como um dos principais alimentos mais saudáveis existentes, tornando-se uma das culturas com maiores projeções produtivas ecomerciais (LOBOS, HANCOCK, 2015).

No Brasil ainda é pouco conhecida, em vista disso, o pacote tecnológico utilizado pelos produtores tem sido adaptado de outros países e adequado às condições locais (CANTUARIAS-AVILÉS, 2014). A demanda pela fruta é maior que a oferta, tanto no mercado interno quanto externo, provavelmente, devido a fragilidade dos frutos e sua reduzida conservação pós-colheita (SPINARDI; AYUB, 2013).

A cv. Clímax é originária de Tifton, na Geórgia (EUA), pertence ao grupo Rabbitteye, apresenta frutos de sabor doce ácido, de tamanho médio, coloração azul e escura e polpa saborosa (PEREIRA et al., 2013). Dentre as cultivares utilizadas no Brasil, as principais pertencem ao grupo rabbitteye, sendo mais vigorosas quando comparadas às de outros grupos. Estudos recentes comprovam o potencial produtivo dessas cultivares em condições brasileiras (PASA et al., 2014).

A cv. Clímax desenvolve-se bem na região de Ponta Grossa (PR), Brasil, mas a dificuldade na obtenção das mudas devido ao baixo poder germinativo da semente e ao longo período de desenvolvimento da muda por estadia elevam o custo da muda, o que dificulta a expansão do cultivo (PASQUALINI; SANTOS; AYUB, 2016; SPINARDI; AYUB, 2013).

A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal é uma alternativa promissora e de baixo impacto ambiental para aumentar a eficiência do uso de fertilizantes químicos, garantindo elevadas produtividades com melhor relação custo-benefício (SPOLAOR, 2015). Dentre elas, o *Azospirillum brasilense* é um dos gêneros mais bem estudados, por ser capaz de colonizar centenas de espécies de plantas e melhorar seu crescimento, desenvolvimento e produtividade (CASSÁN; DIAS ZORITA, 2016).

Segundo Santos et al. (2017), a inoculação com *Azospirillum brasilense* induz o alongamento da raiz primária de cevada principalmente devido à sua capacidade de produzir e secretar fitormônios (indo1-3-40 ácido acético, citocininas e giberelinas) e óxido nítrico. Em

pesquisa com trigo, Stets (2015) concluiu que seu uso está relacionado aos efeitos de promoção do crescimento observados em plantas inoculadas, como o aumento do comprimento da raiz e o número de raízes laterais.

Em estudos com tomate, o uso de *Azospirillum brasilense* trouxe estímulo positivo no crescimento e estado nutricional das plantas, bem como no rendimento agrícola da cultura (ALFONSO; LEYVA; HERNADEZ, 2005). No morango o uso de *Azospirillum brasilense* resultou em efeitos positivos na promoção do crescimento, melhora da nutrição mineral e aumento da produção de frutas de diferentes cultivares (LOVAIZA et al., 2015).

O uso do *Azospirillum brasilense* em frutíferas perenes é pouco estudado, a partir disso então, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e produção do mirtilheiro inoculado com *Azospirillum brasilense*.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em Ponta Grossa com Latitude 25° 05' 49" S, Longitude 50° 03' 11" O e altitude de 969 m. Segundo a classificação de Köppen e Geiger o clima é Cfb, com temperatura média é 17,5 °C, pluviosidade média anual de 1600 a 1800 mm (GABARDO, 2015).



Figura 1. Figura 1. Implantação do experimento na Fazenda Escola Capão da Onça em Agosto de 2016. **Fonte:** a Autora.

A espécie utilizada foi a *Vaccinium ashei*, cv. Climax, do grupo Rabbiteye. As mudas de mirtilheiro são provenientes de um viveiro comercial em Vacaria (RS) e permaneceram em ambiente protegido por dois anos em vasos plásticos em Ponta Grossa (PR). Em agosto de 2016, as plantas foram transplantadas à campo, as covas foram preparadas com 0,40x0,40m, foi realizada análise de solo, onde acrescentou-se os elementos que se fizerem necessários, para uma correção de base, antes do plantio. Foi incorporado antes do plantio 5 kg de estrume curtido por cova. O espaçamento utilizado foi de 3 m entre linhas e 1,5 m entre plantas. O manejo do pomar foi realizado conforme recomendação da Embrapa para a cultura do mirtilheiro (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizado, com 3 tratamentos, 12 blocos, 4 repetições e 4 plantas por parcela, totalizando 144 plantas.



Figura 2. Plantio do mirtilheiro em setembro de 2016 na Fazenda Escola Capão da Onça (Ponta Grossa, PR).
Fonte: a Autora.

O inoculante utilizado foi o produto comercial GRAP NOD A, inoculante líquido, composto pela bactéria *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5/AbV6, células viáveis 2×10^8 a 10^9 UFC/ml e também o inoculante na forma estéril, sendo este autoclavado para verificação da presença de metabólitos secundários produzidos pela bactéria antes do processo de autoclavagem ou se a própria solução composta por aminoácidos, polissacarídeos, glicerol entre outros componentes atuaria como uma solução nutritiva para as plantas.

Os tratamentos foram: testemunha (T); *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 estéril (AZE) e *Azospirillum brasilense* AbV5/AbV6 ativo (AZ), sendo a dosagem definida conforme recomendação adaptada de Hadas e Okon (1987). Para o preparo da solução, foi efetuada a pesagem de 1 µl de AZ, adicionou-se à 999 microlitros de água destilada estéril, dissolvido em 50.000 µl para 48 plantas. A inoculação de AZ foi efetuada em cada repetição através um pequeno buraco de 10 cm próximo à raiz de cada planta onde a solução foi colocada. Para o tratamento com o AZE o procedimento foi o mesmo.

Com relação ao crescimento de plantas foram avaliados: números de ramos vegetativos (RV), folhas (NF) e área foliar (AF), sendo realizadas duas avaliações (setembro e dezembro/2016).

A AF foi estimada a partir da média de dez folhas coletadas aleatoriamente através do método da quadrícula utilizado por Reis (2000). Posteriormente, o valor médio desta área foi multiplicado pelo número total de folhas, obtendo-se assim, a área foliar final.

A colheita foi realizada no período de dezembro (2016) a fevereiro (2017), quando as frutas apresentavam coloração escura uniforme e presença de pruína. Foram analisados o número de frutos (NFRU), produção por planta (PP) e os valores de produtividade total do tratamento. Os frutos foram levados ao Laboratório de Biotecnologia aplicada à Fruticultura pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), onde posteriormente foram submetidos às avaliações físicas, como diâmetro (DM) e massa fresca (MF), e as análises químicas, como teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH e antocianinas (TA).



Figura 3. Ponto de colheita do mirtilo em dezembro/2016. Ponta Grossa (PR). **Fonte:** a Autora.

A determinação de MF (g) e DM (mm) foi realizada com balança digital SHIMADZU modelo ATX224 e paquímetro digital WESTERN PRO, respectivamente, sendo utilizadas 10 frutos por parcela.

Os frutos colhidos foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia aplicada à Fruticultura (LaBFrut), onde foram submetidas às análises químicas e físicas. Os frutos

escolhidos aleatoriamente, sendo dez frutos por amostra, foram macerados, e o analisou-se relação ao teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), com refratômetro manual Modelo 103 (Biobrix, São Paulo, Brasil) a acidez titulável (% de ácido málico) e o pH, foram analisados através de mini titulador modelo HI 84532 (Hanna, Woonsocket, Rhode Island, EUA) (IAL, 2008). Avaliou-se também o diâmetro de frutos com um paquímetro digital 6" (Western® PRO, China), a massa média dos frutos determinada com balança digital modelo ATX 224 (Shimadzu, Kyoto, Japão).



Figura 4. Determinação da acidez titulável. **Fonte:** a Autora.

Para TA, a metodologia seguida foi a descrita por Lee e Francis (1972). A leitura da amostra foi feita em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) a 535 nm para a determinação do teor de antocianinas, por 100 g de material vegetal. Para quantificação do teor de antocianinas utilizou-se a Equação 1 ($FD \cdot VA$) $\cdot 98,2^{-1}$, onde (VA) valor da absorbância e (FD) fator de diluição expresso em $mg\ 100g^{-1}$ de material fresco.



Figura 5. Preparação das amostras para análise de antocianinas dos frutos de mirtilheiro. **Fonte:** a Autora.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, seguidos da análise de variância, e se significativos submetidos ao teste de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade através do programa computacional SISVAR 5.6.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Número de folhas (NF), área foliar (AF) e ramos vegetativos (NR)

Na figura 6A com relação ao NF, foram 157 folhas/ planta para T, 207 folhas/ planta para AZE e 222 folhas/planta para AZ havendo um aumento de 41% para AZ quando comparado à T. Em ambas as variáveis estudadas, os tratamentos AZE e AZ apresentaram diferenças significativas em relação à T, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Porém não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Dessa forma, levantamos a hipótese de que o meio de cultura possivelmente forneceu os nutrientes necessários para as raízes do mirtilheiro, devido à produção de metabólitos secundários, sendo isto responsável pelo seu crescimento e ganho em NF e AF em AZE.

De acordo com Medeiros (2010), os mecanismos para que ocorra a associação endofítica são muito complexos e não conhecidos em sua totalidade, necessitando de maiores esclarecimentos para tal interação.

Na figura 6B a AF apresentou valores para T 1500 cm², 2.439,28 cm² e AZ 2.746,08 cm² em média, sendo estas diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tais valores coincidem com os encontrados por Bubanz et al. (2016), onde o tratamento com o *Azospirillum brasilense* ativo proporcionou maior área foliar e número de folhas em plantas de morangueiro inoculadas. Segundo Bartolini et al. (2017), o *Azospirillum brasilense* sp245 ocasionou incremento no desenvolvimento vegetativo de porta-enxertos e vinhas. Esse resultado não coincide com o encontrado por Saucedo et al. (2013), onde a inoculação com *Azospirillum brasilense* não aumentou o número de folhas nas plantas de morango (*Fragaria x ananassa* Duch).

Na figura 6C NR na testemunha (T) foram em média 6,5 ramos por planta O NR das plantas aumentou em 58% no tratamento com *Azospirillum brasilense* ativo (AZ), e em *Azospirillum brasilense* estéril (AZE) a média foi de 9 ramos por planta e em AZ, 9,5 ramos por planta em média, havendo aumento de 58% em AZ quando comparado à T, essas diferenças foram significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em um estudo com café, observou-se que de modo geral, no inverno, as raízes das plantas continuam fisiologicamente ativas, acumulando compostos nitrogenados como aminoácido e reguladores de crescimento, pois neste período ocorre menor crescimento da parte vegetativa sem que ocorra paralização do processo fotossintético, transportando-os para a parte aérea e contribuindo para o crescimento no início da primavera (MALAVOLTA et al., 2002). No caso de plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense*, a bactéria também fornece estes compostos às plantas, como descrito pela literatura, podendo ter ampliado neste trabalho.

4.5.2 Número de frutos (NF), massa fresca (MF) e diâmetro dos frutos (DF)

Na figura 7C a variável NF apresentou diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey no tratamento com AZ (2.151 frutos/planta), com aumento de 18% em relação aos demais tratamentos (T 1.817 frutos/planta e AZE 1.784 frutos/planta).

Na figura 7D, os resultados para MF dos frutos aumentaram aproximadamente 28% com o uso de AZ, sendo de 1,14 g fruto⁻¹ para a testemunha, 1,07 g planta⁻¹ para AZE e 1,47 g em AZ, com diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey estando na média dos valores encontrados na literatura. Podemos afirmar que o tratamento com a inoculação ativa de *Azospirillum brasilense* favoreceu um aumento da massa fresca de frutos assim como número de frutos.

Raseira e Antunes (2004) encontraram valores médios para MF de mirtilo de 1,8 g. Já Rodrigues (2006) encontrou valores de 1,0 a 1,5 g fruto⁻¹. Valores excepcionais foram encontrados em estudos com a cultivar Chandler em Portugal cuja massa fresca média foi de 3,2 g fruto⁻¹. A massa fresca dos frutos de mirtilo varia de 1,06 a 1,7 g fruto⁻¹ (GONÇALVES et al., 2016).

O DF não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, sendo em média 12,07 mm para T, 12,3mm para AZE e 12,6mm para AZ.

Antunes et al. (2008) determinaram o diâmetro médio dos frutos da cultivar Clímax em 14,5 mm. Pasa et al. (2014) em um estudo com mirtilos da cultivar Clímax, utilizando dois tipos de cobertura de solo, obteve valores para diâmetro médio dos frutos 14,35 mm a 16,56 mm.

4.5.3 Produtividade (PR) e produção média por planta (PP)

A produtividade média (figura 7a) apresentou diferenças significativas diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, entre os tratamentos sendo a T 1,16 t ha⁻¹, AZE 1,07 t ha⁻¹ e AZ 1,76 t ha⁻¹, demonstrando assim um incremento de 51% de AZ em comparação com T.

As cultivares do grupo *rabbiteye* são mais produtivas e vigorosas quando comparadas às do grupo *highbush* (PASA et al., 2014). Dentre elas, segundo Medeiros (2016), a cultivar mais produtiva em condição de inverno ameno é a Clímax, obtendo produções superiores a 0,50 kg planta⁻¹.

Conforme a figura 7b, a diferença entre as médias obtidas neste trabalho foram significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, para a produção por planta, onde T obteve 0,51 kg planta⁻¹, AZE 0,48 kg planta⁻¹ e AZ 0,79 kg planta⁻¹. O valor do tratamento com a inoculação ativa do *Azospirillum brasilense* corresponde aos valores encontrados por Antunes et al. (2008), onde PP obteve valor de 0,79 kg planta⁻¹. Os menores valores dos demais tratamentos podem ser traduzidos pelo estresse que as plantas sofreram no transplante e às condições de aclimação destas ao local do experimento.

4.5.4 Sólidos solúveis (SS), pH, acidez titulável (AT) e teor de antocianinas (TA)

Para a análise dos sólidos solúveis (SS), figura 6C, houveram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo observado para T 13,63 °Brix, AZE 12,05 °Brix e AZ 11,81 °Brix. Os sólidos solúveis presentes na polpa dos frutos incluem importantes compostos responsáveis pelo sabor, principalmente açúcares e ácidos orgânicos, sendo os açúcares os principais, representando cerca de 80% da matéria seca. Glicose e frutose são os principais açúcares presentes no mirtilo, os seus teores influenciam o sabor e são diretamente proporcionais à maturação dos frutos (MEDEIROS, 2016). Raseira e Antunes (2004), encontraram valores de 10 a 12,4° Brix em frutos de mirtilo. Medeiros (2016), em seu trabalho encontrou valores que variaram de 12,6 a 13,9 °Brix. Possivelmente como a testemunha apresentou menor número de frutos planta⁻¹, a concentração dos sólidos solúveis foi maior, diferindo dos demais tratamentos justamente por apresentaram aumento

significativo no número de frutos planta⁻¹, havendo maior competição entre estes órgãos por açúcares.

2016/2017

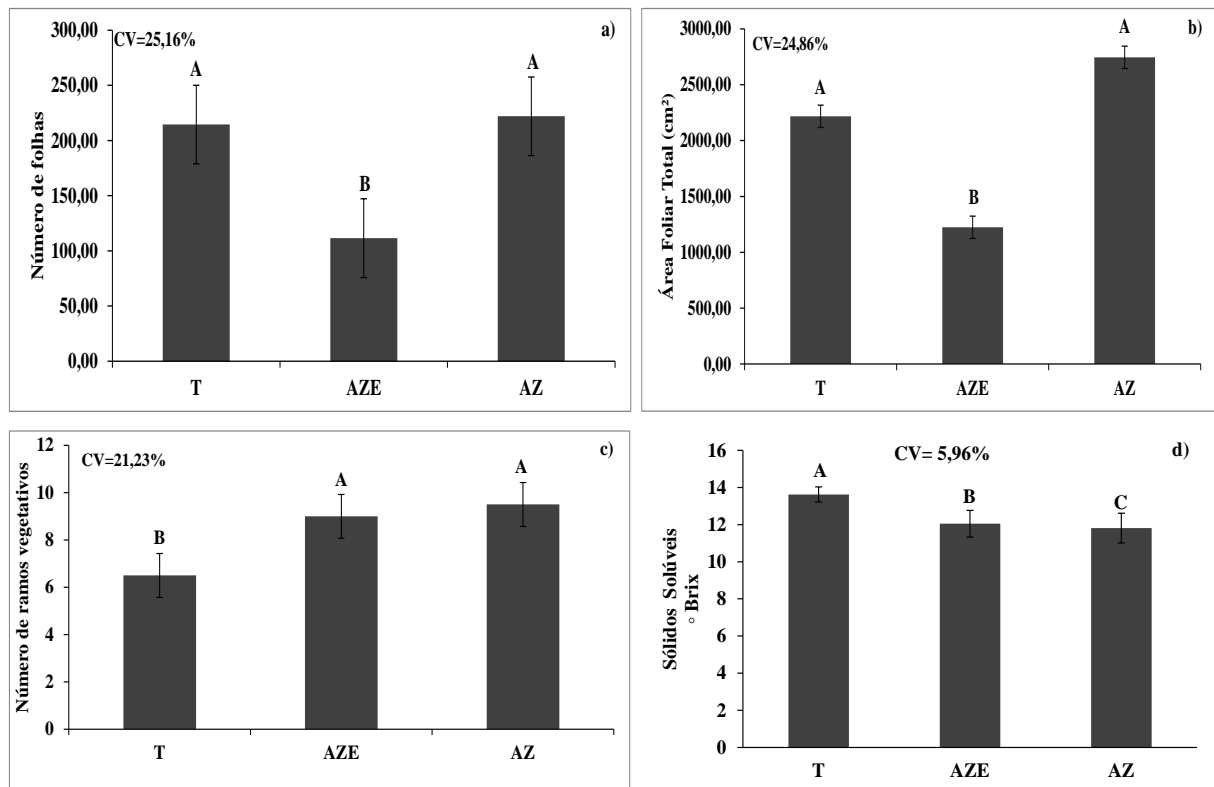


Figura 6. Médias dos tratamentos Testemunha (T), inoculação com *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 estéril (AZE) e *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 ativo (AZ) para as variáveis número de folhas (a), área foliar (b) e número de ramos vegetativos (c), características do crescimento vegetativo, e para sólidos solúveis (d), característica química dos frutos. Ponta Grossa (PR), 2016/2017. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Coeficiente de variação (CV).
Fonte: a Autora.

Os valores resultantes foram de T 2,65, AZE 2,60 e AZ 2,61, não diferindo estatisticamente entre si, coincidindo com os encontrados por Moraes et al. (2007), deste modo os frutos estão dentro do que se espera para a industrialização ou consumo in natura

A medida do potencial hidrogeniônico (pH) pode variar de acordo com fatores ambientais e fatores da própria planta, sendo importante para a avaliação da acidez dos frutos (MEDEIROS et al., 2009). Pelo valor do pH, podem ser estabelecidos critérios de acidez de maneira comparativa entre os frutos (SOUZA et al., 2010). O pH dos frutos de mirtilo apresenta de modo geral, valores abaixo de 4,5, que são considerados baixos quando comparados ao pH de outras frutas. Em um trabalho com a cultivar Bluegem, Moura et al. (2014) obtiveram valores que variaram de 3,03 a 3,08. Moraes et al. (2007) encontraram em

seu trabalho valores para pH em mirtilo que ficaram na faixa entre 2,56 e 2,67, valores similares aos encontrados no presente trabalho, sendo que os valores médios de pH não foram alterados pela inoculação.

Para AT nos frutos não houveram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo de 0,93% de ácido málico para T, 0,90% de ácido málico para AZE e 0,80% de ácido málico em AZ. Estes valores correspondem aos citados por Concenço et al. (2014) onde relata-se que a acidez total das frutas de mirtilo no momento da colheita devem estar entre 0,3 e 1,3% de ácido málico. Foram superiores aos encontrados por Rodrigues et al. (2011), onde a acidez titulável foi de 0,45 (% ácido málico) e também superiores aos valores encontrados por Antunes et al. (2008) com 0,78% em frutos da cultivar Woodward.

Segundo Medeiros et al. (2009), a acidez total titulável (AT) é uma característica importante para determinação da qualidade do fruto e é bastante variável em função tanto de fatores ambientais como de fatores da própria planta. A acidez é resultante dos ácidos orgânicos existentes no alimento, que influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade. Através de seus resultados pode-se obter informações sobre estado de conservação dos alimentos (SOUZA et al., 2010).

TA não apresentou diferenças estatisticamente significativas e seus valores foram de 78,51 em T, 71,33 em AZE e 107,07 em AZ. Inúmeros estudos são realizados com antocianinas, pigmentos também presentes em vinhos tintos, que demonstram a sua capacidade de captar radicais livres (atividade antioxidante) e seus efeitos na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias (KUCK, 2012). Sun et al. (2002) afirmam que a maior contribuição para a atividade antioxidante total de frutos se deve à composição de compostos fitoquímicos. Jacques et al. (2009) em seu trabalho encontrou os valores para teores de antocianinas nas cultivares Powder blue e Delite de 128,0 e 72,0 mg g⁻¹, respectivamente. Kechinski (2011) observou que os valores do teor de antocianinas variaram de 300 a 725 mg 100 g⁻¹. Pertuzatti (2009) e Rodrigues (2006) encontraram, respectivamente, em seus estudos sobre os teores de antocianinas no fruto de mirtilo os valores de 217,55 mg 100 g⁻¹ e variação de 124 a 157 mg 100 g⁻¹.

2016/2017

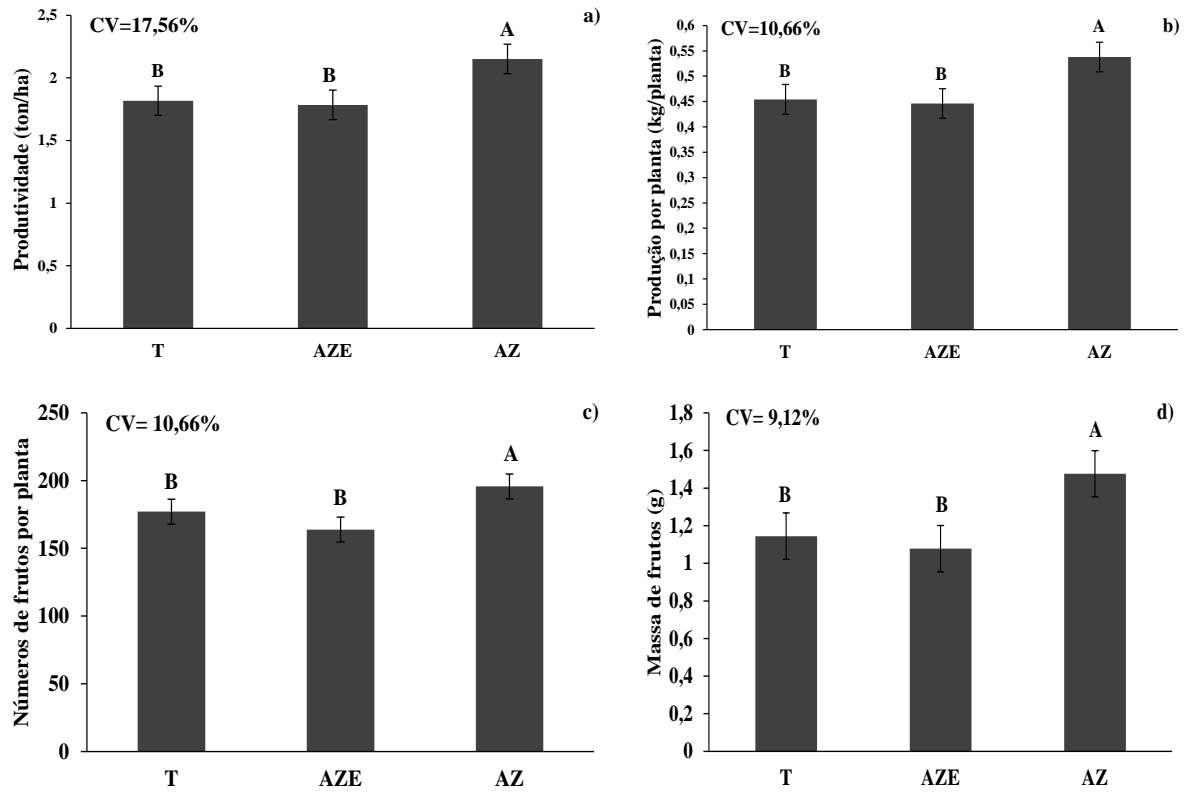


Figura 7. Médias dos tratamentos Testemunha (T), inoculação com *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 estéril (AZE) e *Azospirillum brasilense* AbV5 / AbV6 ativo (AZ) para as variáveis produtividade (a), produção por planta (b), número de frutos por planta (c) e massa fresca dos frutos (d). Ponta Grossa (PR), 2016/2017. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Coeficiente de variação (CV). **Fonte:** a Autora.

4.6 CONCLUSÃO

A inoculação favoreceu o crescimento de ramos vegetativos, aumentou o número de folhas e a área foliar das plantas inoculadas. A produção por planta e a produtividade das plantas inoculadas com o AZ foram superiores à produção da testemunha. AZ apresentou maior quantidade de frutos, com maior massa, porém com menor valor de sólidos solúveis. Numericamente, AZ apresentou diferença significativa aos demais tratamentos. Como pode-se observar, houve incremento nas variáveis avaliadas com inoculação tanto do AZ como do AZE, sendo que AZ confirma o que a literatura tem demonstrado, que AZ estimula o crescimento e desenvolvimento de plantas. Em função dos resultados positivos obtidos neste trabalho, são necessários mais estudos da interação da planta com o AZ.

5 CAPÍTULO II – CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MIRTILEIRO CV. CLIMAX INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* COM ADUBAÇÃO NITROGENADA

5.1 RESUMO

As condições edafoclimáticas apresentam forte influência na cultura do mirtilheiro. Alto índice de precipitação altera a produção e a composição do fruto do mirtilheiro. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 6 tratamentos, 4 repetições, e 4 plantas por parcela, totalizando 144 plantas, os tratamentos foram: T1 testemunha absoluta, T2 testemunha com nitrogênio, T3 *Azospirillum brasilense* estéril, T4 *Azospirillum brasilense* estéril com nitrogênio, T5 *Azospirillum brasilense* ativo e T6 *Azospirillum brasilense* ativo com nitrogênio. Com relação ao crescimento de plantas, avaliou-se: números de ramos vegetativos (RV), número de folhas (NF) e área foliar (AF). Foi realizada a determinação da fotossíntese, condutância estomática e taxa de transpiração. A colheita foi realizada no período de dezembro (2017) a janeiro (2018). Analisou-se o número de frutos (NFRU), a produção por planta (PP) e os valores de produtividade total do tratamento. Os frutos foram submetidos às avaliações físicas, como diâmetro (DM) e massa fresca (MF), e as análises químicas, como teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH, antocianinas (TA) e polifenóis (PF). Os tratamentos com aplicação do nitrogênio não obtiveram resultados significativos comparados aos demais. Há necessidade de mais estudos sobre a interação do mirtilheiro, do *Azospirillum brasilense* e condições edafoclimáticas.

Palavras-chave: mirtilo, bactéria promotora de crescimento, nitrogênio, qualidade do fruto.

5.2 ABSTRACT

The edaphoclimatic conditions have a strong influence on the bluebird culture. High precipitation index changes the production and composition of the myriad fruit. The experimental design was in randomized blocks with 6 treatments, 4 replicates, and 4 plants per plot, totaling 144 plants, treatments were: T1 absolute control, T2 control with nitrogen, T3 *Azospirillum brasilense* barren, T4 *Azospirillum brasilense* barren with nitrogen, T5 *Azospirillum brasilense* active and T6 *Azospirillum brasilense* active with nitrogen. Regarding the growth of plants, we evaluated: numbers of vegetative branches (RV), number of leaves (NF) and leaf area (FA). The determination of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration rate were performed. The harvest was carried out in the period from December (2017) to January (2018). The number of fruits (NFRU), the yield per plant (PP) and the total productivity of the treatment were analyzed. The fruits were submitted to physical evaluations, such as diameter (DM) and fresh mass (DM), and chemical analyzes, such as soluble solids (SS), titratable acidity (TA), pH, anthocyanins (TA) and polyphenols). The treatments with nitrogen application did not obtain significant results compared to the others. There is a need for further studies on the interaction of bluebird, *Azospirillum brasilense* and edaphoclimatic conditions.

Keywords: blueberry, growth promoting bacteria, nitrogen, soil and fruit quality.

5.3 INTRODUÇÃO

O mirtilheiro pertence à família Ericaceae e ao gênero *Vaccinium*, é uma fruta nativa do hemisfério norte, arbusto lenhosa, perene. Mirtilheiros do grupo Rabbiteye podem atingir até os 6 metros de altura. As plantas de mirtilheiro podem apresentar longevidade, chegando a alcançar 50 anos com boas produtividades em condições edafoclimáticas e fitossanitárias ideais (GASPAR, 2017).

Nos Estados Unidos e no Canadá, maiores produtores e consumidores da fruta, o cultivo do mirtilheiro já é consolidado (SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2017). Segundo Sezerino et al. (2017), o mirtilheiro é uma espécie exótica no Brasil, que vem ganhando importância econômica devido à demanda pelos frutos, sendo que nas últimas duas décadas, houve um crescimento significativo da área de cultivo e da produção destes no mundo. De 1990 a 2014, a área mundial plantada aumentou de 47.418 ha para 95.195 ha, enquanto a produção de frutos subiu de 135.547 toneladas em 1990 para 525.620 toneladas em 2014 (FAOSTAT, 2017).

Para Radünz et al. (2016), o cultivo do mirtilheiro está em franca expansão em países como Chile, Argentina e Uruguai, com área de produção de aproximadamente 6.500 ha, em decorrência principalmente das oportunidades no mercado de pequenas frutas, devido à demanda da entressafra de países do hemisfério norte como os Estados Unidos.

O grupo Rabbiteye, no qual a cultivar Clímax é classificada, destaca-se das demais em área de cultivo no Brasil devido ao elevado vigor, longevidade das plantas, alta produtividade, tolerância à seca e ao calor, baixa exigência ao frio, período longo entre floração e maturação, maior conservação pós-colheita e frutos com maior firmeza (SPINARDI; AYUB, 2013).

O consumo de mirtilos no Brasil é pequeno e a produção concentra-se no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e sul de Minas Gerais. Dentre os fatores que limitam a expansão da produção do mirtilheiro no Brasil estão as condições climáticas, as dificuldades no manejo e a falta de mudas de boa qualidade (SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2017). Sua adaptação no Paraná e as características dos frutos cultivados nessa região ainda necessitam de maiores estudos (CONGRESSO BRASILEIRO DE PROCESSAMENTO MÍNIMO E PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, FLORES E HORTALIÇAS, 2015).

Aspectos importantes do fruto do mirtilheiro são suas características nutracêuticas e o alto potencial antioxidante, benéficos à saúde. Entretanto, para gerar oportunidades de

negócio para o setor produtivo brasileiro, deve haver a adoção de tecnologia para a produção e a utilização de cultivares adequadas às regiões produtoras (RADÜNZ et al., 2016).

As antocianinas são provavelmente o pigmento visível mais importante em plantas após a clorofila. Encontram-se em algumas flores, frutas e vegetais e são responsáveis pelas cores vermelha, roxa e azul. Sua lista de potenciais benefícios à saúde inclui entre outros, a redução do desenvolvimento de tumores em roedores e a prevenção de danos oxidativos ao DNA, redução do risco de doença cardiovascular; redução da proliferação de células cancerígenas e inibição da formação de tumores (LIN; FISCHER; WICKER, 2016).

O sistema radicular dos mirtilheiros é bastante superficial e compacto sendo formado por raízes finas, com menos de 1 mm de diâmetro, que tem como principal função a absorção de água e nutrientes; raízes mais grossas com até 1 cm de diâmetro têm a função de suporte, fixação do solo e até mesmo de reserva de carboidratos para uma posterior utilização por parte da planta. Essa característica das raízes tem influência negativa na capacidade de absorção de nutrientes por parte da planta (GASPAR, 2017).

No manejo da cultura do mirtilheiro, devido à falta de informações, as recomendações atualmente são realizadas com base em pesquisas resultantes de outras regiões produtoras tradicionais, principalmente no que quesito fertilidade. A nutrição das plantas é essencial para o desenvolvimento do mirtilheiro, sendo bastante específica e diferenciada. A recomendação de fertilizantes deve levar em conta as necessidades da planta, a taxa de crescimento e as condições ambientais. Entre os nutrientes utilizados pelas plantas o nitrogênio (N) é o mais requisitado sendo absorvido pelas raízes como nitrato ou sais de amônio (LEITZKE et al., 2015).

A aplicação deve ser realizada em taxas consideradas ideais e no momento adequado para uma absorção eficiente e para evitar perdas. Segundo a Comissão de Química e Fertilidade do Solo RS / SC (2004), uréia, sulfato de amônio e nitrato de amônio são consideradas as principais fontes de fertilizantes nitrogenados. A mesma comissão recomenda que a fertilização nitrogenada para o mirtilheiro, baseado em crescimento e produção, devem ter níveis reduzidos no primeiro ano (10 g de N por planta); no quinto ano 30 g de N por planta e a partir do nono ano 60 g de N por planta (AMARAL et al., 2018).

De acordo com Gaspar (2017), associações com microrganismos podem auxiliar a planta na absorção de nutrientes, assumindo o papel dos pelos radiculares. Então devido a essa baixa capacidade de absorção de nutrientes pelas raízes do mirtilheiro, alternativas devem

ser buscadas para aumentar a capacidade de retenção de cargas no solo que propiciem o estabelecimento e desenvolvimento de microrganismos benéficos (SANTANA, 2016).

As bactérias conhecidas como promotoras de crescimento vegetal possuem habilidade em converter nitrogênio atmosférico em amônia. Em razão de sua capacidade de sobreviver em ambientes deficientes em nitrogênio, podem enriquecer seletivamente a rizosfera, local em que habitam como organismos de vida livre ou associadas de forma simbiótica às plantas (KUSS et al., 2007).

Plantas não leguminosas e bactérias diazotróficas realizam entre si associações podendo ocorrer fixação de nitrogênio associativa, uma vez que essas bactérias possuem a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos das plantas sem, contudo, causarem sintomas de doenças. Essas bactérias podem desempenhar importante papel no crescimento e desenvolvimento das plantas, pois além de incorporarem nitrogênio por meio da fixação biológica, produzem e liberam substâncias reguladoras do crescimento vegetal, atuam na solubilização de fosfatos, podem aumentar os teores de C orgânico e do N do solo, além de contribuírem com a retenção de nutrientes na rizosfera das plantas. Dentre elas, destacam-se aquelas pertencentes ao gênero *Azospirillum* sp. (SILVA et al., 2017).

Cote et al. (2017) em estudos com tomate, avaliando o efeito da inoculação com *Azospirillum* sp. e adubação nitrogenada (170 kg ha⁻¹ e 255 kg ha⁻¹) sobre as variáveis crescimento, produção e qualidade dos frutos, concluiu que a inoculação com *Azospirillum* sp. favoreceu o crescimento e a fisiologia das mudas e aumentou significativamente a taxa de alocação líquida e a taxa de crescimento relativo.

Os frutos colhidos de plantas inoculadas e adubada com 255 kg de N ha⁻¹, apresentaram alto teor de potássio, sugerindo que a inoculação com o *Azospirillum* sp. contribui para o crescimento e produção da cultura em condições intensivas, o que poderia reduzir a contaminação do solo por agroquímicos (COTE et al., 2017).

Jiménez-Gómez et al. (2017) em sua revisão sobre o aumento da qualidade de frutos e hortícolas associados ao uso de bactérias relatam que em um estudo sobre cultivo de banana utilizando-se inoculação com *Azospirillum brasilense* Sp7 e *Bacillus sphaericus* associado à adubação nitrogenada concluíram que as inoculações com *Azospirillum brasilense* Sp7 e *Bacillus sphaericus* melhoraram a produção de frutos e a qualidade dos frutos sob condições reduzidas de fertilizantes. Houve aumento de N, P, K, Ca e Mg, nos tratamentos com inoculação, recomendando assim que a inoculação com essas referidas espécies poderiam ser utilizadas como biofertilizantes para melhorar a produção e a qualidade da banana.

O uso de *Azospirillum* sp. em um estudo com quiabo, resultou em maior diâmetro de frutos, sendo a hipótese para esse resultado a maior oferta de nutrientes que aumentaram a produção, translocação e acúmulo de fotossintatos e um aumento no suprimento de nitrogênio, resultando em melhora da atividade fotossintética da planta, produzindo assim frutos com maior diâmetro, e simultaneamente com maior massa fresca sob o mesmo tratamento. Isso pode ser devido ao aprimoramento da absorção de água e nutrientes devido à inoculação com *Azospirillum* sp., concluindo que o aumento da área fotossintética e aumento da translocação de fotossintatos subsequentemente aumentaram o peso da fruta (KUMAR, 2018).

Spolaor (2016) salienta que a fixação do nitrogênio pelo *Azospirillum brasilense* consegue suprir apenas parte do N necessário para as plantas de trigo e milho, fazendo-se necessária a adubação nitrogenada para a obtenção de bons resultados. Embora em alguns casos, segundo o autor onde a simples inoculação permite a obtenção de bons rendimentos ou de ganhos em crescimento das culturas.

A massa seca vegetal (cerca de 90%) é composta por fotoassimilados. A quantidade total de carbono fixada e disponível ao metabolismo vegetal, é determinada pela taxa fotossintética, baseada em fatores intrínsecos à planta, como nível de inserção da folha, idade da folha e fatores extrínsecos à planta, como irradiância, água no solo, temperatura e nutrientes (TEIXEIRA et al., 2005).

Um dos fatores que afetam o funcionamento dos estômatos e resulta em alterações no comportamento da transpiração e condução estomática é o potencial hídrico (TONELO, TEIXEIRA FILHO, 2012). A intensidade da transpiração depende ainda de fatores intrínsecos como área superficial, distribuição e número dos estômatos e de fatores extrínsecos como: luz, umidade do ar, temperatura e disponibilidade de água no solo (SUASSUNA, et al, 2014). Além disso a transpiração é um processo que envolve a evaporação da água das células do mesófilo para os espaços intercelulares das folhas, sendo que o vapor de água das folhas é difundido para o ar fora da folha (TAIZ, 2017). Em uma situação de boa disponibilidade de água, as plantas cultivadas geralmente apresentam altas taxas de transpiração (RIBEIRO, et al., 2015).

Como a interação entre a utilização de *Azospirillum*, frutíferas e adubação nitrogenada em mirtilheiros é pouco estudada, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e produção de plantas de mirtilheiro cv. Clímax inoculadas com *Azospirillum brasilense* e utilizando-se adubação nitrogenada, levando em conta fatores abióticos que interferem no desenvolvimento do mirtilheiro.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em Ponta Grossa com Latitude 25° 05' 49" S, Longitude 50° 03' 11" O e altitude de 969 m, segundo a classificação de Köppen e Geiger o clima é Cfb, com temperatura média de 17.5 °C e pluviosidade média anual de 1600 a 1800mm (GABARDO, 2015).

A espécie utilizada é a *Vacinium ashei*, cv. Climax, do grupo Rabbiteye. Em agosto de 2016, as mudas foram transplantadas à campo. O manejo do pomar foi realizado conforme recomendação da Embrapa para a cultura do mirtilheiro (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

O inoculante utilizado foi o produto comercial GRAP NOD A, inoculante líquido, composto pela bactéria *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5/AbV6, células viáveis 2×10^8 à oitava Ufc/ml, e também o inoculante na forma estéril, sendo este autoclavado para verificação da presença de metabólitos secundários produzidos pela bactéria antes do processo de auto clavagem ou se a própria solução composta por aminoácidos, polissacarídeos, glicerol entre outros componentes atuaria como uma solução nutritiva para as plantas.

O delineamento experimental foi em blocos casualizado, com 6 tratamentos, 6 repetições e 4 plantas por parcela, totalizando 144 plantas. Os tratamentos foram: T1 testemunha; T2 testemunha com nitrogênio (8 gramas de nitrogênio); T3 *Azospirillum* estéril (AZE); T4 *Azospirillum* estéril com nitrogênio (8 g de N); T5 *Azospirillum* ativo (AZ) e T6 *Azospirillum* ativo com nitrogênio (8 g de N). A quantidade de adubo utilizada por planta foi determinada conforme recomendações da literatura, adaptadas ao mirtilheiro e condições do experimento. O espaçamento utilizado foi de 3 m entre linhas e 1,5 m entre plantas. A dosagem foi definida conforme recomendação adaptada de Hadas e Okon (1987). Para o preparo da solução, foi efetuada a pesagem de 1 µl de AZ, estirpes AbV5 e AbV6 (Grap nod), onde posteriormente adicionou-se 999 microlitros de água destilada estéril, completando-se 50 microlitros para 48 plantas. A inoculação de AZ foi efetuada em cada repetição, através de um pequeno buraco de 10 cm próximo à raiz de cada planta para que a solução fosse pipetada com pipeta Eppendorf. Para o tratamento com o AZE o procedimento foi o mesmo.

Com relação ao crescimento de plantas avaliou-se: número de ramos vegetativos (RV), número de folhas (NF) e área foliar (AF), sendo realizadas duas avaliações (setembro e dezembro/2017). Foi realizada a determinação da fotossíntese, condutância estomática e a taxa de transpiração em três avaliações (25/10/2017, 27/01/2018 e 16/03/2018).

A AF foi estimada a partir da média de dez folhas coletadas aleatoriamente através do método da quadrícula citado por Reis (2000). Posteriormente, o valor médio desta área foi multiplicado pelo número total de folhas, obtendo-se assim, a área foliar final.

A colheita foi realizada no período de dezembro (2017) a janeiro (2018), quando as frutas apresentavam coloração escura uniforme e presença de pruína. Analisou-se o número de frutos (NFRU), a produção por planta (PP) e os valores de produtividade total dos tratamentos. Os frutos foram levados ao Laboratório de Biotecnologia aplicada à Fruticultura pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), onde posteriormente foram submetidos às avaliações físicas, como diâmetro (DM) e massa fresca (MF), e as análises químicas, como teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH, antocianinas (TA) e polifenóis (PF).

A determinação de MF (g) e DM (mm) foi realizada com balança digital SHIMADZU modelo ATX224 e paquímetro digital WESTERN PRO, respectivamente, sendo utilizadas 10 frutos por parcela.

Os frutos foram submetidas às análises químicas e físicas. Selecionou-se dez frutos por amostra, os frutos foram macerados, e o analisou-se relação ao teor de sólidos solúveis (°Brix), com refratômetro manual Modelo 103 (Biobrix, São Paulo, Brasil) a acidez titulável (% de ácido málico) e o pH, foram analisados através de mini titulador modelo HI 84532 (Hanna, Woonsocket, Rhode Island, EUA) (IAL, 2008). Avaliou-se também o diâmetro de frutos com um paquímetro digital 6” (Western® PRO, China), a massa média dos frutos determinada com balança digital modelo ATX 224 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

Para TA, a metodologia seguida foi a descrita por Lee e Francis (1972). A leitura da amostra foi feita em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão) a 535 nm para a determinação do teor de antocianinas, por 100 g de material vegetal. Para quantificação do teor de antocianinas utilizou-se a Equação 1 $(FD \cdot VA) \cdot 98,2^{-1}$, onde (VA) valor da absorbância e (FD) fator de diluição expresso em mg/100 g de material fresco.

Para a determinação de polifenóis foi seguida a metodologia de Singleton e Rossi (1965), adaptada, utilizando-se o reagente de Folin Ciocalteu e uma curva de calibração de ácido gálico. Realizou-se a reação com o reagente, em um tubo de ensaio adicionou-se 7,9 ml de água destilada, 0,1 ml da solução padrão, 0,5 ml do reagente e após 3 minutos 1,5 ml de solução de carbonato de cálcio à 20%. Após homogeneização das amostras que permaneceram

no escuro por 2 horas, realizou-se a leitura da absorbância das amostras em comprimento de 535 nm em espectrofotômetro modelo UV 1650 PC (Shimadzu, Kyoto, Japão). Para as leituras obtidas, ajustou-se uma curva de regressão linear.

Para determinação da fotossíntese, condutância estomática e taxa de transpiração foram escolhidas folhas saudáveis, que não apresentassem nenhum tipo de dano ou deformação, sendo utilizado o analisador de gás infravermelho – IRGA – *Infrared Gas Analyser*, modelo LICOR 6400. Foram analisadas as variáveis condutância estomática (Gs em $\text{mol}^2 \text{s}^{-1}$), a eficiência do uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) e a fotossíntese. As avaliações foram realizadas nos estádios de floração (25/10/2017), colheita (27/01/2018), e após a colheita (16/03/2018).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, seguida da análise de variância, e se significativas submetidas ao teste de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade através do programa computacional SISVAR 5.6.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5.1 Determinação da taxa de fotossíntese (TF), condutância estomática (CE) e taxa de transpiração (TT)

Na colheita, no mês de janeiro, não houve diferença para nenhuma das variáveis, obtendo as seguintes médias; para fotossíntese 6,897, para a condutância estomática 0,32 mol m² s⁻¹ e no uso efetivo da água obtivemos uma média de 8,92 (mmol H₂O). Para a leitura realizada após a colheita, houve diferença significativa em todas as variáveis avaliadas, sendo observado melhor resultado para T4 em relação à condutância estomática (figura 10d), e foram observados melhores resultados no T6 (*Azospirillum brasilense* ativo com nitrogênio).

Nas situações onde há baixa disponibilidade de água no solo as plantas reduzem a perda de água ao reduzir a condutância estomática. Houve diferença significativa na condutância estomática (CE) no estágio de floração, sendo encontrada uma maior eficiência para o T6 (*Azospirillum brasilense* ativo com nitrogênio).

Na colheita, no mês de janeiro, não houve diferença para nenhuma das variáveis. Para a leitura realizada após a colheita, houve diferença significativa em todas as variáveis avaliadas, sendo observado melhor resultado para o T4(*Azospirillum brasilense* estéril) na fotossíntese e eficiência do uso da água, e em relação à condutância estomática, foram observados melhores resultados no T6 (*Azospirillum brasilense* ativo com nitrogênio).

Os processos fisiológicos mais importantes são diretamente relacionados com a condição hídrica das plantas. Processos como transpiração, fotossíntese, respiração e crescimento são influenciados pelas mudanças ocorridas no estado hídrico das folhas (OLIVEIRA; FERNANDES; RODRIGUES, 2005). As folhas do mirtilheiro são os principais órgãos para produção de fotoassimilados, mas também são importantes por perceberem as mudanças no comprimento do dia (RANDUNZ, 2017). A capacidade fotossintética é progressivamente reduzida em condições de estresse hídrico. O alagamento do solo resulta em restrições ao cultivo de diversas espécies pela falta de adaptação às condições que estes tipos de solo apresentam, levando à baixa disponibilidade de oxigênio ao sistema radicular (MARTINAZZO et al., 2012).

Qualquer tipo de adaptação, morfológica ou fisiológica que a planta enfrente irá influenciá-la como um todo. A produtividade e a estabilidade da cultura são afetadas pelas

condições ambientais, alterando conseqüentemente, a capacidade de uma dada área foliar fotossintetizar. Desta forma os fatores que influenciam e condicionam o desenvolvimento vegetativo e a maturação seriam: luz, temperatura, água e nutrientes, sendo necessário conhecer as respostas morfofisiológicas das espécies ao ambiente para a determinação das práticas de manejo a serem adotadas (GUARDA; CAMPOS, 2014).

O funcionamento dos estômatos controla a absorção de CO₂ e a área foliar determina a interceptação de luz, influenciando a produtividade do vegetal. O potencial de água da folha indica o seu estado energético, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera de modo que, variações no potencial hídrico da folha podem afetar a assimilação do carbono da planta.

A assimilação de carbono deve ser suficiente para os processos de maturação dos frutos (SOUZA et al., 2016). Estudos com cranberries para determinar os efeitos do encharcamento do solo nas trocas gasosas demonstraram que no florescimento, houve redução da fotossíntese passou a ser significativa apenas a partir do quinto dia, enquanto não houve redução no estágio de desenvolvimento dos frutos. Os resultados demonstram que condições de solo hipóxico de curto prazo podem alterar o intercâmbio de gás dependendo do estágio de crescimento da planta (PELLETIER, 2016).

5.5.2 Número de ramos vegetativos (NR) e de folhas (NF) e área foliar (AF)

A média para a variável número de ramos (NR) foi de 13,3 não havendo diferença significativa entre as médias dos tratamentos. Comparando-se aos valores obtidos na safra anterior, pode-se observar que houve aumento de número de ramos para todos os tratamentos. Como houve aumento para a testemunha podemos concluir que este acréscimo foi devido ao crescimento normal da planta.

No trabalho realizado por Silva et al. (2004) com *Azospirillum brasilense* inoculado em sementes de cevada e trigo observou-se maior desenvolvimento da planta, o que nos leva a supor que a inoculação com a bactéria em questão em condições adequadas de clima altera positivamente o desenvolvimento da planta.

Para o número de folhas (NF) não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo a média obtida 372,3 folhas. Comparando-se aos valores encontrados na safra anterior, houve aumento em todos os tratamentos, visto que houve também aumento de número de ramos.

Para área foliar (AF) a média obtida foi 1.109,8 cm², não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

A inoculação bacteriana em um estudo com plantas de morango mostrou melhora na área foliar e peso seco da parte aérea devido ao reforço na fixação de nitrogênio, melhor absorção de nutrientes, especialmente N (RUEDA et al., 2016).

A área foliar é utilizada para avaliar fisiologicamente as plantas e depende do número e tamanho das folhas. É utilizada como parâmetro indicativo de produtividade, pois o processo fotossintético depende da interceptação da energia luminosa e da sua conversão em energia química. Área foliar é definida pela relação entre o total de uma das faces do tecido fotossintético e a superfície ocupada pela planta (ANTUNES JÚNIOR et al., 2009). Resultado inverso às variáveis anteriores, o número de folhas diminuiu comparando-se à safra anterior, sendo possível concluir que o maior número de ramos e de folhas levaram ao menor tamanho das folhas.

Em outro estudo em morango, os resultados mostraram que *Azospirillum brasilense* foi capaz de exercer efeitos benéficos em plantas de morango, reforçando suas características fisiológicas e celulares, o que contribuiu para melhorar o desempenho das plantas (GUERRERO-MOLINA et al., 2014).

5.5.3 Número de frutos (NF), massa fresca de frutos (MF) e diâmetro de frutos (DF)

A média obtida para NF foi de 54,6 frutos não apresentando diferença significativa entre os tratamentos. Estes valores foram significativamente inferiores aos da safra anterior. O número de colheitas foi reduzido uma vez que após o período de chuvas, houve alagamento em toda a área do pomar, causando stress nas plantas e resultando em menor produção. De acordo com Antunes et al. (2008), a média para número de frutos na cultivar Clímax foi de 250 frutos por planta

A média para MF foi de 2g não havendo diferença significativa entre os tratamentos, mas sendo superiores a 1,8 g encontrado por Raseira e Antunes (2008). Comparando-se com os valores obtidos no ano anterior houve aumento do tamanho dos frutos. Isto poderia colaborar para alteração da relação fonte e dreno, ou seja, com a menor produção os frutos poderiam apresentar maior tamanho e massa de matéria fresca mesmo com menor produção

de frutos (RASEIRA; ANTUNES, 2008). Isto pode ter sido potencializado pela ação do *Azospirillum brasilense* na planta através da inoculação (MEDEIROS, 2016).

A média do DF foi de 11,03 mm, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos, corroborando com Raseira e Antunes (2004) cujo estudo obteve média de diâmetro dos frutos variando de 10 a 17 mm.



Figura 8. Excesso de chuva e encharcamento do pomar na Fazenda Escola Capão da Onça. Ponta Grossa (PR), 2017. **Fonte:** a Autora.

5.5.4 Produtividade (PR) e produção por planta (PP)

A produção desta safra foi extremamente baixa, sendo $0,033 \text{ kg planta}^{-1}$. Os valores para produtividade foram $0,11 \text{ t ha}^{-1}$. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para nenhuma das variáveis.

Lino (2018), em seu trabalho, conclui que a diferença entre uma safra e outra pode ser consequência de fatores intrínsecos à própria adaptação, como variações climáticas locais. Em condições de estresse, a energia destinada ao desenvolvimento da planta é despendida para manter mecanismos celulares e bioquímicos de tolerância ao estressor, em detrimento do crescimento, reduzindo o coeficiente de rendimento microbiano o que poderia tentar elucidar em parte os resultados obtidos nesta safra.

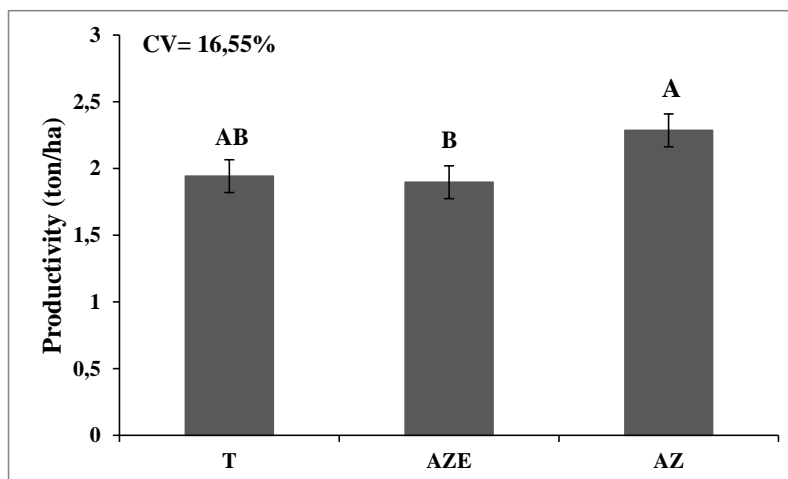


Figura 9. Produtividade acumulativa das safras 2016/2017 e 2017/2017. Coeficiente de variação (CV). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. **Fonte:** a Autora.

Quando se comparou a produtividade das duas safras (figura 9), observamos que AZ diferiu estatisticamente de AZE, mas não de T, mas numericamente o tratamento com AZ foi superior aos demais.

Podem haver também problemas relacionados à polinização que em cultivares do grupo *rabbiteye* resultam em baixa frutificação. 80% das flores de mirtilo devem frutificar para que se tenha uma produção comercial satisfatória (SZERINO, 2007). O experimento é constituído exclusivamente da cultivar Clímax, o que pode ter contribuído também a baixa produtividade desta safra.

A produtividade do mirtilo varia conforme a cultivar e região de cultivo, ficando entre 6 e 10 toneladas por hectare (SILVEIRA, 2008). Segundo Medeiros (2016), em seu trabalho, a cultivar Clímax produziu em média $0,59 \text{ kg planta}^{-1}$, necessitando menos horas de frio que outras cultivares do grupo *rabbiteye*.

Novamente, em um estudo com morango em tratamentos inoculados com *Azospirillum brasilense* e nitrogênio 50% ou nitrogênio 100% houve aumento de 5,2% e 7,3% da produção de frutos, respectivamente, em relação às plantas controle. Portanto, pode-se inferir que a expressão dos benefícios da inoculação com *Azospirillum brasilense* na produção de frutos é melhor expressa quando a disponibilidade de N no solo é reduzida. Isso também está de acordo com os valores do índice de crescimento observados neste trabalho. Assim, o *Azospirillum brasilense* estaria fornecendo nitrogênio às necessidades das plantas através de seus diferentes mecanismos de ação (LOVAISA et al., 2016). No entanto, Silva e Melloni

(2011) relataram que estresses físicos como baixa umidade do solo, como ocorreu neste experimento devido à um período grande sem chuvas, podem desfavorecer a atividade da bactéria na planta e no solo. Segundo Randunz et al. (2016), deve-se salientar que, conforme visto, os elementos climatológicos podem atuar de maneira diferente, de acordo com o estágio de desenvolvimento em que se encontra a planta, determinando o potencial de produção do mirtilheiro, corroborando com os valores encontrados neste trabalho. Posteriormente à seca, houve excesso de chuvas, resultando em alagamento da área do pomar em estudo no período reprodutivo da planta, alteraram significativamente as variáveis físicas do trabalho, ainda mais quando comparadas aos valores encontrados na safra anterior onde as condições climáticas foram favoráveis ao cultivo do mirtilo.

Quando se comparou a produtividade das duas safras, observou-se que AZ diferiu estatisticamente de AZE, mas não de T, mas numericamente o tratamento com AZ foi superior aos demais.

5.5.5 Sólidos solúveis (SS), pH, acidez titulável (AT), teor de antocianinas (TA) e teor de polifenóis (TP)

As determinações de teor de sólidos solúveis, pH e acidez contribuem para a apreciação objetiva do sabor dos frutos. O pH, geralmente inferior a 4,5 aumenta com o decorrer do amadurecimento e influencia as características sensoriais e a capacidade de conservação dos frutos (SILVEIRA; VARGAS; ROSA, 2007).

A média encontrada neste trabalho para SS (Figura 10a) foi 12,5 °Brix sendo T1, T2 e T5 significativamente superiores à T3 e T4 e não havendo diferença significativa entre eles e T6, se mantendo em níveis de acordo com o trabalho citado acima. Medeiros (2016), encontrou em seu estudo valores de 13-14° Brix. O teor de sólidos solúveis da cultivar Clímax encontrado por Antunes e Raseira (2006) variou de 10° a 12,4 °Brix.

A média encontrada para o pH foram 3,17, não havendo diferença significativa entre elas. Alguns trabalhos mostraram que o pH da fruta in natura é importante na retenção de antocianinas, uma vez que em $\text{pH} < 3,0$ estes componentes são mais estáveis frente a fatores que aceleram sua decomposição (CONCENÇO et al., 2014).

O valor médio encontrado para AT1 (figura 10b) no presente trabalho foi 0,38 de ácido málico, sendo T5 significativamente superior à T1, T2, T3 e T4 não havendo diferença

significativa entre T5 e T6. A acidez titulável é medida como um índice global de qualidade das frutas. Segundo Pertuzatti (2009), a acidez titulável de algumas cultivares de grupo *Rabbiteye* variou de 0,05-0,1% de ácido málico, em frutos colhidos na safra de 2007/2008. Raseira e Antunes (2004) determinaram valores em média de 0,4-0,5%, valores também determinados por Medeiros (2016). O pH e acidez da polpa da fruta são parâmetros utilizados para indicar a qualidade dos frutos e refletem o estágio de maturação dos mesmos (SANTANA et al., 2004).

O valor médio obtido para TA (figura 10c) foi 156,8 mg 100 g⁻¹ sendo T3 e T4 estatisticamente superiores aos demais. Estes valores foram inferiores aos encontrados por Moura et al. (2001), para a cultivar Bluegem, que foi em média de 242 mg 100 g⁻¹, mas semelhantes aos encontrados para cultivar Clímax, com média foi de 141,8 mg 100 g⁻¹ (MEDEIROS, 2016). De acordo com Rodrigues (2006), as plantas produzem antocianinas para combater o stress oxidativo e fisiológico, assim como agressões ambientais.

O teor de antocianinas em frutos de mirtilo é alterado pelo grau de maturação no momento da colheita, por diferenças genéticas entre cultivares e condições ambientais no momento que antecede à colheita. Algumas cultivares que apresentaram os menores teores de antocianinas apresentaram também menor pH, como citado anteriormente, o que indica que as variações no teor de antocianinas pode estar relacionado com o grau de maturação das frutas (RODRIGUES, 2006).

A média para PT foi: 416,2mg 100 g⁻¹, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Medeiros (2016) encontrou valores de média em 16494 mg g⁻¹.

Plantas submetidas ao estresse ativam rotas de metabólitos secundários que resultam na produção de compostos fenólicos. Segundo Rodrigues (2011), os fatores que afetam a composição fenólica do mirtilo (*Vaccinium* sp.) são intrínsecos (gênero, espécie e cultivar) e extrínsecos (condições ambientais e de cultivo, manejo e condições de armazenamento).

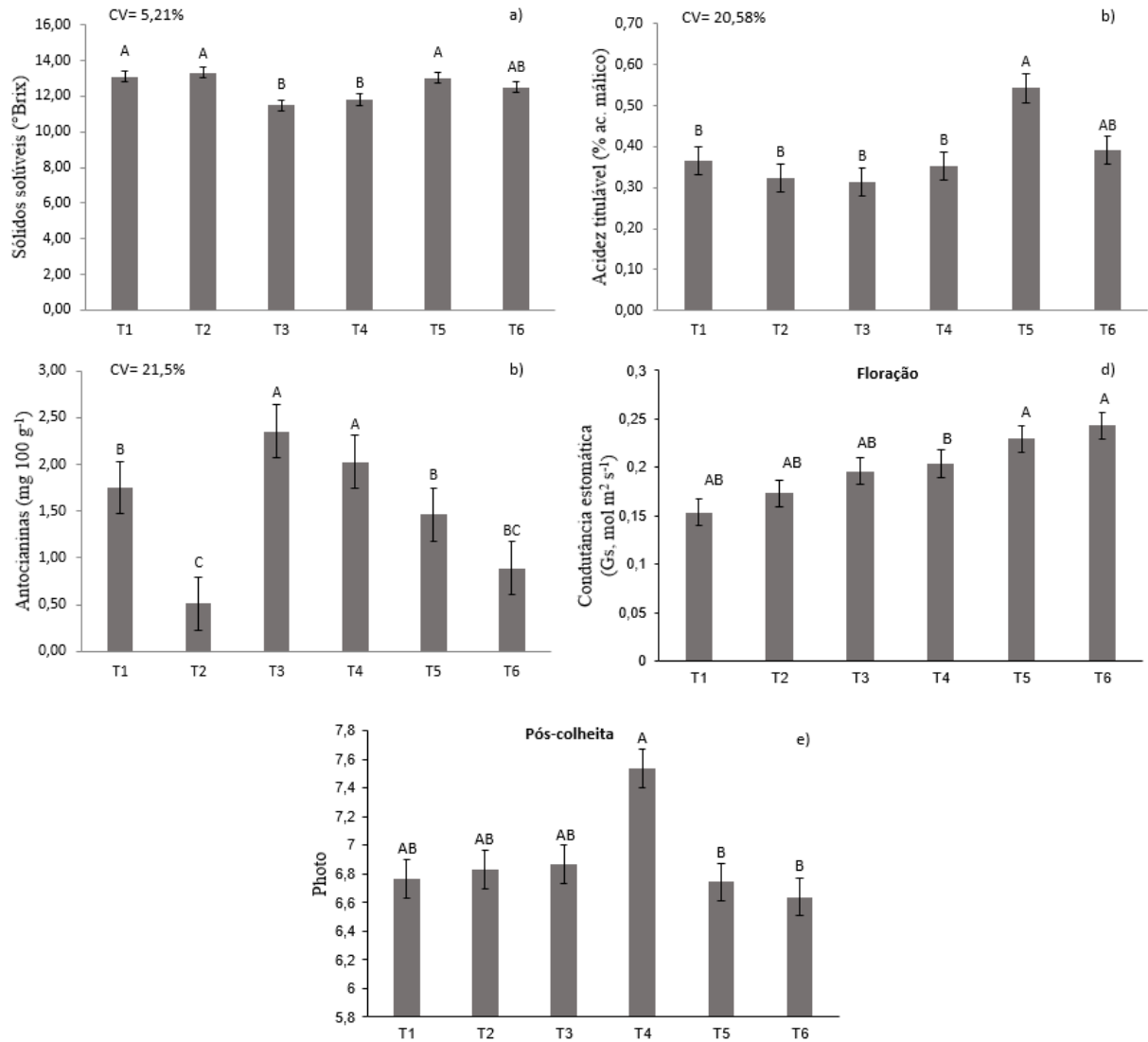


Figura 10. Variáveis analisadas em plantas de mirtillo para os tratamentos Testemunha (T1), Testemunha com nitrogênio (T2), *Azospirillum brasilense* estéril (T3), *Azospirillum brasilense* estéril com nitrogênio (T4), *Azospirillum brasilense* ativo (T5) e *Azospirillum brasilense* ativo com nitrogênio (T6). Ponta Grossa (PR), UEPG, safra 2017/2018. a) Sólidos Solúveis; b) Acidez Titulável; c) Teor de Antocianinas; d) Condutância Estomática; e) Taxa Fotossintética. Coeficiente de variação (CV). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. **Fonte:** a Autora.

5.6 CONCLUSÃO

Os frutos da cultivar avaliada apresentam atributos físicos e químicos de qualidade compatível com o mirtilo de outras regiões tradicionalmente produtoras se mantiveram em valores que correspondem à literatura. Houve diferença significativa nos tratamentos com a inoculação de AZ e AZE, comparando-se aos demais. Não houve incremento no uso do nitrogênio associado à aplicação ou não de nitrogênio. Pode-se dizer que as condições climáticas do período influenciaram negativamente todos os parâmetros avaliados, pois não houve diferença significativa entre os tratamentos.

O estresse hídrico ocasionou perdas significativas na produção. Reforça-se ainda mais a necessidade de estudos sobre a interação da planta de mirtilo com o *Azospirillum brasilense* e também da influência das condições climáticas nesta interação.

6 REFERÊNCIAS

A LAVOURA. Rio de Janeiro: Stampa Grupo Gráfico, n. 715, 2016.

ALFONSO, Elein Terry; LEYVA, Ángel; HERNÁNDEZ, Annia. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). **Revista Colombiana de Biotecnología**, Bogotá, v. 7, n. 2, p.47-54, 2005.

AMARAL, Leonardo Oliboni do et al. Nitrogen fertilization applied through drip fertigation and broadcasted in blueberry crop. **African Journal Of Agricultural Research**, Nairobi, v. 13, n. 9, p.432-439, 2018.

ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa et al. Aspectos técnicos da cultura do mirtilheiro. **Informe Agropecuário**: Pequenas frutas: tecnologias de produção, Belo Horizonte, v. 33, n. 286, p.38-45, 2002.

ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa, RASEIRA, Maria do Carmo Bassols. Cultivo do mirtilo (*Vaccinium* spp). **Sistema de Produção 8**, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2006.

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**, Embrapa Clima Temperado, v.43, n.8, p.1011-1015, 2008.

ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa et al. Comportamento de Variedades de Mirtilheiro sob Cultivo Agroecológico. **Comunicado Técnico 208 Embrapa**, Pelotas, p.1-8, 2010.

ANTUNES JUNIOR, Mario Zortéa. Métodos não destrutivos para estimativa de densidade de área foliar em mangueira. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 44, n. 12, p.1624-1630, 2009.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, v. 1, n. 1, 2016.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, v. 1, n. 1, 2017.

ARAÚJO, Érica Oliveira et al. Effect of nitrogen fertilization associated of diazotrophic bacteria inoculation. **African Journal Of Microbiology Research**, v9, n9. p.643-650, 2015.

ARRUDA, Ana Luiza et al. Posição dos explantes na multiplicação in vitro de mirtilheiro cultivar O’neal. **Revista da Jornada da Pós Graduação e Pesquisa**, Bagé, v. 14, n. 14, p.1-8, 2017.

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. de. Bacteria/PlantGrowth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford.v.1, p. 103-115.Elsevier, 2005.

BARTOLINI, Susanna et al. Effectiveness of *Azospirillum brasilense* Sp245 on young plants of *Vitis vinifera* L. **Open Life Sciences**, v. 12, n. 1, p.365-372, 2017.

BIANCHI, Ana Paula. **Avaliação do potencial antioxidante de exytatos encapsulados de mirtilo**. 2017. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2017.

BORA, Lokesh et al. A review on microbial association: its potencial and future prospects in fruit crops. **Plant Archives**, v. 16, n. 1, p.1-11, 2016.

BUBANZ, Hisley Campos Soares; RAMOS, Rodrigo Ferraz; BETEMPS, Débora Leitzke. Crescimento e produção de morangueiro através do uso de *Trichoderma*, *Clonostachys rosea*, *Azospirillum* e da incorporação de silício. **Anais da Jic - Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica**, Universidade Federal da Fronteira Sul, v. 1, n. 7, p.1-4, 2016.

BURITY, Hélio Almeida et al. Inoculante –Insumo biológico para substituição de fertilizantes nitrogenados em leguminosas. Instituto Agrônômico de Pernambuco, Recife, 1p. 2014.

CAMPOS DE MELO, Aniela Pilar et al. Solanáceas em sistema orgânico no Brasil: tomate, batata e physalis. **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v. 8, n. 3, p. 279-290. 2017 .

CANTUARIAS-AVILÉS, T.; D. Cultivo do mirtilo: atualizações e desempenho inicial de variedades de baixa exigência em frio no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.36,n.1,p.139-147, 2014.

CASSÁN, Fabricio; DIAZ-ZORITA, Martín. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology And Biochemistry**, v. 103, p.117-130, 2016.

CERQUEIRA, Conceição et al. Fisiologia e metabolismo foliar em duas variedades de videira sujeitas a um ciclo de déficit hídrico e reidratação. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, p.211-217, 2015.

CHILDERS, Norman F.; LYRENE, Paul M.. Blueberries For Growers, Gardeners, **Horticultural Publications**, 2006.

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

COLÓQUIO NACIONAL DA PRODUÇÃO DE PEQUENOS FRUTOS, 5, Oeiras. **Características dos frutos de duas variedades de mirtilo em agricultura biológica na região Centro**. Oeiras: Actas Portuguesas de Horticultura, 330 p, 2016.

CONCENÇO, Fernanda Izabel Garcia da Rocha et al. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DA POLPA, CASCA E EXTRATO DE MIRTILO (*Vaccinium myrtillus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 8, n. 1, p.1177-1187, 2014.

CONGRESSO BRASILEIRO DE PROCESSAMENTO MÍNIMO E PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, FLORES E HORTALIÇAS, 1., 2015, Aracajú. **Caracterização de frutos de diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivados na região de Ponta Grossa, PR**. Aracaju: Ufs, 2015. 5 p.

COSTA, Amanda Silva et al. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) AO DÉFICIT HÍDRICO E POSTERIOR RECUPERAÇÃO. **Brazilian Journal of Irrigation and Drainage – IRRIGA**, v. 20, n. 4, p.705-717, 2015.

COUTINHO, Enilton Fick et al. Propagação de Mirtilo do Tipo Rabbiteye por Estaquia e Alporquia. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, v. 1, n. 1, p.2-24, 2007.

COTE, R. Esquivel et al. Efeito da inoculação com *Azospirillum* sp., E adubação nitrogenada no crescimento e produção de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). **Agroproductividad**, Cidade do México, v. 10, n. 7, p.88-93, 2017.

DIEZ-RODRÍGUEZ, Gabriela Inés et al. ENTOMOFAUNA ASSOCIATED TO DIFFERENT PHENOLOGICAL STAGES ON BLUEBERRY CROP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 5, p.1-13, 18 dez. 2017

EGER, Henrique et al. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICA-QUÍMICA DOS FRUTOS DE DUAS VARIEDADES DE MIRTILO EM SISTEMA AGROECOLÓGICO PARA SOLOS COM DIFERENTES pH. **Cadernos de Agroecologia**, v. 11, n. 2, jan. 2017.

ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 5., 2011, Pelotas. **Influência da cultivar polinizadora sobre a época de maturação dos frutos e de duas cultivares de mirtilo**. Pelotas: Embrapa, 2011.

FACHINELLO, J.C. Mirtilo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.285-576, 2008.

FAOSTAT, 2017. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 09 jul 2018.

FONSECA, Luís Lopes da; OLIVEIRA, Pedro Brás de. A planta de mirtilo: Morfologia e fisiologia. : **Inrb**, Lisboa, 2007.

FREIRE, Cláudio José da Silva. Nutrição e adubação para o mirtilo: Cultivo do Mirtilo (*Vaccinium* spp). **Sistemas de Produção**, Pelotas, p.60-74, 2006.

ESPOSITO-POLESI, Natalia Pimentel. Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 4, p.2-9, 2011.

FAQUIN, Valdemar. Nutrição mineral de plantas: Curso de Pós Graduação “Latu sensu” à distância em solos e meio ambiente. **Fundação de Apoio Ao Ensino, Pesquisa e Extensão - Faepe**, Lavras, 186 p, 2005.

FERREIRA, Ana Catarina et al. Determinação do teor de compostos bioativos, cor e teor de água ao longo do processamento mínimo da couve galega. **Xiii Encontro de Química dos Alimentos**, Porto, p.1-7, 2016.

GABARDO, Gislaine. **Controle de doenças na cultura da soja com produtos alternativos**. 2015. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, **Universidade Estadual de Ponta Grossa**, Ponta Grossa, 2015.

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

GOI, Silvia Regina; SOUZA, Francisco A. de. Diversidade de microrganismos do solo. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 13, n. 2, p.46-65, 2006.

GOLDMEYER, Bruna et al. Características físico-químicas e propriedades funcionais tecnológicas do bagaço de mirtilo fermentado e suas farinhas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 4, p.980-988, 2014.

GOMES, Andréia Silva; MAGNUS, Karen; SOUZA, Alessandra Hubner de. Riscos e benefícios do uso de nutracêuticos para a promoção da saúde. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v. 11, n. 9, p.57-75, 2017.

GONÇALVES, Christophe Ferreira. **Avaliação de parâmetros de qualidade em três variedades de mirtilo em modo de Produção Biológico e Convencional**. 2015. 93 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Escola Superior Agrária de Viseu, Viseu, 2015

GONÇALVES, Patrícia A.f. et al. Avaliação dos efeitos da aplicação de micorrizas ericóides no crescimento de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). **Actas Portuguesas de Horticultura: Colóquio Nacional da Produção de Pequenos Frutos**, Oeiras, v. 26, n. 5, p.41-51, 2016.

GRAÇAS, Jonathas Pereira et al. Microrganismos estimulantes na agricultura. **Série Produtor Rural** - nº 59. Piracicaba: Esalq, 2015.

GUARDA, Vitor Del' Alamo; CAMPOS, Leonardo José Motta. Bases ecofisiológicas da assimilação de carbono e suas implicações na produção de forragem. **Embrapa Pesca e Aquicultura**, Palmas, p.1-48, 2014.

GUERRERO-MOLINA, M. F. et al. Physiological, structural and molecular traits activated in strawberry plants after inoculation with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense* REC3. **Plant Biology**, v. 17, n. 3, p.766-773, 24 dez. 2014.

HADAS, Rivka; OKON, Yaacov. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. **Biology And Fertility Of Soils**, v. 5, n. 3, p.241-247, dez. 1987.

HOFFMANN, A. Mirtilo: Aspectos gerais da cultura. Artigos Técnicos. **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves, 2002.

HOFFMANN, Alexandre; ANTUNES, Luís Eduardo C.. Como cultivar mirtilo. **Embrapa Uva e Vinho**, Bento Gonçalves, v. 1, n. 1, p.1-3, 2007.

HUNGRIA, Mariangela. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. 2. ed. Londrina: **Embrapa Soja**, 2011.

HUNGRIA, Mariangela; NOGUEIRA, Marco Antonio. Inoculação com *Azospirillum*: bons rendimentos com menor custo para o agricultor e menor impacto ambiental. 2017. Disponível em: <**blog da EMBRAPA soja**>. Acesso em: 03 jan. 2017.

ILAND, P.; BRUER, N.; EDWARDS, G.; WEEKS, S.; WILKES, E. Chemical analysis of grapes and wine: techniques and concepts. Campbelltown, 48 p, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro, v. 43, p. 1- 62, 2016.

JACQUES, A. C. et al. Compostos bioativos em pequenas frutas cultivadas na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal Of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 2, p.123-127, 2009.

JIMÉNEZ-GÓMEZ, Alejandro et al. Plant probiotic bacteria enhance the quality of fruit and horticultural crops. **Aims Microbiology**, American Institute of Mathematical Sciences, v. 3, n. 3, p.483-501, 2017.

KAPPES, Claudinei et al. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. **Seminário Nacional de Milho Safrinha**, Dourados Ms, 2013.

KECHINSKI, Carilina Pereira. **Estudos de diferentes formas de processamento do mirtilo visando à preservação de compostos antociânicos**. 2011. 320 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

KONDA, Paula Becker Pertuzatti. **Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity in Blueberry species Produced in Brazil**. 2014. 170 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Unicamp, Campinas, 2014.

KREWER, Gerard; CLINE, Bill; NESMITH, D. Scott. Southeast Regional Blueberry Horticulture and Growth Regulator Guide. **Hort Guide**, p.1-15, 2015.

KUCK, Luiza Siede. Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* reade) e preservação das suas antocininas para aplicação em alimentos. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

KUMAR, Arun. Effect of Different Doses of NPK and Various Bio-fertilizers on Floral Characters and Yield Attributes in Okra. **International Journal Of Pure & Applied Bioscience**, v. 6, n. 2, p.352-356, 30 maio 2018. Vital Biotech.

KUSS, Anelise Vicentini et al. Fixação do nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1450-1465, 2007.

LAVADINHO C., SOUSA M. B.; MOLDÃO-MARTINS, M. Influência da data de colheita na qualidade do mirtilo. Atas **5º Encontro de Química de Alimentos: Qualidade, Segurança, Inovação**, p. 346-348, 2001.

LEITZKE, Luciane Nolasco et al. Nitrogen fertilizer affects the chemical composition of the substrate, the foliar nutrient content, the vegetative growth, the production and fruit quality of blueberry. **Científica**, Jaboticabal, v. 4, n. 43, p.316-324, 2015.

LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v.7, p.83-84, 1972.

- LIMA, Antonio Anicete de et al. Eficiência da inoculação de *Azospirillum brasilense* associado com enraizador no crescimento e na produção de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 12, n. 2, p.233-240, 2017.
- LIN, Z.; FISCHER, J.; WICKER, L.. Intermolecular binding of blueberry pectin-rich fractions and anthocyanin. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 194, p.986-993, mar. 2016.
- LINO, Ana Carolina Marostica. Fixação biológica de nitrogênio em soqueira de cana de açúcar com *Azospirillum brasilense* e na compatibilidade com agroquímicos. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.
- LOBOS, Gustavo A.; HANCOCK, James F.. Breeding blueberries for a changing global environment: a review. **Frontiers In Plant Science**, [v. 6, p.327-238, 30 set. 2015.
- LOPES, Renato Matos et al. Flavonoides: Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Natal, p.18-23, 2000.
- LOVAISA, N.c. et al. Response of strawberry plants inoculated with *Azospirillum* and *Burkholderia* at field conditions. **Rev. Agron. Noroeste Argent**, , v. 1, n. 35, p.33-36, 2015.
- LOVAISA, N.c. et al. Total and marketable fruit yield of strawberry plants grown under different levels of nitrogen fertility and inoculated with *Azospirillum brasilense* REC3. **Rev. Agron. Noroeste Argent**, v. 1, n. 36, p.43-46, 2016.
- MADAIL, João Carlos Medeiros; BELARMINO, Luiz Clovis; BINI, Dienice Ana. Análise econômico financeira do sistema de produção de mirtilo (*Vaccinium spp*). RECOMENDADO PELA PESQUISA. **Embrapa**, 2010.
- MALAVOLTA,E.;VITTI,G.C.; OLIVEIRA,S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba, POTAFOS, 319p. 1997.
- MALAVOLTA, E. et al. Repartição de nutrientes nos ramos, flores e folhas do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 7, p.1017-1022, 2002.
- MARANGON, Marcos Aurélio; BIASI, Luiz Antonio. Estaquia de mirtilo nas estações do ano com ácido indolbutírico e aquecimento do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p.25-32, jan. 2013.
- MARIANO, Rosa de Lima Ramos et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para um agricultura sustentável. **Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Vol. 1, P.89-111, 2004, Recife, v. 1, p.89-111, 2004.
- MARTINAZZO, Emanuela Garbin et al. Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. **Ciência Rural**, v. 43, n. 1, p.35-41, 9 nov. 2012.

MARTINS, Claudia Rocha et al. Ciclos Globais de Carbono, Nitrogênio e Enxofre: a importância da química da atmosfera. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, p.1-14, nov. 2003.

MEDEIROS, L. S. “Estudo químico e biológico de micro-organismos endofíticos associados às frutas banana, pêra e goiaba”. Dissertação de mestrado. Ufscar, SP. 2010.

MEDEIROS, José Gilberto Souza. Aspectos fenológicos, desempenho produtivo, qualidade e compostos bioativos de frutos de cultivares de mirtilos no Paraná. **Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, p.1-117, 2016.

MEDEIROS, José Gilberto Sousa; DE BONA, Claudine Maria; CUQUEL, Francine Lorena and BIASI, Luiz Antonio. Performance of blueberry cultivars under mild winter conditions. **Cienc. Rural [online]**. Vol.47, n.9, 2017.

MEDEIROS, Sidney Almeida Filgueira de et al. Caracterização físico-química de progênies de maracujá-roxo e maracujá-azedo cultivados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p.492-499, 2009.

MEDINA, Ricardo Bordignon. Desempenho de novas cultivares de mirtilo de baixa exigência em frio em região subtropical. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-**Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.92, 2016.

MENDES, Marcelo Cruz et al. Avaliação da eficiência agronômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo e os efeitos na qualidade de farinha. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guaparuvava, v. 4, n. 3, p.95-110, 2011.

MICHALSKA, A; LYSIAK, G; “Bioactive Compounds of Blueberries: Post-Harvest Factors Influencing the Nutritional Value of Products”. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p.18642-18663, 2015.

MORAES, J. O; PERTUZATTI, P. B; CORREA, F. V; SALAS-MELLADO, M. M; “Estudo do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) no processamento de produtos alimentícios”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v27, p.18-22, 2007.

MOURA, Gisely Corrêa de et al. Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Mirtilos Avaliados em Dois Ciclos Produtivos. **Embrapa**, Pelotas, p.1-4, 2011.

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

MOURA, Gisely Corrêa de et al. Caracterização físico-química de mirtilos cv Bluegem submetidos a diferentes coberturas de solo por dois ciclos produtivos. **Ufpel**, Pelotas, p.1-8, 2014.

MOURA, Gisely Correa de et al. Influência da poda no teor de compostos bioativos e na produção de mirtilos cv. O’Neal. **Revista de La Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 116, n. 2, p.201-205, 2017.

MUMBACH, Gilmar Luiz et al. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo. **XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, Natal, v. 1, n. 1, p.1-8, 2015.

NASCIMENTO, Fernanda Cristina do. Microorganismos encapsulados na promoção de crescimento inicial de frutíferas. 2016. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Ciências Agrárias e Veterinárias, **Universidade Estadual Paulista - Unesp**, Jaboticabal, 2016.

NÕÑEZ, Erick Espinoza; REY, Vincent Pierre Michel. Viabilidade econômica da produção de mirtilo (*Vaccinium* spp.).2009. 38 f. Monografia (Especialização) - Curso de Curso Mba – Agronegócios, **Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, 2009.

OLIVEIRA, Alexsandra D. de; FERNANDES, Edemo J.; RODRIGUES, Teresinha de J. D.. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Eng. Agríc., Jaboticabal**, Jaboticabal, v. 5, n. 1, p.86-95, 2005.

OLIVEIRA, Demétrios José de Albuquerque. **Análise metabolômica e de metabólitos orgânicos voláteis em plantas de cana-de-açúcar em associação com microrganismos diazotróficos**. 2015. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2015.

PASA, Mateus da Silveira et al. Desempenho de cultivares de mirtilheiros dos grupos rabbiteye e highbush em função da cobertura de solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p.161-169, mar. 2014.

PASQUALINI, Ana Paula de Azevedo; SANTOS, Jessé Neves dos; AYUB, Ricardo Antonio. Behavior and Viability of Blueberry Seeds through Germination and Tetrazolium Test. **Advances In Bioscience And Biotechnology**, v. 7, p.11-18, 2016.

PEDRAZA, R.; MOTOK, J.; TORTORA, M.; SALAZAR, S.; DÍAZ -RICCI, J. Natural occurrence of *Azospirillum brasilense* in strawberry plants. **Plant and Soil**, v.295, n.1 - 2, p.169 -178, 2007.

PELLETIER, Vincent et al. Troca de Gases Cranberry em Condições de Solo Hipóxico de Curto Prazo. **Hortiscience**, V, v. 51, n. 1, p.910-914, 2016.

PEREG, L.; DE-BASHAN, L.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant and Soil**, v. 399, p. 389-414, 2016.

PEREIRA, Ivan dos Santos et al. Cultivares de mirtilo. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2013.

POLESI, Natalia Pimente Esposito. Investigação da microbióta endofítica onipresente em microplantas "axênicas" .2010. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Esalq, Piracicaba, 2010.

RADWAN, Tharwat El-Sayed El-Desouk; MOHAMED, Zeinat Kamel; REIS, Veronica Massena. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos

indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 39, n. 10, p. 987-994, Oct. 2004.

RADÜNZ, André Luiz et al. Aspectos bioclimáticos do mirtilheiro. **Rev. Cient. Rural-Urcamp**, Bagé, v. 18, n. 1, p.1-17, 2016.

RADÜNZ, André Luiz et al. Caracterização do hábito de frutificação do mirtilheiro cultivado na mesorregião de Pelotas/RS, Brasil. **Revista de La Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 115, n. 1, p.83-90, 2016.

RAMOS, Anamaria Ribeiro Pereira et al. Acúmulo de carboidratos no desenvolvimento de tomateiro tratado com produtos químicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p.705-718, 22 abr. 2015. Universidade Estadual de Londrina.

RASEIRA, Maria do Carmo Bassols. ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa. A cultura do mirtilo. **Embrapa**, Pelotas, 2004.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: **Embrapa Agrobiologia**, (Documentos, 232), 22 p, 2007.

REIS, T. E. S; REIS, L. C; BARROS, O. N. F; “Comparação de métodos de determinação de área: superfície foliar do feijoeiro”. **Geografia**, v.9, n.2, p.151-157, 2000.

RETAMALES, Jorge B.; HANCOCK, James F.. Blueberries. **Cambridge: Cabi**, 2012.

RETAMALES, J.B. et al. Blueberry production in Chile: current status and future developments. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.1, p.58-67, 2014.

RIBEIRO, Willian Rodrigues et al. ATUAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NO SOLO COMO FATOR LIMITANTE DA TRANSPIRAÇÃO RELATIVA E DESENVOLVIMENTO INICIAL DO CAFEEIRO. **Ix Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba, p.1-6, 2015.

RODRIGUES, Eliseu et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante das cultivares de mirtilo cultivadas no Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 31, n.4, p.911-917, 2011.

RODRIGUES, Pollyana Santiago. Caracterização molecular e de promoção de crescimento de plantas por bactérias diazotróficas associadas a frutíferas tropicais. 2016. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Uenf, **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro**, Campos dos Goytacazes, 2016.

RODRIGUES, Sabrina Ávila. **Efeito de acidulante, espessantes e cultivares nas características físico químicas e estruturais de topping de mirtilo**. 2006. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

ROSA, Jéssica Rigui da. Microencapsulação de compostos antocianicos extraídos do mirtilo (*Vaccinium spp*) por spray dryer: caracterização estudo da estabilidade e condições gastrointestinais. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, **Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, 2017.

RUEDA, Darwin et al. Effect of *Azospirillum* spp. and *Azotobacter* spp. on the growth and yield of strawberry (*Fragaria vesca*) in hydroponic system under different nitrogen levels. **Journal Of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, n. 1, p.48-54, 2016.

RUFATO, Andrea de Rossi; ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa. Técnicas de produção de framboesa e mirtilo. Brasília: **Embrapa**, 2016.

SANTANA, Kamila. Microrganismos simbiotes, matéria orgânica e adubação nitrogenada no desenvolvimento e nutrição do mirtilo cv. clímax em ambiente protegido. 2016. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, **UEPG**, Ponta Grossa, 2016.

SCIENCES, College Of Agricultural. The Md-Atlantic Berry Guide for Comercial Growers: Blueberries. Pennsylvania: **The Pennsylvania University**, 2013.

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

SANTOS, A.M. dos. Cultivo do mirtilo do grupo Rabbiteye. In: ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., Pelotas. **Anais. Pelotas: Embrapa**, 2007.

SANTOS, Adrian Richard Schenberger et al. Labeled *Azospirillum brasilense* wild type and excretion-ammonium strains in association with barley roots. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 118, p.422-426, 2017.

SANTOS, Carlos Henrique Barbosa. Crescimento de mudas frutíferas sob ação de microrganismos promotores de crescimento. 82 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, **Universidade Estadual Paulista – Unesp** Jaboticabal, 2017.

SANTOS, R. O; TRINDADE, S. C; MAURER, L. H; BERSCH, A. M; SAUTTER, C. K; PENNA, N, G; “Physicochemical, Antioxidant and Sensory Quality of Brazilian Blueberry Wine”. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.88, n.3 Rio de Janeiro, 2016.

SAUCEDO, M. C. C; GONZÁLEZ, G. G; TAPIA-CAMPOS, E; MACIEL, O. N; PÉREZ, J. S. B; SILVA, M. L. R; “Efecto de *Azospirillum brasilense* y fertilización química sobre el crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) **Interciencia**, v.38, n.10, p.737-744, 2013.

SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 9., 2017, Vacaria. Conservação in vitro de Mirtilo ‘Duke’ em Diferentes Temperaturas. **Embrapa**, Vacaria, 2017. 5 p.

SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 7., Anais 2. **Embrapa** Vacaria., 2011.

SERRADO, F.; PEREIRA, M.; FREITAS, S.; MARTINS, S.; DIAS, T. Mirtilos: guia de boas práticas para produção, promoção e comercialização. Portugal: **Greca Artes Gráficas**, 80 p, 2008.

SEVERO, Joseana et al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal Of Food Technology**, Campinas, v. 1, n. 1, p.1-6, 2009.

SEZERINO, André Amarildo et al. Polinização do mirtilo no oeste de SC. **Revista da Jornada de Pós Graduação e Pesquisa Congrega**, Bagé, v. 14, n. 14, p.1-14, 2017.

SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A.; BACH, E. E. Ação do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033). **ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 3, p. 29-35, 2004.

SILVA, Aurilena de Aviz. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada na aclimação de mudas micropropagadas de abacaxizeiro. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro**, Campo dos Goytacazes, 2013.

SILVA, Sergio Delmar dos Anjos e et al. Caracterização de genótipos de mirtilo utilizando marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p.180-184, mar. 2008.

SILVA, Talita Filomena; MELLONI, Rogério. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas não simbióticas em solos da Reserva Biológica Serra dos Toledos, Itajubá (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 2, p.359-371., 2011.

SILVA, Talita Filomena et al. BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NÃO SIMBIÓTICAS europeaeL.). **Ciência Florestal, Santa Maria**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p.61-71, 2017.

SILVEIRA, Natália Greff Ávila da; VARGAS, Paola Nunes; ROSA, Claudia Severo da. TEOR DE POLIFENÓIS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MIRTILO DO GRUPO HIGHBUSH. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 18, n. 4, p.365-370, 2007.

SILVEIRA, NGA, Vargas PN, Rosa CS. Teor de fenólicos e composição química do mirtilo do grupo Highbush. **Aliment Nutr** v.18, n.4, p. 65-70. 2007.

SILVEIRA, Tiago Madruga Telesca da. Polinização em amoreira-preta (*Rubus sp.*), mirtilo (*Vaccinium ashei*) e ameixeira-japonesa (*Prunus salicina*). 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, **Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2008.

SINGLETON, VL.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, p.144-158, 1965.

SOUZA, Essione Ribeiro et al. Fenologia e trocas gasosas da videira cv. Sweet Sunshine em clima semiárido. **Comunicata Scientiae**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.319-333, 27 dez. 2016.

SOUZA, Lindomar Maria et al. COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE pH E ACIDEZ TITULÁVEL EM POLPA DE MELÃO. **Jepex** 2010, Recife, p.1-3, 2010.

SPAGOLLA, L.C. et al. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo ‘Rabbiteye’ e sua atividade antioxidante. Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina – PR. **Revis Cienc Farm Básica Apl**, v.30, n.2, p. 59-64. 2009.

SPINARDI, Bruna; AYUB, Ricardo Antonio. Desenvolvimento inicial de cultivares de mirtilheiro na região de Ponta Grossa (PR). **Ambiência**, Guarapuava, v.9, n. , p.1-7, 2013.

SPOLAOR, L. T; GONÇALVES, L. S. A; SANTOS, O. J. A. P; OLIVEIRA, A. L. M; SCAPIM, C. A; BERTAGNA, F. A. B; KUKI, M. C; “Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance”. **Bragantia**, v.75, n.1, p.33-40, 2016.

STETS, M. I; ALQUERES, S. M; SOUZA, E. M; PEDROSA, F. O; SCHMID M; HARTMANN, A; CRUZ, L. M; “Quantification of *Azospirillum brasilense* FP2 Bacteria in Wheat Roots by Strain-Specific Quantitative PCR”. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 81, n.19, p.6700-6709, 2015.

SUASSUNA, Janivan Fernandes et al. TROCAS GASOSAS E COMPONENTES DE CRESCIMENTO EM PORTAENXERTOS DE CITROS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO HÍDRICA. **Irriga**, Botucatu, v. 19, n. 3, p.464-477, 2014.

SUN, J; CHU, Y. F; WU, X; LIU, R.H; “Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits”. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.50, p.7449–7454, 2002.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TEIXEIRA, Alice Cristina Bittencourt et al. Distribuição de Fotoassimilados de Folhas do Topo e da Base do Capim-Mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) em Dois Estádios de Desenvolvimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, X, v. 34, n. 2, p.479-489, 2005.

TONELLO, Kelly Cristina; TEIXEIRA FILHO, José. ECOFISIOLOGIA DE TRÊS ESPÉCIES ARBÓREAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA DO BRASIL EM DIFERENTES REGIMES DE ÁGUA. **Irriga**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.85-102, 16 abr. 2012.

TORTORA, María L.; DÍAZ-RICCI, Juan C.; PEDRAZA, Raúl O. Protection of strawberry plants (*Fragaria ananassa* Duch.) against anthracnose disease induced by *Azospirillum brasilense*. **Plant And Soil**, [s.l.], v. 356, n. 1-2, p.279-290, 3 ago. 2011.

URQUIAGA, Segundo et al. Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio na Produtividade dos Sistemas Agrícolas na América Latina. **Embrapa Soja**, Londrina, p.1-20, 2006.

VIZZOTTO, Marcia. Propriedades funcionais das pequenas frutas. **Informe Agropecuário**, Embrapa, Belo Horizonte, v. 33, n. 268, p.96-103, 2012.

VIZZOTTO, Márcia; PEREIRA, Marina Couto. Metodologia científica: otimização do processo de extração de compostos fenólicos antioxidantes de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Pelotas, p.1-19, 2009.

XAVIER, Gustavo Ribeiro; RUMJANEK, Norma Gouvêa; GUEDES, Rejane Escrivani. Inoculante. 2005. Disponível em: <**Agencia EMBRAPA de informação tecnológica**>. Acesso em: 5 dez. 2017.

WANG, Huailing et al. Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry (*Vaccinium* spp.). **Food Chemistry**, v. 217, n. 1, p.773-781, 2018.

ZAMBONI PINOTTI, Maria Margareth et al. Isolamento de Fungos de Solo Associados a culturas de Amora, Framboesa e Mirtilo no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, p.67-80, 2011.

ZARDO, Ivanor. Extração e microencapsulação de compostos antocianicos de bagaço de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). Dissertação (Mestrado) em Eng. Química, **UFRGS**, Porto Alegre, 118p. 2014.

ZUFFO, Alan Mario. Aplicações de *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. 101 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, **Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 2016.

ANEXOS**ANEXO A - PLUVIOSIDADE EM MILÍMETROS NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2016
A JANEIRO DE 2017**