



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE AGRONOMIA**

NAIARA LOURDES DA SILVA DE OLIVEIRA

BIOTECNOLOGIA NO MORANGUEIRO

LARANJEIRAS DO SUL

2022

NAIARA LOURDES DA SILVA DE OLIVEIRA

BIOTECNOLOGIA NO MORANGUEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Roberson Dibax.

LARANJEIRAS DO SUL

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

, Oliveira Naiara Lourdes Silva
Biotecnologia no morangueiro / Oliveira Naiara
Lourdes Silva . -- 2022.
36 f.

Orientador: Professor doutor Roberson Dibax

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2022.

I. , Roberson Dibax, orient. II. Universidade
Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Naiara Lourdes da Silva de Oliveira

BIOTECNOLOGIA NO MORANGUEIRO

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- *Campus Laranjeiras do Sul* (PR).

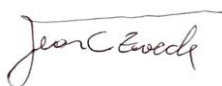
Orientador: Prof. Dr. Roberson Dibax

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
24/08/2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Roberson Dibax Presidente,
da banca



Prof. MSc. Jean Carlos Zocche Membro
da banca



Eng. Agrônomo Bruno Mazurok Pachulski
Membro da banca

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Baltazar de Oliveira e Maria Aparecida da
Silva de Oliveira, pelo incentivo e paciência.
Vocês foram fundamentais nesta caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo, pois foi com muita fé e perseverança nele que me mantive em pé, para concluir mais uma etapa da minha vida. Sem Ele nada seria possível.

Ao meu Pai, Baltazar de Oliveira, por me ensinar a perseverar e nunca desistir, mesmo quando as condições não eram as desejadas.

A minha mãe, Maria Aparecida da Silva de Oliveira por todo amor e carinho e por sempre estar presente em minha vida, sempre com abraço acolhedor e cheio de ternura.

As minhas Irmãs, Sara e Saiara, por todo apoio, incentivo e carinho, que foram de extrema importância em todo esse período longe da família.

Aos meus amigos (as): Bruna, Daniele, Igor, Larissa, Izabelly, Karla, Bruno, Laisa, entre outros colegas que cruzaram meu caminho, por todo apoio emocional e companheirismo, nos trabalhos e dia a dia na universidade.

Ao meu professor orientador, Roberson Dibax pelo apoio, incentivo e contribuição com seu conhecimento e experiência que foram fundamentais na minha formação e na realização satisfatória do presente trabalho.

Aos membros da banca, pelas contribuições que certamente enriqueceram esta versão final do trabalho.

A Universidade Federal da Fronteira Sul, e a todos docentes pela bagagem de conhecimento, a todos que dividiram comigo, os corredores e salas de aula do Campus, e rotina da vida universitária, por me proporcionar várias experiências, não só acadêmicas, mas de vida. E a todos que de alguma forma contribuíram e fizeram parte dessa etapa tão importante na minha vida.

Deixo aqui os meus mais sinceros agradecimentos a todos!

“O sucesso é a soma de pequenos esforços
repetido dia após dia.” (Robert Collier)

RESUMO

O morango tem características que atraem e encantam os consumidores, como a cor vermelho-vivo, além de aroma e sabor inigualáveis. Dentre o grupo das pequenas frutas (amora, framboesa, mirtilo, morango, physalis) o morangueiro possui maior relevância econômica, sendo a espécie de maior expressão em área cultivada e volume produzido. A importância social do morango está na força mobilizadora de um número significativo de produtores, em suas mais variadas escalas produtivas, que geram emprego para um expressivo número de trabalhadores do campo, em função da grande necessidade de mão-de-obra nas suas operações. Todas as espécies de morango cultivadas atualmente surgiram de espécies silvestres, sendo que o seu desenvolvimento e uso em escala comercial deu-se após o surgimento da espécie *Fragaria x ananassa Duch*, no século XIX. A propagação do morangueiro deve ser feita por sementes, quando se busca o melhoramento genético da espécie, pois essa forma favorece a recombinação de genes, aumentando a variabilidade genética das populações, o que permite a probabilidade de aparecerem indivíduos superiores. No Brasil, a prática de cultivar morangueiro vem crescendo cada vez mais, no entanto, mesmo tendo essa expansão, a cultura ainda possui diversas limitações, como a disponibilidade de mudas com qualidade e adaptadas a região e ao sistema que é utilizado para seu cultivo. Novos patamares de produtividade do morangueiro foram alcançados graças a utilização da biotecnologia. Atualmente, plantas matrizes isentas de vírus, utilizadas na produção comercial de mudas, são obtidas através do isolamento e cultivo de meristemas e micropropagação. A partir do exposto, este trabalho vem com o objetivo de reunir dados sobre o avanço do melhoramento genético no morango, buscando apresentar um contexto geral da utilização de biotecnologia no morangueiro e as principais técnicas que são utilizadas atualmente na cultura.

Palavras-chave: melhoramento genético; cultivo de planta via meristema; *Fragaria x ananassa Duch*.

ABSTRACT

Strawberry has characteristics that attract and delight consumers, such as its bright red color, as well as an unparalleled aroma and flavor. Among the group of small fruits (blackberry, raspberry, blueberry, strawberry, physalis) the strawberry has greater economic relevance, being the species with the greatest expression in cultivated area and produced volume. The social importance of the strawberry lies in the mobilizing force of a significant number of producers, in their most varied production scales, which generate employment for a significant number of field workers, due to the great need for labor in their operations. All strawberry species currently cultivated arose from wild species, and their development and use on a commercial scale took place after the emergence of the species *Fragaria x ananassa* Duch, in the 19th century. The propagation of the strawberry must be done by seeds, when the genetic improvement of the species is sought, as this form favors the recombination of genes, increasing the genetic variability of the populations, which allows the probability of superior individuals to appear. In Brazil, the practice of cultivating strawberry has been growing more and more, however, even with this expansion, the culture still has several limitations, such as the availability of seedlings with quality and adapted to the region and the system that is used for its cultivation. New levels of strawberry productivity were reached thanks to the use of biotechnology. Currently, virus-free mother plants, used in the commercial production of seedlings, are obtained through the isolation and cultivation of meristems and micropropagation. From the above, this work aims to gather data on the advancement of genetic improvement in strawberry, seeking to present a general context of the use of biotechnology in strawberry and the main techniques that are currently used in the culture.

Keywords: genetic improvement; plant cultivation via meristema; *Fragaria x ananassa* Duch.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AFLP	Amplified fragment length polymorphism
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
ISSR	Inter simple sequence repeat
pH	Potencial hidrogeniônico
RAPD	Randon amplified polimorphic DNA
RS	Rio Grande do Sul
SSR	Simple sequence repeat
XIX	Dezenove
XVIII	Dezoito

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3	JUSTIFICATIVA.....	14
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4.1	ORIGEM DO MORANGO	15
4.2	BOTÂNICA.....	15
4.3	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MORANGO	17
4.4	MELHORAMENTO GENÉTICO DO MORANGUEIRO.....	18
4.5	OBJETIVO DO MELHORAMENTO.....	19
4.6	PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO	20
4.7	MARCADORES MOLECULARES.....	21
4.8	APLICAÇÃO DA BIOTECNOLOGIA.....	22
4.9	MICRO PROPAGAÇÃO IN VITRO	23
4.10	CULTURA DE MERISTEMA.....	26
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
7	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

O morangueiro é cultivado e apreciado em todos os continentes (BRANZANTI, 1989; ROUDEILLAC, 1999; RESENDE *et al.*, 1999). A sua popularidade se deve, dentre outros fatores, aos esforços dos melhoristas que, desde o século XIX, têm desenvolvido cultivares adaptadas às mais diversas condições ambientais (HANCOCK *et al.*, 1996).

A introdução de novas mudas no mercado nacional, estimula os agricultores a investirem no cultivo dessa fruta. As principais cultivares de morangueiro utilizadas no Brasil são provenientes dos Estados Unidos, destacando-se a 'Aromas', 'Camarosa', 'Dover', 'Oso Grande' e 'Sweet Charlie', da Espanha a 'Milsei-Tudla', dos programas de melhoramento genético da Embrapa Clima Temperado, a 'Bürkley', 'Santa Clara' e 'Vila Nova' e do Instituto Agronômico de Campinas, a 'Campinas' (BRAHM *et al.*, 2005).

No Brasil, a prática de cultivar morango vem crescendo cada vez mais, sendo que a maioria se encontra em pequenas propriedades rurais (utilizando mão-de-obra familiar). Mas, mesmo tendo essa expansão, o cultivo de morangueiro ainda possui diversas limitações, sendo uma delas a disponibilidade de mudas com qualidade e adaptadas a região e outro fator refere-se ao sistema utilizado para seu cultivo, devido à grande necessidade de boas condições edafoclimáticas (PEREIRA *et al.*, 2010).

O Brasil possui uma grande diversidade de clima, solo e um imenso potencial de cultivo de espécies com diferentes exigências e origens (PAGOT; HOFFMANN, 2003). Nos últimos anos a produção de morangos em diferentes estados vem aumentando devido à adaptabilidade das diferentes cultivares utilizadas em clima subtropical e temperado (SPECHT; BLUME, 2009).

A propagação do morangueiro deve ser feita por sementes, quando se busca o melhoramento genético da espécie. Essa forma favorece a recombinação de genes, aumentando a variabilidade genética das populações, permitindo, assim, a probabilidade de aparecerem indivíduos superiores. Graças a essa capacidade de produzir diferentes genótipos, por meio da reprodução sexual, as espécies conseguem se adaptar às variações do ambiente (ANTUNES; CARVALHO; SANTOS, 2011).

Entretanto, a expansão da produção tem sido limitada por diversos fatores na sua produção, comercialização, industrialização e principalmente na produção de

mudas de qualidade, como a alta suscetibilidade a doenças, que podem ser provocadas por fungos, vírus, bactérias, viróides e fitoplasmas (DIAS *et al.*, 2007).

No Brasil, novos patamares de produtividade do morangueiro foram alcançados graças às técnicas de cultura de tecidos empregadas na limpeza viral. Atualmente, plantas matrizes isentas de vírus, utilizadas na produção comercial de mudas, são obtidas através do isolamento e cultivo de meristemas e micropropagação (CALVETE *et al.*, 2000).

Com o aumento das buscas por este fruto, a produção obteve mudanças, exigindo melhorias genéticas para que suprisse a demanda dos consumidores. Nessas mudanças, os frutos precisavam atender aos seguintes pré-requisitos: morangos maiores, lisos, vermelhos, com sabor adocicado, maior resistência durante o transporte, frutificação maior e mais rápida, tolerância a pragas, entre outros (CAMARGO *et al.*, 1993).

A partir do exposto, o objetivo do presente trabalho é reunir dados sobre o avanço do melhoramento genético no morango, buscando apresentar um contexto geral da utilização de biotecnologia no morangueiro e as principais técnicas que é utilizada atualmente na cultura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Apresentar uma revisão de literatura científica acerca do melhoramento genético e a utilização da biotecnologia no cultivo de morangueiro, evidenciando as principais técnicas e métodos utilizados na cultura.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Levantar informações sobre a origem e botânica do morangueiro;
- Fazer um compilado de dados baseados na literatura sobre os programas de melhoramento genético de morango no Brasil e no mundo e seus objetivos;
- Identificar a aplicação de biotecnologia, micro propagação in vitro, cultura de meristemas e uso de marcadores moleculares na cultura do morangueiro.

3 JUSTIFICATIVA

O morango tem características que atraem e encantam os consumidores, como seu sabor doce, cor viva e textura macia, sendo entre as pequenas frutas a que tem maior procura.

Apesar de Brasil ter tido uma grande evolução na produção de morangueiro comparando com alguns anos atrás, a expansão da produção ainda assim tem sido limitada por diversos fatores na sua produção, comercialização e industrialização. Um desses fatores limitantes é a produção de mudas de qualidade, devido á alta suscetibilidade a doenças, que podem ser provocadas por fungos, vírus, bactérias, viróides e fitoplasmas.

O melhoramento genético e indução de variação somaclonal são úteis para criar nova variabilidade genética de genótipos de morango. Portanto, a aplicação do melhoramento clássico e abordagens biotecnológicas são ferramentas potenciais para melhorar o rendimento e o sabor do morango.

Nesse contexto, discutir os objetivos e métodos de melhoramento, usando abordagens tradicionais ou com a contribuição de estratégias de biotecnologia (transformação genética, seleção assistida por marcadores, etc.) e métodos de propagação, é importante para ajudar a superar os obstáculos existentes no cultivo do morangueiro, a fim de potencializar a cadeia produtiva da cultura.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ORIGEM DO MORANGO

A origem do morangueiro, enquanto híbrido, teve início na Europa, no século XVIII, no território francês, onde por muito tempo foi cultivado como planta ornamental. Desde então, é cultivado em diferentes regiões do mundo (CASTRO, 2004). A espécie cultivada do morangueiro (*Fragaria x ananassa Duch.*) é um híbrido natural resultante do cruzamento entre as espécies *Fragaria virginiana* e *Fragaria chiloensis* (GRAHAM, 2005). A hibridização entre essas duas espécies não ocorreu nas Américas em virtude do isolamento geográfico, mas se deu na França, por volta de 1750, pois essas espécies eram cultivadas lado a lado (VAUGHAN; GEISSLER, 1997).

Este cruzamento, só foi possível devido á fato histórico. O capitão francês Amédée François Frézier, enquanto mapeava e espionava o controle espanhol ao longo da costa do Peru e do Chile, entre 1712 e 1714, ficou impressionado com os morangos chilenos cultivados em Concepción, e levou-os para a França.

Segundo estudo histórico, Frézier chegou a Marselha com cinco plantas de morangueiro, sendo que duas dessas foram dadas para o controlador de cargas do navio, que tinha realizado o fornecimento de água para que as plantas permanecessem vivas durante os 6 meses da viagem. Das duas plantas restantes, Frézier ficou com apenas uma, tendo doado outra ao botânico Antoine Jussieu, para que a plantasse em Paris.

O morango-chileno foi distribuído para jardins botânicos e quintais da Holanda, da Inglaterra, da Bélgica e da Alemanha. As mudas eram vigorosas, porém não produziam frutos. O que Frézier não sabia é que essa espécie de morango (*F. chiloensis*) era dioica, e que todas as cinco plantas trazidas por ele eram femininas (GALLETTA; BRINGHURST, 1990; HANCOCK et al., 1999). Em Brest, na França, os produtores aprenderam que poderiam produzir frutos se fizessem plantio intercalado de *F. chiloensis* com o morango nativo da Europa (*F. moschata*), ou com *F. virginiana*.

4.2 BOTÂNICA

O morangueiro é uma planta herbácea perene, mas é cultivada como anual. Pertencente à família Rosaceae, e ao gênero *Fragaria*, possui número básico de cromossomos igual a oito ($2n = 8x = 56$) (HANCOCK, 1999) e compreende 17 espécies silvestres classificadas em quatro grupos. Com relação ao seu nível de ploidia, nomeia-se diploide, tetraploide, hexaploide e octaploide (RIOS, 2007). As espécies diploides, tetraploides e hexaploides são comuns na Europa e Ásia, já as octaploides, são encontradas mais facilmente nas Américas e na Ásia (ANTUNES; HOFFMANN, 2012).

Possui um caule curto, denominada de coroa, formando uma espessa roseta, podendo ser rasteira ou atingir de 15 a 30 cm de altura. As folhas são do tipo compostas, em geral são trifoliadas com um par de estipulas triangulares na base, às vezes, possuem um par de pequenos folíolos abaixo dos normais (SILVA *et al.*, 2007). Cada folíolo possui pecíolo que se une a um pecíolo principal geralmente longo, inserido na coroa (VIDAL *et al.*, 2007). A folha permanece na planta em média dois meses, sendo necessário remover as folhas mortas ou que já não tem mais finalidade, por estarem muito sombreadas (DARROW, 1966). Recomenda-se durante todo ciclo da cultura fazer uma limpeza nas folhas mais velhas para reduzir fonte de inóculos de pragas e doenças.

O sistema radicular é fasciculado, constituído por numerosas raízes superficiais, que possuem distribuição ao redor da planta. Geralmente são três raízes que surgem, diretamente da base de cada folha próxima da superfície do solo, sendo chamadas de raízes primárias. A raiz primária contém o tecido condutor, que faz a translocação dos nutrientes para a parte aérea da planta e os fotoassimilados são armazenados em forma de amido na coroa e nas próprias raízes. A temperatura mínima do solo para o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular é de 7-8°C, enquanto a temperatura ideal está na faixa de 13-14°C (DARROW, 1966).

Nas atuais cultivares de morangueiro a maior parte das flores são hermafroditas. Os pequenos pontos pretos e duros, conhecidos como sementes, são na verdade os frutos do morangueiro, nomeado como aquênios. Após a fecundação dos óvulos, ocorre o engrossamento do receptáculo da floral resultando na porção carnosa comestível (pseudofruto), devido à presença de auxinas produzida pelos embriões contidos em cada aquênio (SILVA *et al.*, 2007).

Sendo uma planta típica de climas frios, as altas temperaturas são o principal fator limitante da cultura. É sensível à variação fotoperiódica. Plantas de dias curtos

têm o desenvolvimento vegetativo favorecido, estímulo da emissão de estolões e inibição do florescimento durante o verão (FILGUEIRA, 2007). Quando as condições climáticas são favoráveis à planta, ela emite estolões, caules finos que crescem paralelamente ao chão, com entrenós longos, que facilmente enraízam dando origem a uma nova planta (MIRANDA; FERNANDES, 2001).

4.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MORANGO

A produção mundial de morangos teve um aumento significativo nos últimos anos, passando de 7.879.108 toneladas (2013) para 12.106.585 toneladas (2019), ou seja, um avanço de aproximadamente 46% em seis anos. A área total plantada aumentou 41% nos últimos seis anos, visto que em 2013 foi de 369.569 hectares e em 2019 foi de 522.527 hectares (FAO, 2020).

Segundo dados da Embrapa, com colaboração do Incaper-ES, Emater (DF, MG, PR, RS), APTA e Epagri-SC, o Brasil cultiva anualmente cerca de 5.200 ha de morangueiro, apresentando uma produção de mais de 200.000 toneladas, sendo o maior produtor de morangos da América do Sul (ANTUNES *et al.*, 2021).

Dentre o grupo das pequenas frutas (amora, framboesa, mirtilo, morango, physalis) o morangueiro é a espécie que possui maior relevância econômica, com a maior expressão em área cultivada e volume produzido (ANTUNES *et al.*, 2013). Portanto, constitui um mercado amplo em escala mundial, devido a seu fruto com sabor agradável e cor atraente, além de apresentar uma fonte importante de vitamina C, antocianinas e atividades antioxidantes, as quais despertam interesse do consumidor (TAZZO *et al.*, 2015).

A cultura do morangueiro tem um grande caráter social, em função da grande necessidade de mão-de-obra nas suas operações, conferindo uma elevada importância socioeconômica. Além disso se destaca pela alta rentabilidade por área, podendo a produção ser destinada ao mercado de frutas frescas e/ou à fabricação de doces e conservas (ANTUNES *et al.*, 2007; DIAS *et al.*, 2007).

De acordo com Madail *et al.* (2007), a produção nacional é quase toda voltada para o mercado interno, sendo cerca de 70% destinada ao consumo in natura e 30% ao processamento. A cultura do morango possui importância na geração de emprego

e grande alternativa de renda ao produtor, podendo ser desenvolvida em todo o país, porém demanda a geração e uso constante de tecnologia.

4.4 MELHORAMENTO GENÉTICO DO MORANGUEIRO

O melhoramento genético do morangueiro iniciou-se na Inglaterra em meados do século XVIII, e depois expandiu-se para a França, Alemanha e Estados Unidos (ZAWADNEAK; SCHUBER; MÓGOR, 2013).

No Brasil, inicialmente foi conduzido pelo Instituto Agrônomo de Campinas-SP (IAC) em 1941, e pela Estação Experimental de Pelotas-RS, Embrapa Clima Temperado em 1950. Vários dos materiais utilizados por esses programas foram obtidos a partir da importação de mudas e aquênios provenientes dos programas de melhoramento dos Estados Unidos. Os programas brasileiros contribuíram muitíssimo para o aumento da produtividade e da importância da cultura do morangueiro no país (CASTRO, 2004).

As cultivares importadas W.M. Belt e Poca hontas foram as que tiveram melhor adaptação na região sendo recomendadas para cultivo comercial. Os novos clones, obtidos a partir dos aquênios importados, foram selecionados, originando as cultivares Konvoy, Princesa e Cascata, lançadas em 1962. Estas cultivares foram responsáveis pelo sucesso da cultura do morangueiro no Rio Grande do Sul, na década de 1960 e início de 1970 (SANTOS, 1999).

A partir da década de 1990, cultivares melhoradas geneticamente, vinda de programas internacionais, foram introduzidas com grande sucesso nas regiões produtoras do Brasil, superando as cultivares plantadas à época. Devido ao quadro restrito de pesquisadores, o programa de melhoramento desenvolvido na Estação Experimental de Pelotas sofreu interrupção entre os anos de 1965 e 1974, quando então foi reativado. Dentre as atividades de reestruturação do programa, foram introduzidas cultivares de outros países e realizados cruzamentos entre os clones mais adaptados na região (SANTOS, 1999).

As principais características procuradas nos dois programas brasileiros de melhoramento de morangueiro na década de 1990 eram:

Programa de melhoramento IAC: alta produtividade; formação de frutos grandes, lisos, vermelhos, brilhantes, firmes, com sabor adocicado e pouco ácido, e capazes de resistir ao transporte; frutificação precoce e prolongada, com regularidade por cerca

de 5 meses; flores completas, com estames bem desenvolvidos; facilidade de propagação, sem a excessiva produção de estolões; e tolerância a pragas e doenças (CAMARGO; PASSOS, 1993).

Programa da Embrapa Clima Temperado: produção em número e em peso de morangos; exigência de frio; resposta ao fotoperíodo e à temperatura; tamanho; cor; sabor; firmeza da polpa; e resistência da epiderme das frutas (SANTOS, 1999).

A adaptabilidade de uma cultivar a uma determinada região produtora é desenvolvida por meio da interação entre o genótipo e o ambiente. A interação entre temperatura e fotoperíodo determinará a produtividade e a qualidade da fruta, a qual é influenciada também pelas condições de solo e pela incidência de pragas e doenças. Sendo assim, quando uma cultivar é selecionada para uma determinada região, a adaptação a outras áreas de produção fica dependente da interação com os fatores ambientais nessas áreas.

4.5 OBJETIVO DO MELHORAMENTO

Segundo Hancock *et al.* (1996), as características da planta comumente consideradas nos Programas de melhoramento do morangueiro são: produtividade, vigor, hábito de frutificação (sensibilidade ao fotoperíodo), tempo e uniformidade de maturação, resistência ao frio, resistência a geadas (flores), tolerância a altas temperaturas, período de dormência e resistência a doenças e pragas.

Enquanto as características do fruto são: flavor (sabor e aroma), tamanho, simetria, formato, firmeza e cor da polpa e da epiderme, brilho, fácil separação do cálice, teor de vitaminas, teor de sólidos solúveis, acidez e resistência a podridões (CASTRO, 2004).

A capacidade de produção do morangueiro está diretamente relacionada ao tamanho e ao número de frutos. O tamanho grande, característica das cultivares modernas, é parcialmente recessivo em relação ao tamanho pequeno. Essas características são controladas por genes quantitativos, de alta herdabilidade, amplamente distribuídos na população natural de *F. chiloensis* e concentrados nas cultivares comerciais com progressos do melhoramento genético (SANTOS, 1999).

A firmeza da polpa e a resistência da epiderme são características de extrema importância, especialmente para as cultivares destinadas à produção de morango para o consumo in natura, pois, além de permitirem melhores manuseio e transporte,

conservam as qualidades físicas por mais tempo, aumentando, assim, significativamente o período de comercialização. Esses fatores são influenciados tanto pelo ambiente quanto pelo manejo da cultura, da irrigação, da nutrição e do ponto de colheita. Para cultivares destinadas à indústria, a firmeza da polpa é uma característica muito importante por estar relacionada com o conteúdo de sólidos e com a qualidade do produto em conservação. Tem sido encontrada correlação positiva entre a resistência da epiderme e a firmeza da polpa (SANTOS, 1999).

O sabor é considerado uma das mais importantes características da fruta, e apresenta uma grande complexidade para se distinguir. Está relacionado com outras características fisiológicas, como o balanço de açúcares e ácidos, a coloração, o conteúdo de ácido ascórbico, e com o balanço de sólidos solúveis e ácidos. Esses fatores são altamente influenciados pelo ambiente. A herança do sabor da fruta é quantitativa, sendo estimada uma herdabilidade de 41% (SANTOS, 1999).

No comportamento fisiológico do morangueiro, existe uma correlação muito grande entre temperatura e fotoperíodo. A medida que a temperatura e o fotoperíodo decrescem, a atividade fisiológica da planta diminui, até que essa entre em dormência, que só é quebrada quando atingido um determinado número de horas de frio abaixo de 7,2 °C. Tal exigência varia de acordo com a cultivar, desde 1.000 horas até pouco mais de 100 horas. E quando a temperatura e o fotoperíodo se elevam, a planta cessa com sua floração e apenas se reproduz vegetativamente.

As cultivares que apresentam esse comportamento são chamadas cultivares de dia curto, já as cultivares que florescem e produzem frutos independentemente do fotoperíodo são denominadas de cultivares de dia neutro ou indiferentes ao fotoperíodo. A vantagem apresentada por essas cultivares é sua capacidade de produzir frutas em plena entressafra no verão, quando cultivadas em regiões de verões amenos (SANTOS, 1999).

4.6 PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO

No mundo, baseia-se que existam mais de cem programas de melhoramento genético de morangueiro, os quais buscam, entre outras características, cultivares com patamar superior em sabor e textura, que sejam resistentes aos principais estresses bióticos e abióticos, cultivares que permitam o aumento do período de

colheita, e que proporcionem maior período de prateleira pós-colheita (FAEDI; MOURGUES; ROSATI, 1999).

Portanto, os Programas de Melhoramento Genético para alcançar esses objetivos, têm utilizado todo germoplasma e conhecimento disponíveis. As pesquisas com morangueiro têm sido beneficiadas com a utilização das ferramentas biotecnológicas extremamente importantes, tendo como destaque os marcadores moleculares.

4.7 MARCADORES MOLECULARES

Marcadores moleculares têm sido bastante utilizados no âmbito da proteção de cultivares como ferramentas complementares, para comprovação da origem genética do cultivar, na identificação de cultivares em casos de uso indevido e em atividades de fiscalização (OLIVEIRA, 2015).

Várias classes de marcadores moleculares vêm sendo utilizadas em estudos envolvendo morangueiro, destacando-se: random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), inter simple sequence repeat (ISSR) e microssatélites (simple sequence repeat – SSR).

Os marcadores RAPD tem rápida detecção e, apresentam grande vantagem, pelo fato de não exigir conhecimento prévio das sequências para a síntese dos primers (sequências flanqueadoras à região-alvo a ser amplificada). Em morangueiro, foram utilizados principalmente em análises envolvendo taxonomia e diversidade genética (GIDONI *et al.*, 1994; HANCOCK *et al.*, 1994; LEVI; ROWLAND, 1997).

Nessas pesquisas, em sua maior parte, esse marcador mostrou-se eficiente para a caracterização de cultivares. Entretanto, seu uso é muito raro, pois apresenta como principal desvantagem, os baixos níveis de reprodutibilidade dentro e entre laboratórios, o que dificulta a comparação de resultados gerados por diferentes laboratórios. Além disso, são marcadores dominantes com baixa informação genética em cada loco, o que reduz a utilidade para a caracterização e a identificação de cultivares (GARCIA *et al.*, 2002).

Outros marcadores utilizados com destaque são os AFLP. Esse tipo de marcador caracteriza-se por ser dominante, exigir DNA com alta pureza e ser altamente reprodutível entre laboratórios (JONES *et al.*, 1997). Não necessita de conhecimento prévio de sequências genômicas para a construção de primers.

Potencialmente, apresenta um grande número de bandas polimórficas, sendo muito informativo.

Segundo Njuguna (2010), apesar dos vários avanços que ocorreram na técnica de AFLP nos últimos anos, essa técnica tem sido menos utilizada do que RAPD e microssatélites na identificação de cultivares e também na análise de diversidade genética em germoplasma de morangueiro.

Na atualidade, os microssatélites tem uma grande relevância nos estudos com morangueiro. No início, possuíam uma grande limitação, que era a exigência da disponibilidade de primers, os quais necessitavam ser desenvolvidos por meio da construção de bibliotecas genômicas. Atualmente, essa limitação foi superada, tendo disponíveis um grande número de primers para marcadores microssatélites disponíveis em morangueiro, o que ocorreu devido a construção de várias bibliotecas genômicas (ASHLEY *et al.*, 2003; CIPRIANI; TESTOLIN, 2004; HADONOU *et al.*, 2004; LEWERS *et al.*, 2005; MONFORT *et al.*, 2006; SARGENT; HADONOU; SIMPSON, 2003).

Nos morangueiros aplicações dos marcadores moleculares destaca-se na análise de diversidade genética, na identificação de cultivares, na construção de mapas genéticos e na seleção assistida por marcadores moleculares. Dentro dessas, segundo Whitaker (2011), a identificação de cultivares é a de mais importante aplicação, principalmente em questões que envolvam a proteção de cultivares e a confirmação da identidade genética de genótipos oriundos de ciclos de multiplicação assexuada.

4.8 APLICAÇÃO DA BIOTECNOLOGIA

Para a produção de mudas de morangueiro sadias e com qualidade, é necessário adquirir plantas-matrizes produzidas em laboratório, oriundas de métodos biotecnológicos, como a cultura de tecidos e a micropropagação (ANTUNES; DUARTE FILHO, 2005).

O uso de mudas sadias e de procedência garantirá maior produtividade e maior rentabilidade, isso pelo fato de fazer menor uso de agrotóxicos, conseqüentemente, produzindo frutos de melhor qualidade (BETTI *et al.*, 2000). Além disso, é o ponto de partida para a obtenção de melhor resposta a qualquer tecnologia empregada no processo produtivo (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

A cultura de tecidos meristemáticos é utilizada para obter plantas isentas de vírus, e a micropropagação é empregada para a multiplicação rápida de forma controlada, *in vitro*. O emprego desses métodos, complementado com o cultivo protegido em estufas, permite a produção de plantas-matrizes de forma programada (ASSIS, 2006).

A cultura de tecidos também é uma importante fonte adicional de variabilidade genética do morangueiro. Variantes somaclonais podem ser úteis para aumentar o rendimento e melhorar a resistência, especialmente às doenças fúngicas que acometem a cultura. O avanço das técnicas de variação somaclonal, seleção *in vitro* e transformação genética promoveu o interesse nos trabalhos de morfogênese *in vitro* e o desenvolvimento de métodos de regeneração (CASTRO, 1998; FLORES *et al.*, 1999).

A biotecnologia tem auxiliado nos estudos de diversidade genética em morangueiro. A grande importância da diversidade genética está no fato de que cruzamentos que envolvem genitores geneticamente divergentes (com diferenças nas frequências alélicas) são os mais convenientes em produzir alto efeito de heterose na progênie e maior variabilidade genética nas gerações segregantes.

4.9 MICRO PROPAGAÇÃO IN VITRO

Na produção de mudas de morangueiro é recomendado que sejam adquiridas plantas matrizes oriundas da cultura de tecidos (ANTUNES; FILHO, 2005). Esta técnica permite a produção em larga escala em um curto espaço de tempo, de mudas com alta qualidade genética e fitossanitária, atendendo as exigências e padrões necessários para a produção de matrizes de morangueiro (DIAS *et al.*, 2014).

A cultura de tecidos vegetais *in vitro* é uma técnica baseada no princípio da totipotência, teoria formulada por Schleiden e Schwann em 1838, a qual indica que uma única célula é capaz de dividir-se, diferenciar-se e formar uma planta completa (GUERRA; NODARI, 2006).

A micropropagação *in vitro* possibilita a regeneração de novas plantas, apresentando todas as informações genéticas da planta matriz, a partir de pequenos fragmentos de órgãos e tecidos denominado como explantes, em um meio de cultura

artificial, sob condições de assepsia, com controle de luminosidade, temperatura, umidade e pH.

A propagação *in vitro* de plantas só é possível através da cultura de tecidos desorganizados como calos (calogênese) e suspensões de células isoladas em meio líquido, ou da cultura de tecidos organizados como ápices meristemáticos, ápices caulinares, segmentos nodais e embriões.

A micropropagação de plantas é uma sequência de operações que é realizada em laboratório. Cada estágio dessa operação deve ser identificado e condições ótimas devem ser estabelecidas (MURASHIGE, 1974 citado por GUERRA; NODARI, 2006) as quais são:

Estágio I – Consiste no estabelecimento da cultura. Nesta fase é feita a seleção do tipo de explante, sendo de extrema importância a idade da planta matriz, a idade fisiológica do explante e seu estágio de desenvolvimento, assim como tamanho, o que definirá o sucesso final do procedimento. Nesse estágio é realizada desinfestação superficial e inoculação em meio nutritivo sobre condições assépticas.

Estágio II – Constituem em estimular, para fazer a liberação de gemas laterais pré-formadas ou indução de gemas adventícias, mediante subcultivos sucessivos em meio próprio para multiplicação. O principal objetivo desta fase é a obtenção de brotações alongadas e adaptadas para a fase de enraizamento.

Estágio III – Nesse estágio faz-se a preparação da plântula para a conversão das condições heterotróficas para autotróficas em ambiente natural. Nesta fase, busca-se alongamento de brotações e indução de raiz. Nem sempre o alongamento das brotações é necessário. Às vezes, a simples transferência das brotações para um meio com ausência de citocininas é o suficiente para causar o alongamento, sendo auxina o regulador de crescimento utilizado na fase de indução de raízes.

Após o estabelecimento dos explantes *in vitro* realizado no estágio I, o próximo passo é a multiplicação das brotações (estágio II), a qual tem como objetivo aumentar o número de plântulas, através de vários subcultivos para meio de cultura fresco em intervalos de quatro a seis semanas (GRAHAM, 2005).

Segundo Guerra e Nodari (2006), neste estágio é onde determinará o número e intervalo de subcultivos, bem como determinar e otimizar a taxa de multiplicação. Grattapaglia e Machado (1998) sugerem que a taxa média de multiplicação adequada com mínimo de variação entre explantes, além da qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas, são aspectos qualitativos de extrema importância que

devem ser notados na fase de multiplicação. Esses mesmos autores relatam que a frequência considerada como ideal de subcultivos é aquela, na qual, a planta é repicada durante a fase de crescimento ativo das partes aéreas, aliando o máximo vigor de crescimento com máxima taxa de multiplicação.

Ainda que a propagação das plantas do gênero *Fragaria* possa ser feita através de sementes e estolões, a utilização de sementes como material propagativo não é mais indicada comercialmente, pois essas mudas levam mais tempo para frutificar do que as plantas propagadas através de estolões. Além do mais, o sistema de propagação por estolões fornece um número limitado de propágulos (BHATT; DHAR, 2000).

Muitos produtores acabam utilizando estolões das plantas que produziram frutos no ano anterior. Porém essas mudas apresentam menor vigor, sendo menos produtivas, devido à ocorrência de viroses e doenças que acometem a parte radicular dessas plantas. A pós sucessivas propagações ao longo dos anos utilizando estolões como mudas, ocorre o aparecimento de viroses que comprometem seriamente o morangueiro. Portanto, o agricultor deve renovar o material de propagação, fazendo a substituição a cada ano da lavoura, obtendo mudas isentas de viroses junto a viveiros idôneos (FILGUEIRA, 2000).

O morangueiro apresenta uma grande sensibilidade a doenças viróticas e a outros microrganismos. Segundo Calvete *et al.* (2002), a disseminação de doenças ocorre principalmente durante a propagação vegetativa quando são utilizadas plantas infestadas.

Isso ocorre pelo fato de o tecido meristemático não possuir um sistema vascular desenvolvido, onde a maioria dos vírus infecta as plantas de forma sistêmica. Sendo assim, através da técnica de cultura de tecidos utilizando explante ápices caulinares, é possível obter-se mudas sadias com maior facilidade (GOMIDE, 2004), juntamente com o tratamento térmico. A termoterapia, é utilizada quando não se dispõem de plantas matrizes ou básicas das cultivares desejadas de forma devidamente indexadas (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

O Instituto Agrônômico iniciou na primeira metade da década de 1970 no Brasil, uma nova tecnologia de produção de mudas de morangueiro livre de vírus, mediante indexação em plantas indicadoras, sendo alcançado um salto na produção em até mais de 50%, quando comparadas com as mudas comuns afetadas por vírus (BETTI *et al.*, 2000).

A Embrapa Clima Temperado já tem aumentado a produção de matrizes de morangueiro, aperfeiçoando os protocolos para a cultura de tecidos. A partir da sua introdução no setor produtivo, ocorreu um aumento com grande relevância na produtividade de morangueiros na região Sul do Brasil, sendo anualmente disponibilizadas as matrizes produzidas para viveiristas e produtores de diferentes Estados. Apesar disso, ainda assim, faz-se necessária a ampliação dessa atividade produtiva, pois a produção nacional de matrizes e de mudas é ainda pequena e não consegue atender toda a demanda (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Segundo Betti *et al.* (2000), atualmente grande parte das mudas de morangueiro utilizadas no Brasil são resultado de matrizes de laboratório. A grande vantagem de matrizes propagadas *in vitro* é a maior produção de mudas, porém alguns problemas ligados à variabilidade, algumas vezes associada à menor produtividade ou maior incidência de doenças, vem sendo notados nas cultivares comerciais, especialmente na cultivar Dover.

4.10 CULTURA DE MERISTEMA

Os meristemas são tecidos que têm a capacidade de permanecer em estado embrionário e que, após as alterações morfogenéticas, tem a capacidade de diferenciarem-se em outros tecidos especializados, como por exemplo: raízes, caules e folhas (CLARK, 1997; CUTTER, 1978). O tamanho dos explantes é um dos fatores determinantes do sucesso do estabelecimento da cultura. Quanto menor for o explante, maiores serão as suas chances de se obter uma planta livre de patógenos, porém tem menor chance de estabelecimento. Sendo assim, é recomendado empregar meristemas com tamanho aproximado de 0,2 mm (MURASHIGE, 1977).

A cultura de meristemas foi proposta por Hollings (1965), onde é aplicada ao cultivo *in vitro* de um explante constituído pelo domo apical e o primeiro par de primórdios foliares (ASSIS, 1978). No Brasil, a Embrapa Clima Temperado foi pioneira no emprego dessa técnica no morangueiro e, desde 1978, vem aprimorando um protocolo para a produção de matrizes de morangueiro por meio de cultura de tecidos. O objetivo principal da cultura de meristemas é a produção de plantas isentas de vírus.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho consiste em uma revisão de literatura, elaborada a partir de materiais publicados e disponibilizados nas bases de dados Google Scholar e Scielo.

Revisão de literatura, ou revisão bibliográfica trate-se de uma análise crítica, cautelosa e ampla de publicações a cerca de um determinado tema (TRENTINI; PAIM, 1999). De acordo com Gil (2008, p.50) “é desenvolvida a partir material já elaborado, constituído de livros e artigos científicos”.

A principal vantagem desse tipo de pesquisa, segundo Gil (2002, p. 3) [...] “reside no fato de permitir ao investigador a cobertura de uma gama de fenômenos muito mais ampla do que aquela que poderia pesquisar diretamente”.

Foram utilizadas as bases de dados Google Scholar e Scielo, incluiu-se palavras chaves como: “Morango”, “Morangueiro”, “Melhoramento genético”, “Marcadores moleculares” “Biotecnologia”. Pesquisou-se ainda essa combinação de palavras chaves em língua inglesa, a fim de aumentar o número de trabalhos referentes a área.

Os critérios de inclusão foram: artigos publicados nos idiomas português e/ou inglês e dispor do texto completo e gratuito.

A análise foi realizada, em primeiro momento, pelos títulos dos artigos que possuíam referência ao tema. Posteriormente, foi realizada a leitura dos resumos dos artigos selecionados. Os artigos que se enquadraram na temática foram selecionados e realizada a leitura na íntegra dos mesmos, sendo as principais informações compiladas. Além de artigos científicos, também foram utilizados livros, dissertações e teses.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro o grupo das pequenas frutas, o morango é o que desperta maior interesse do consumidor, além de proporcionar grande retorno econômico ao produtor. No entanto, a busca por mudas de qualidade e homogêneas, que sejam produzidas em menor período de tempo, faz-se necessária. Portanto, torna-se de extrema importância o estudo específico da propagação e do melhoramento genético dessa espécie, a fim de potencializar a cadeia produtiva da cultura.

Os desafios atuais dos programas de melhoramento do morangueiro no Brasil assemelham-se aos observados no passado, ou seja, é preciso desenvolver cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas do Brasil e aos diferentes sistemas de produção, tais como: orgânico, sem solo, hidropônico, sob proteção, entre outros.

Atualmente, buscam-se novas cultivares, que sejam produtivas, com frutos grandes, adocicadas, firmes, com boa conservação pós-colheita e com período de colheita estendido.

A técnica de micropropagação está alinhada a pesquisas que buscam otimizar e acelerar a produção de mudas de morangueiro, tornando-se uma alternativa favorável, possibilitando a propagação clonal desses materiais e reduzindo problemas de contaminações virais na cultura.

7 CONCLUSÃO

Com base no que foi abordado nesta pesquisa, conclui-se que, o melhoramento genético foi de extrema importância para a cultura do morangueiro, desde seu surgimento, o qual se deu através de cruzamento entre duas espécies, partindo para sua adaptação no Brasil, até o melhoramento e desenvolvimento de novas cultivares que melhor atendam o mercado consumidor, contemplando o melhoramento de frutos, que sejam mais adocicados e maiores.

No entanto, ainda existem desafios para os programas de melhoramento do morangueiro no Brasil que precisam ser superados, os quais assemelham-se aos observados no passado. Ou seja, é preciso desenvolver cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas do país e aos diferentes sistemas de produção, tais como: orgânico, sem solo, hidropônico, sob proteção, isentas de vírus, entre outros.

Devido ao alto consumo de morango e grande procura pelo mesmo, existe uma grande exigência do mercado para melhoria do produto e que siga um padrão. Portanto o melhoramento vegetal e a utilização de biotecnologia é de extrema importância para cultura, onde precisa-se investir cada vez mais em pesquisas para aprimorar a evolução do mercado morangueiro. Utilizando-se novas técnicas, aprofundando conhecimento sobre o mesmo, o mercado de morango só tende a crescer, fazendo com que cada vez mais agregue valor econômico e promovendo a valorização da cultura.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. **Sistema de Produção do Morango: Produção de mudas**. 2005. Embrapa Clima Temperado. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap01.htm>>. Acesso: 28 jun. 2022.
- ANTUNES, L. E. C. *et al.* MORANGO: PRODUÇÃO AUMENTA ANO A ANO. **Morango: produção aumenta ano a ano**, [s. l.], 2021. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1131057>. Acesso em: 14 jul. 2022.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S.; REISSER JÚNIOR, C. Morango: crescimento constante em área e produção. **Anuário Campo & Negócio HF**, v. 37, p. 88-92, 2020.
- ANTUNES, L. E. C.; HOFFMANN, A. Pequenas frutas: o produtor pergunta, a embrapa responde. 1a ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2012.
- ANTUNES, L. E. C. (Ed.) Sistema de produção de morango. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 5). Acesso em: 14 jul. 2022.
- ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. M. Coleção plantar: a cultura do morango. In: ANTUNES, Luis Eduardo Corrêa; CARVALHO, Geniane Lopes; SANTOS, Alverides Machado dos. **Coleção plantar: a cultura do morango**. 2. ed. – Brasília, Df: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 5. Acesso 05 de Jun. 2022
- ANTUNES, L. E. C.; REISSER JÚNIOR, C. Fragole, i produttori brasiliani mirano all'esportazione in Europa. **Frutticoltura**, Bologna, v. 69, p. 60-65, 2007 acesso 05 jun. 2022
- ANTUNES, L. E. C.; PERES, N. A. Strawberry production in Brazil and South America. *International Journal of Fruit Science*, v. 13, n.1-2, p.156-161, 2013.
- ASHLEY, M.; WILK, J.; STYAN, S.; CRAFT, K.; JONES, K.; FELDHEIM, K.; LEWERS, K.; ASHMAN, T. High variability and disomic segregation of microsatellites in the octoploid *Fragaria virginiana* Mill. (Rosaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 7, p. 1201-1207, 2003. Acesso em: 25 jul. 2022.
- ASSIS, M. D. Produção de plantas matrizes. In: CARVALHO, S. P. D. (Coord.). **Boletim do morango: cultivo convencional, segurança alimentar, cultivo orgânico**. Belo Horizonte: FAEMG, 2006. p. 23-25
- ASSIS, M. de. **Micropropagation of fruit crops with emphasis on strawberry**. Madison: University of Wisconsin, 1978. 80 p.
- BRANZANTI, E.C. **La fresa**. Madrid: MundiPrensa, 1989. 386 p.
- BETTI, J. A.; PASSOS, F. A.; TANAKA, M. A. S. **Produção de mudas sadias de morangueiro**. In: TRANI, P. E.; MACEDO, A. C. (Ed.) **Manejo integrado de pragas e doenças do morangueiro**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 2000. p.55-61. (Manual Técnico, Série Especial).

- BRUGNARA, E. C. *et al.* Boletim de Pesquisa de Desenvolvimento Produção Orgânica de Diferentes Cultivares de Morangueiro Cultivados em Solo Coberto com Acículas de Pinus e Plástico Preto na Região de Chapecó, SC. Pelotas, RS (**Boletim técnico** 133), 2010. Acesso 20 de dez. 2021
- BHATT, I. D.; DHAR, U. Micropropagation of Indian wild strawberry. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 60: 83–88, 2000.
- BRAHM, R.U.; UENO, B.; OLIVEIRA, R.P. Reação de cultivares de morangueiro ao oídio sob condições de casa de vegetação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.2, p.219- 221, 2005.
- CASTRO, R.L. de. **Calogênese e organogênese de tecido foliar de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.)**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 116p. (Mestrado em Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.
- CALVETE, E.O.; KÄMPF, A.N.; BERGAMASCHI, H.; DAUDT, R.H.S. Avaliação do crescimento de plantas de morangueiro, durante a aclimatização ex vitro. **Horticultura Brasileira**, v.18, n.3, p.188-192, 2000. <. Acesso 20 jun.2022>
- CALVETE, E. O.; KÄMPF, A. N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento in vitro de morangueiro. *Horticultura Brasileira*, v. 20, n. 2, 2002.
- CLARK, S. E. Organ formation at the vegetative shoot meristem. **Plant Cell**, v. 9, n. 7, p. 1067-1076, July 1997.
- CAMARGO, C.E. de O. Trigo. In: FURLANI, A.M.C. & VIEGAS, G.P., eds. **O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo**. Campinas, Instituto Agrônomo, 1993. p.433-488
- CIPRIANI, G.; TESTOLIN, R. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Fragaria*. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 366-368, 2004.
- CUTTER, E. G. **Plant anatomy**. 2nd ed. London: Wesley, 1978. 315 p.
- CASTRO, R. L. **Melhoramento genético do morangueiro: avanços no Brasil**. In: Simpósio Nacional do morango, 2º Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul, L, 2004, Pelotas. Embrapa Clima Temperado, 2004. p.22-36. Acesso em: 14 jul. 2022.
- CASTRO, R. L. Melhoramento genético do morangueiro: avanços no Brasil. 2º **Simpósio Nacional do Morango 1º Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas**, p. 22, 2004.
- DARROW, G. M. **The strawberry**: history, breeding and physiology. New York: Holt, Rinehart and Wiston, 1966. 447p.
- DIAS, M. S. C. *et al.* Cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte - Mg, v. 35, n. 279, p.39-47, mar. /abr. 2014.
- DIAS, M. S. C.; COSTA, H.; CANUTO, R. S. Manejo de doenças do morangueiro. **Informe Agropecuário**. Morango: conquistando novas fronteiras, Belo Horizonte, v.28, n.236, p.64-77, jan. /fev. 2007.
- DUTRA, L. F. *et al.* **Protocolos de Micropropagação de Plantas IV - Morangueiro**. Pelotas- Rs: Embrapa Clima Temperado, 2012. 20 p. <. Acesso 20 jun.2022>

FAEDI, W.; MOURGUES, E.; ROSATI, C. Strawberry breeding and varieties: situation and perspectives. **Acta Horticulturae**, v.567, p.51-60, 1999. IV International Strawberry Symposium.

FAGHERAZZI, A. F. **Avaliação de cultivares de morangueiro no Planalto Sul Catarinense**. 2013. 108 f. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Curso de Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV. Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC. Lages, SC 2013. Acesso 20 dez.2021

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**. Viçosa: UFV, 402 p. 2000.

FLORES, R.; PETERS, J. A.; FORTES, G. R. de L.; CAMARGO, J. T. **Potencial morfogênico de clones de morangueiro (Fragaria x ananassa Duch.) cv. Vila Nova, em diferentes meios de regeneração**. Revista Brasileira de Fruticultura, v.21, n.3, p.274-278, 1999.

GARCIA, M. G.; ONTIVERO, M.; RICCI, J. C. D.; CASTAGNARO, A. Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argentina. **Plant Breeding**, v. 121, n. 1, p. 76-80, 2002.

GALLETA, G. J.; BRINGHURST, R. S. Strawberry management. In: GALLETA, G. J.; HIMELRICK, D. G. (Ed.). **Small fruit crop management**. New Jersey: Prentice-Hall, 1990. p. 83-93.

GIDONI, D. *et al.* Strawberry cultivar identification using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. **Plant Breeding**, v.113, n.4, p.339-342, Dec. 1994.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. São Paulo, v. 5, n. 61, p. 16-17, 2002.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. São Paulo: Atlas, 2008.

GUERRA, M. P.; NODARI R. O. Apostila de Biotecnologia-CCA/UFSC. Ed. Steinmacher. 40 p. 2006.

GRAHAM, J. *Fragaria* strawberry. In: LITZ, R. E. (Ed.), **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. **Chapter:** 24, pp 456-474. CABI Publishing, 2005.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS. L. S.; BUSO, J. A. (Org.). **Cultura de Tecidos e Transformação de Genética de Plantas**. 1. Ed. Brasília: SPI., v.1, p.183-260, 1998.

GOMIDE, D. G. **Influência do número de subcultivos na multiplicação in vitro e na aclimatização de plantas micropropagadas de morangueiro**. 93 f. Dissertação (Mestrado Agronomia/Produção Vegetal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, 2004.

HANCOCK, J. F.; CALLOW, P. A.; SHAW, D. V. Randomly amplified polymorphic DNAs in the cultivated strawberry, *Fragaria x ananassa*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 4, p. 862-864, 1994.

HANCOCK, J. F.; SCOTT, D. H.; LAWRENCE, F. J. Strawberries. In: JANIK, J.; MOORE, J.N. (Eds.) **Fruit breeding: vine and small fruits crops**. 1996. p.419-470.

HADONOU, A. M.; SARGENT, D. J.; WILSON, F.; JAMES, C. M.; SIMPSON, D. W. Development of microsatellite markers in *Fragaria*, their use in genetic diversity analysis, and their potential for genetic linkage mapping. **Genome**, v. 47, n. 3, p. 429-438, 2004.

HOLLINGS, M. Disease control through virus-free stock. **Annual Review of Phytopathology**, v. 3, p. 367-396, 1965.

JONES, C. J. et al. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. **Molecular Breeding**, v.3, n.5, p.381-390, 1997

LEVI, A.; ROWLAND, L. J. Identifying blueberry cultivars and evaluating their genetic relationships using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and simple sequence repeat- (SSR-) anchored primers. **American Journal for Horticultural Science**, v. 122, n. 1, p. 74-78, 1997.

LEWERS, K. S.; STYAN, S. M. N.; HOKANSON, S. C. Strawberry GenBank-derived and genomic simple sequence repeat (SSR) markers and their utility with strawberry, blackberry, and red and black raspberry. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 1, p. 102-115, 2005.

MIRANDA, F.; FERNANDES, T. D. **Manual de boas práticas: Morango**. Escola Superior de Biotecnologia, Porto - U.C.P. 31 p. 2001. Disponível em: http://www.esb.ucp.pt/twt/disqual/pdfs/disqual_morango.pdf

MONFORT, A.; VILANOVA, S.; DAVIS, T. M.; ARÚS, P. A new set of polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers from a wild strawberry (*Fragaria vesca*) are transferable to other diploid *Fragaria* species and to *Fragaria x ananassa*. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 197-200, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.

MURASHIGE, T. Manipulation of organ initiation in plant tissue culture. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 18, p. 1-24, 1977

NJUGUNA, W. **Development and use of moleculares tools in *Fragaria***. 2010. 389f. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Oregon State University, Oregon.

OLIVEIRA, J. M. **Uso de marcadores moleculares em proteção de cultivares no Brasil**. 2015. 40f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília - UnB, Brasília, 2015.

OLIVEIRA R. P.; SCIVITTARO W. B. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura** 28: 520-522. 2006.

OLIVEIRA R. P.; NINO A. F. P.; SCIVITTARO W. B. Mudas certificadas de morangueiro: maior produção e melhor qualidade da fruta. **A Lavoura**. 108: 35-38. 2005.

OLIVEIRA, R. P.; NINO, A. F. P.; SILVA, F. O. X.; BRAHM R. U. Produção de Matrizes de Morangueiro por meio de Cultura de Tecidos. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2005. 34 p. (Sistemas de Produção, 7).

- PAGOT, E.; HOFFMANN, A. produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.9-18. (Documentos, 37).
- PEREIRA, D. P.; BANDEIRA, D. L.; QUINCOZES, E. R. F. (Ed.). Produção de matrizes de morangueiro por meio de cultura de tecidos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Sistemas de Produção, 7). Disponível em: Acesso em: 5 jan. 2022.
- PEREIRA, J. E. S.; BIANCHI, V. J.; DUTRA, L. F.; FORTES, G. R. L. Enraizamento in vitro de morangueiro (*Fragaria x avariana Duchesne*) em diferentes concentrações do meio MS. *Ciência Rural*, v. 29, n. 1, p. 17-20, 1999. Acesso em: 5 jan. 2022.
- RESENDE, L.M.A.; MASCARENHAS, M.H.T.; PAIVA, B.M. **Panorama da produção e comercialização do morango**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 5- 19, 1999.
- ROUDEILLAC, P. **Situation de la production de fraises dans le monde: perspectives en Europe**. In: DUARTE FILHO, J.; CANÇADO, G. M. A.; REGINA, M. A.; ANTUNES, L. E. C.; FADINI, M. A. M., eds. Morango: tecnologia de produção e processamento. Caldas: EPAMIG, 1999. p. 1-38. SANTOS, A.M. Melhoramento genético do morangueiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 24-29, 1999.
- SANTOS, A. M. dos. Melhoramento genético do morangueiro. **Informe Agropecuário**, v. 20, n. 198, p. 24-29, 1999.
- SARGENT, D. J.; HADONOU, A. M.; SIMPSON, D. W. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers from *Fragaria viridis*, a wild diploid strawberry. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, n. 4, p. 550-552, 2003.
- SECCHI, V. A. **Controle integrado de pragas e doenças do morangueiro**. 3.ed. Porto Alegre: EMATER/RS, 1992. 66p.
- SPECHT, S.; BLUME, R. **Competitividade e segmento de mercado à cadeia do Morango: Algumas evidências sobre o panorama Mundial e Brasileiro**. In: 47º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. Anais eletrônicos...Porto Alegre, 2009. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/13/1245.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2022.
- SILVA, A. F.; DIAS, M. S. C.; MARO, L. A. C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Informe Agropecuário**. Morango: conquistando novas fronteiras, Belo Horizonte, v.28, n.236, p.7-13, jan./fev. 2007.
- TAZZO, I. F.; FAGHERAZZI, A. F.; LERIN, S.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. Exigência térmica de duas Seleções e quatro cultivares de morangueiro cultivado no Planalto Catarinense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 550– 558, 2015.
- TRENTINI, M.; PAIM, L. **Pesquisa em enfermagem: uma modalidade convergente-assistencial**. Florianópolis: UFSC, v. 162, 1999.
- VAUGHAN, J. G.; GEISSLER, C. A. **The new Oxford book of food plants**. New York: Oxford University, 237 p. 1997.

- VIDAL, H. R.; CORSO, F.; OLIVEIRA, A. E.; NIESING, P.; OTTO, R. F. **Caracterização morfológica de quatro cultivares de morangueiro para a região de Ponta Grossa, PR.** In: Resumos / III Simpósio Nacional do Morango e II Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do MERCOSUL / Eds. ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M. - Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 291 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 203). 2007.
- WHITAKER, V. M. V. Applications of molecular markers in strawberry. **Journal of Berry Research**, v. 1, n. 3, p. 115-127, 2011.
- ZAWADNEAK, M. A. C.; SCHUBER, J. M.; MÓGOR, Á. F. **Como produzir morangos.** Curitiba: Ed. UFPR, 2013.