

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Dissertação

**Substâncias húmicas e reguladores de crescimento na micropropagação de
cultivares de framboeseira**

Tainara Gris

Pelotas, 2020

Tainara Gris

**Substâncias húmicas e reguladores de crescimento na micropropagação
de cultivares de framboeseira**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Fruticultura de Clima Temperado da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito para à obtenção de título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Eng^a Agr^a Prof.^a Dr^a Adriane Marinho de Assis

Coorientadora: Eng^a Agr^a Prof.^a Dr^a Márcia Wulff Schuch

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

G869s Gris, Tainara

Substâncias húmicas e reguladores de crescimento na micropropagação de cultivares de framboeseira / Tainara Gris ; Adriane Marinho de Assis, orientadora ; Marcia Wulff Schuch, coorientadora. — Pelotas, 2020.

67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Pequenas frutas. 2. Cultura de tecidos. 3. *Rubus idaeus* L. 4. Propagação. I. Assis, Adriane Marinho de, orient. II. Schuch, Marcia Wulff, coorient. III. Título.

CDD : 634.7

Tainara Gris

Substâncias húmicas e reguladores de crescimento na micropropagação de
cultivares de framboeseira

Data da Defesa: 03/03/2020

Banca examinadora:

Prof. Dra. Adriane Marinho de Assis
Universidade Federal de Pelotas- RS

Dr. Márcio Paim Mariot
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-Grandense
Campus Visconde da Graça (CaVG)

Prof. Dra. Aline Ritter Curti
Universidade Federal de Pelotas- RS

Dra. Zeni Pinto Fonseca Tomaz
Universidade Federal de Pelotas- RS

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, aos amigos espirituais e mentores. Sem eles nada disso poderia ser possível.

À minha família, mãe Dorivalda Gris, pai Joel Gris, irmão Lucas Emanuel Gris e amado avô Evaristo Gris, por todo apoio emocional durante este período que estive longe de casa.

Agradeço imensamente as minhas orientadoras, Professora Adriane Marinho de Assis e Márcia Wulff Schuch, pela incansável orientação, pelas palavras de apoio e ensinamentos.

Ao meu amigo e para sempre orientador, Marcos Vinícius Marques Pinheiro, pelo incentivo inicial em seguir na pós-graduação, pelas dicas na escrita e desenvolvimento do trabalho. És uma grande inspiração de profissional e pessoa para mim.

À amiga Zeni Fonseca Pinto Tomaz, por todos os ensinamentos, ajuda na condução dos experimentos e apoio.

Às amigas Eliane Lima de Aquino e Mariana Salbego Franco, pela ajuda na instalação dos experimentos, nas disciplinas e pelo carinho que sempre tiveram comigo.

Gratidão à equipe do Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas da UFPel, Dianini Brum Frolech, Bruna Andressa dos Santos Oliveira, Aline Ramm, Patricia Maciejewski e Eliane Lima de Aquino, por todos os desafios vencidos juntos, apoio e ensinamentos.

À Universidade Federal de Pelotas, aos professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Resumo

GRIS, Tainara. **Substâncias húmicas e reguladores de crescimento na micropropagação de cultivares de framboeseira**, 2020. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, 2020.

A utilização de substâncias húmicas na micropropagação de framboeseira pode ser uma alternativa promissora, tendo em vista que tais substâncias possuem atividade semelhante aos hormônios vegetais, como a auxina, além de auxiliarem na absorção de nutrientes. Diante disso, objetivou-se avaliar o uso de tais substâncias e de reguladores de crescimento na multiplicação e no enraizamento *in vitro* das framboeseras 'Polana' e 'Schönemann'. Para tanto, foram realizados dois experimentos. No primeiro, sobre multiplicação, utilizou-se como explantes segmentos nodais de plantas cultivadas *in vitro* e o meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962), sendo testados o uso ou não de 6-benzilaminopurina (BAP) (0 e 0,8 mg L⁻¹) e quatro concentrações de substâncias húmicas (0, 1, 2 e 3 mg L⁻¹). No segundo experimento, a respeito do enraizamento, foram utilizados segmentos nodais de plantas multiplicadas *in vitro* e utilizado o meio de cultura MS, sendo testadas duas concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) (0 e 0,1 mg L⁻¹) e quatro concentrações de substâncias húmicas (0, 1, 2 e 3 mg L⁻¹). Para ambos os experimentos o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x4, totalizando 16 tratamentos e quatro repetições com quatro explantes cada. Após 60 dias para fase de multiplicação e 30 dias para o enraizamento, foram avaliados: número de folhas e de brotações, comprimento de parte aérea e de maior raiz, número de raízes, massa de matéria fresca e seca de planta. Os resultados indicaram que no primeiro experimento, em geral, o uso de 2 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas é suficiente para a multiplicação *in vitro* de ambas cultivares de framboeseras. Porém, apenas para 'Polana' não é necessário utilizar benzilaminopurina. No segundo experimento, a utilização de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas com a adição do ácido naftalenoacético favoreceu o crescimento da cultivar Schönemann, enquanto 2 L⁻¹ de substâncias húmicas sem adição de regulador de crescimento é indicado para a 'Polana'.

Palavras-chave: Pequenas frutas. *Rubus idaeus* L. Cultura de tecidos. Propagação.

Abstract

GRIS, Tainara. **Humic substances and growth regulators in the micropropagation of raspberry cultivars**, 2020. 67l. Dissertation (Master of Science) - Graduate Program in Agronomy, Tempered Climate Fruit Area, Eliseu Maciel College, Federal University of Pelotas, Capão do Leão, 2019.

The use of humic substances in the micropropagation of raspberries can be a promising alternative, considering that these substances have activity similar to plant hormones, such as auxin, in addition to helping in the absorption of nutrients. Therefore, the objective was to evaluate the use of such substances and plant regulators in the multiplication and *in vitro* rooting of raspberry trees 'Polana' and 'Schönemann'. For this, two experiments were carried out. In the first, on multiplication, nodal segments of plants cultivated *in vitro* and the culture medium MS (Murashige; Skoog, 1962) were used as explants, being tested the use or not of 6-benzylaminopurine (BAP) (0 and 0.8 mg L⁻¹) and four concentrations of humic substances (0, 1, 2 and 3 mg L⁻¹). In the second experiment, regarding rooting, nodal segments of plants multiplied *in vitro* were used and the culture medium MS was used, being tested two concentrations of naphthalenoacetic acid (ANA) (0 and 0.1 mg L⁻¹) and four concentrations humic substances (0, 1, 2 and 3 mg L⁻¹). For both experiments, the experimental design was completely randomized, in a 2x2x4 factorial scheme, totaling 16 treatments and four repetitions with four explants each. After 60 days for the multiplication phase and 30 days for rooting, the following were evaluated: number of leaves and shoots, length of shoot and largest root, number of roots, fresh and dry mass of plant. The results indicated that in the first experiment, in general, the use of 2 and 3 mg L⁻¹ of humic substances is sufficient for the *in vitro* multiplication of both raspberry cultivars. However, only for 'Polana' it is not necessary to use benzylaminopurine. In the second experiment, the use of 2 mg L⁻¹ humic substances with the addition of naphthalene acetic acid favored the growth of the Schönemann cultivar, while 2 L⁻¹ humic substances without adding growth regulator is indicated for 'Polana'.

Keywords: Small fruits. *Rubus idaeus* L. Tissue culture. Propagation.

Lista de tabelas

Capítulo 1

Tabela 1 - Sobrevivência das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.....34

Tabela 2 – Número de folhas, comprimento de parte aérea e numero de raízes das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos a aplicação de benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 35

Tabela 3 – Massa de matéria fresca e massa de matéria seca da planta das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos a aplicação de benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 39

Tabela 4 – Número de brotação das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos a aplicação de benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 41

Tabela 5 – Comprimento de maior raiz de framboeseira Polana e Schönemann submetida a aplicação de benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 42

Capítulo 2

Tabela 1 - Sobrevivência das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.....47

Tabela 2 - Número de folhas, número de brotações, número de raízes e massa de matéria fresca de planta das cultivares Polana e Schönemann submetidas a aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 48

Tabela 3 - Comprimento de parte aérea e comprimento de maior raiz das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas a aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas/RS, 2020. 55

Lista de Figuras

Figura 1	Planta de framboeseira.....	18
Figura 2	Framboeseira cultivada <i>in vitro</i>	23
Figura 3	Explantes de framboeseira cultivar Polana	24
Figura 4	Produto Solo Humics®	27

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Revisão bibliográfica	14
2.1 Aspectos socioeconômicos da fruticultura	15
2.2 Pequenas frutas	17
2.2.1 Framboeseira (<i>Rubus idaeus</i>)	18
2.2.1.1 Origem e descrição botânica.....	18
2.2.1.2 Framboeseira 'Polana' e 'Schönemann'	21
2.2.1.3 Propagação e cultivo	22
2.3 Substâncias Húmicas	25
2.4 Reguladores vegetais	29
3. Capítulo 1. Substâncias húmicas e 6-benzilaminopurina na multiplicação <i>in vitro</i> de cultivares de framboeseira	31
3.1 Introdução	31
3.2 Material e métodos.....	32
3.3 Resultados e discussão.....	33
3.4 Conclusão	42
4. Capítulo 2. Substâncias húmicas e ácido naftalenoacético no enraizamento <i>in vitro</i> de cultivares de framboeseira	44
4.1 Introdução	44
4.2 Material e métodos.....	45
4.3 Resultados e discussão.....	46
4.4 Conclusão	56
5 Considerações finais	57
Referências Bibliográficas	58

1 Introdução

A fruticultura é um setor em expansão que contribui para a geração de emprego e renda, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial de frutas, o que denota a relevância deste setor para a economia do país (ANDRADE, 2017).

A busca por alternativas que atendam à demanda por fontes geradoras de renda na propriedade rural tem como opção o cultivo das pequenas frutas, haja vista o interesse dos consumidores pelas qualidades nutraceuticas das mesmas (RASEIRA et al., 2004). No grupo das pequenas frutas estão incluídos o mirtilheiro (*Vaccinium* spp.), a amoreira-preta (*Rubus* spp.), o morangueiro (*Fragaria* spp.), a framboeseira (*Rubus idaeus*) e a physalis (*Physalis* sp.) (LEITZKE, 2007).

Dentre essas frutíferas, a framboeseira apresenta potencial para a produção na região Sul do Brasil. Seus frutos possuem sabor e aroma agradáveis, além do alto valor nutritivo, o que faz com que sejam muito apreciados no preparo de geleias, sucos, sorvetes e para o consumo *in natura* (LEITZKE, 2007). Outras características promissoras foram identificadas em cultivares, como a 'Polana', desenvolvida na Polônia, que produz duas vezes ao ano, é rústica e apresenta poucos espinhos, o que facilita o manejo; enquanto a 'Schönemann' foi desenvolvida na Alemanha e possui crescimento vigoroso, muitas brotações e produz frutos no verão.

Para que haja expansão nas áreas de cultivo é primordial a utilização de mudas de qualidade e, geralmente, a propagação da framboeseira é realizada por meio de estacas aéreas ou subterrâneas (RASEIRA et al., 2004) ou estruturas especializadas. Porém, a micropropagação também é uma opção para a produção de mudas em escala comercial e, apesar da demanda por mão de obra especializada, laboratório e equipamentos, propicia a obtenção de várias plantas a partir de um explante, a redução do tempo e da área necessária à propagação, além da uniformidade e da qualidade fitossanitária das mudas (SCHUCH; ERIG, 2005; CID; TEIXEIRA, 2014).

Durante o processo de micropropagação vários fatores podem influenciar no potencial regenerativo da espécie, como o genótipo, os tipos e concentrações de reguladores vegetais, os tipos e tamanhos de explantes, os meios de cultura e as condições de cultivo (BERED et al.,1998). Atualmente, alternativas inovadoras como as substâncias húmicas podem ser utilizadas, visando o melhor desenvolvimento da cultura *in vitro*.

Estas substâncias são compostos orgânicos condensados, produzidos pela ação microbiana, com efeitos relacionados na formação de raízes laterais e, bem como pelos radiculares (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014). Estudos também demonstram os efeitos benéficos na concentração de clorofila nas folhas, massa fresca e seca da parte aérea e da raiz, número de raízes e número de botões florais (RAUTHAN; SCHNITZER, 1981; CHEN, 1996). Entretanto, considerado a escassez de informações acerca do uso das mesmas na micropropagação, justifica-se a realização de pesquisas sobre esse tema.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito das substâncias húmicas e de reguladores de crescimento na multiplicação e no enraizamento *in vitro* de cultivares de framboeseira.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos socioeconômicos da fruticultura

A China, a Índia e o Brasil respondem por 45,9% da produção mundial de frutas e suas produções são destinadas principalmente aos seus mercados internos (ANDRADE, 2017).

No Brasil a fruticultura é um dos setores do agronegócio com grande importância. No primeiro semestre de 2019 as exportações tiveram alta significativa, se comparadas ao ano de 2018, sendo que em janeiro o aumento foi de 21% em volume e 15% no valor da produção, segundo a ABRAFRUTAS (2019). Pode-se dizer que a cada ano que passa a fruticultura brasileira está se tornando mais competitiva no mercado internacional, o que proporciona um aumento significativo do setor na participação da economia do país (SILVA, 2019).

A produção de frutas no Brasil corresponde a 44 milhões de ton., destacando-se também na geração de empregos, visto que a cadeia detém 16% de toda a mão de obra do setor agropecuário, ou seja, são aproximadamente cinco milhões de pessoas empregadas. Além disso, o país possui 30 polos de produção de frutas de clima temperado e tropical, que produzem durante todo o ano em mais de dois milhões e quinhentos mil hectares (ABRAFRUTAS, 2019).

As principais frutas exportadas pelo Brasil são: manga (*Mangifera indica* L.) (170,46 mil ton.), melão (*Cucumis melo* L.) (197,60 mil ton.), limões e limas (*Citrus* sp.) (97,50 mil ton.) e uva (*Vitis* sp.) (39,82 mil ton.), sendo a região Nordeste a maior exportadora, com 599 mil ton. (Kist et al., 2018). De acordo com a Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados (2019), além de serem enviadas à Europa, Ásia e Estados Unidos, o objetivo é diversificar o mercado e os Emirados Árabes tem sido visto como um bom destino para as frutas brasileiras.

Os maiores importadores de frutas brasileiras são os países baixos o Reino Unido (143, 262 mil ton.), os Estados Unidos (56,145 mil ton.) e a Espanha (99, 760 mil ton.) (KIST et al., 2018).

A produção está distribuída em todo o território nacional, embora alguns se destaquem em volume, como São Paulo, maior produtor nacional de laranja (*Citrus sinensis*), banana (*Musa spp.*) e melão (*Cucumis melo*) (ABRAFRUTAS, 2019; KIST et al., 2019). Na Bahia, as principais contribuições estão relacionadas com a produção de banana, mamão (*Carica papaya*) e maracujá (*Passiflora edulis*), enquanto as frutas mais ofertadas pelos produtores mineiros são banana, laranja e abacaxi (*Ananas comosus*) (KIST et al., 2019).

O Rio Grande do Sul apresenta a quarta maior oferta de frutas, com 2.718 milhões de ton. colhidas em 2017. Dentre as frutas produzidas está a uva (*Vitis vinífera*) (876 mil ton.), a maçã (*Malus domestica*) (598 mil ton.) e a laranja (*Citrus sinensis*) (356 mil ton.) (ANDRADE, 2017). O Estado também é o principal produtor de pêssego, com 146.431 mil ton. e mais de 13 mil hectares plantados (IBGE, 2018).

Um diferencial do Rio Grande do Sul é a possibilidade de produção em épocas de entressafra, o que permite a obtenção de bons preços e viabiliza o comércio para o consumo de mesa em todo o Brasil. No Estado, a diversidade de solos e a existência de regiões com diferentes condições climáticas favorece o cultivo de um grande número de espécies, proporcionando oferta de frutas durante todos os meses do ano (CONTE, 2017). Em função disso, a fruticultura está se tornando uma alternativa às atividades tradicionais, como a produção de grãos e a pecuária, cuja concorrência é cada vez maior com Estados do Centro-Oeste e Nordeste do país (JOÃO et al., 2001).

Considerando tais aspectos, o grupo das pequenas frutas vem ganhando destaque em algumas cidades gaúchas, como Vacaria e Caxias do Sul-RS, além de outros Estados, como Minas Gerais e São Paulo. A tendência é que ocorra aumento e diversificação do cultivo de frutas vermelhas, como a framboeseira (CAMINITI; PAGOT, 2016).

No caso da framboeseira vermelha, esta é intensamente cultivada em países de Europa, Leste Europeu e América do Norte, e em menor volume, na Austrália e Nova Zelândia, sendo que na América do Sul o Chile é o principal produtor, seguido do México (CAMINITI; PAGOT, 2016).

De acordo com Caminiti e Pagot (2016), a produção mundial dessa fruta em 2010 foi de 371 mil ton. sendo os principais países produtores os Estados Unidos, Sérvia, Polônia e Chile, que concentram 72% da produção e operam mais de 80% do mercado internacional, localizando-se esta demanda quase exclusivamente no Hemisfério Norte. Outros países com tradição na produção e no hábito de consumo são Reino Unido, França, Alemanha, Canadá, Itália e os países do Leste Europeu. Espanha e México são grandes produtores, principalmente de fruta fresca, para abastecer o mercado europeu e norte-americano, respectivamente.

Vale salientar que a framboesa fresca proveniente da América do Sul é comercializada durante o outono-inverno norte-americano; com isso, os preços deste fruto fresco em seus mercados tradicionais se mantêm em níveis muito bons. O principal negócio internacional das framboesas é o da fruta congelada, que mobiliza mais de 85% do volume comercializado anualmente. Considerada uma commodity de alto valor para o mercado de frutas congeladas, a tendência é estável e vem se incrementando ano após ano (CAMINITI; PAGOT, 2016).

No Brasil, estima-se que haja 150 hectares plantados de framboeseira, que conferem 300 ton. colhidas ao ano (GONÇALVES et al., 2011) e entre os Estados produtores estão Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Minas Gerais e São Paulo.

No Rio Grande do Sul as áreas de cultivo de framboesa se restringem a região serrana, com 8,8 hectares plantados, sendo que oito hectares estão no município de Vacaria e o restante em pequenos cultivos nos municípios de Antonio Prado, Farroupilha e Gramado (PAGOT, 2004).

2.2 Pequenas frutas

O grupo das pequenas frutas abrange espécies de amoreira-preta (*Rubus* spp.), morangueiro (*Fragaria* spp.), framboeseira (*Rubus idaeus*), mirtilheiro (*Vaccinium myrtillus*) e physalis (*Physalis* sp). Estas possuem alto valor agregado e despertam a atenção de produtores, especialmente os de base familiar, comerciantes, consumidores e pesquisadores (LEITZKE, 2007).

A produção de pequenas frutas, de modo geral, caracteriza-se pelo baixo custo de implantação, grande exigência de mão-de-obra, mas com a real possibilidade da obtenção de alto retorno econômico em áreas de pequeno cultivo e num curto espaço de tempo (PAGOT; HOFFMANN, 2004; SCHNEIDER et al., 2007).

O interesse do mercado consumidor mundial por frutas frescas vem aumentando ao longo dos anos e as frutas vermelhas estão neste cenário. A maior procura por produtos à base destas frutas por parte dos consumidores se dá pelas pesquisas que apontam seu valor como alimento funcional (ANTUNES, 2004; ANTUNES, 2013;).

Estudos demonstram que no grupo das pequenas frutas cada espécie possui teores característicos de compostos fenólicos, constituídos essencialmente por antocianinas, flavonóis, proantocianidinas (elagitaninos e galtaninos), ácidos fenólicos, catequinas e isoflavonoides, compostos reconhecidos pela sua capacidade antioxidante (LILA; RASKIN, 2005).

Quanto a framboeseira, sua introdução no Brasil teve início com a chegada dos imigrantes alemães, que as trouxeram para os quintais de suas colônias, visando o consumo familiar. Os primeiros cultivos comerciais ocorreram no estado de São Paulo, mais precisamente na cidade de Campos do Jordão, na década de 50, por meio da introdução de algumas cultivares trazidas pelo Barão Suíço Otto Von Leithner (PAGOT, 2004), que obteve grande êxito na sua ação, pois o cultivo se difundiu para outras regiões do Brasil com aptidão para a produção, como é o caso do Sul do país.

A cultura tem tido boa aceitação na região Sul; inclusive, por produtores de outras pequenas frutas como a amora-preta, o mirtilo e a physalis, pela possibilidade de diversificação da propriedade. Assim, podem garantir renda em períodos diferenciados, além da cultura adaptar-se ao cultivo orgânico, tendo em vista sua rusticidade (MARCHI, 2015).

2.2.1 Framboeseira (*Rubus idaeus*)

2.2.1.1 Origem e descrição botânica

A framboeseira (Figura 1) pertence à família Rosaceae e ao gênero *Rubus*, o qual inclui plantas herbáceas, perenes e bienais. As cultivares comerciais são originárias das duas subespécies diploides, ambas ecoótipos da *Rubus idaeus*. A *Rubus idaeus* subsp. *vulgatus* Arrhen é nativa do centro e norte da Europa e a *Rubus idaeus* subsp. *stringosus* Michx, nativa da Ásia (ULIANA; KLUGE, 2013).



Figura 1. Planta de framboeseira.
Foto: Tainara Gris, 2019.

A planta é um arbusto, com ramos e hastes eretos no primeiro período vegetativo que se curvam logo depois, devido ao peso da vegetação, sendo os ramos bianuais (CAMINITI; PAGOT, 2016).

O sistema radicular é fasciculado, desenvolvendo-se em maior parte nos primeiros 25 cm do solo, este constitui a parte perene da planta. As raízes podem apresentar até 20 mm de diâmetro, sendo a espessura de 3 a 4 mm a mais frequente (OLIVEIRA et al., 2007). O sistema radicular apresenta máximo crescimento no verão, influenciado pela temperatura do solo. No inverno ocorre o crescimento de raízes adventícias, que aparecem em intervalos irregulares (ULIANA; KLUGE, 2013).

Os caules podem ser lisos ou sustentar acúleos, os acúleos podem apresentar diversas formas e tamanhos, variando muito a densidade. Estes caracteres são extremamente importantes sob o ponto de vista taxonômico e na susceptibilidade de algumas doenças. Além disso, essa presença de acúleos pode dificultar o manuseio das plantas no momento da colheita e dos tratamentos culturais como a poda, por exemplo (MOURA, 2012).

As hastes podem alcançar uma altura máxima de 2 a 4 m, porém em muitas variedades esta altura é menor, dependendo também do vigor, das condições ambientais e nutricionais de desenvolvimento. Ao finalizar o segundo período vegetativo, após a frutificação, os ramos secam (CAMINITI; PAGOT, 2016).

As folhas jovens e as dos ramos frutíferos são trifoliadas, enquanto as adultas têm cinco folíolos. A parte adaxial das folhas é glabra e sem estômatos, em quanto que a parte abaxial é tomentosa e com grande número de estômatos. Uma peculiaridade das folhas dessa frutífera está na capacidade em absorver água e movimentá-la quer no sentido ascendente, quer no descendente, sendo a capacidade condutora da água superior às necessidades da planta. A queda das folhas ocorre no outono na maioria das cultivares (ULIANA; KLUGE, 2013).

Suas flores tem aproximadamente 2,5 cm de diâmetro e são hermafroditas; possuem cinco sépalas e cinco pétalas, embora este número possa variar em função no genótipo. As pétalas são brancas, podendo ocasionalmente ocorrer na cor rosa ou avermelhada (OLIVEIRA, 2007).

A framboeseira produz uma inflorescência do tipo cimeira, em que o eixo principal é encimado por uma flor. A floração inicia-se no ápice, seguida de outras flores que aparecem sucessivamente em direção a base, em ráquis secundários (OLIVEIRA et al., 2007).

Após a fertilização, o ovário se transforma em uma minidrupa (drupéola). O fruto é um agregado de drupéolas formado pela associação de um grande número de ovários, todas da mesma flor e aderentes a um receptáculo comum. Como cada drupéola é um fruto perfeito, a framboesa forma um fruto múltiplo de drupas ou agregado que possui de 10 a 20 mm de diâmetro com sabor doce ou ligeiramente ácido e aroma peculiar (RASEIRA, et al., 2004; ULIANA; KLUGE, 2013).

Segundo Caminiti e Pagot (2016), quanto ao hábito de crescimento as framboeseiras são divididas em dois grupos: não reflorescente e reflorescente. Assim, a planta de framboeseira que produz no verão é chamada de não reflorescente, apresenta hábito bianual, ou seja, cresce durante um ano e frutifica no seguinte. O ramo frutífero morre depois de terminar sua produção e, nesse momento, o ramo vegetativo já cresceu, para ter condições de produzir no próximo ano. Os frutos são produzidos em inflorescências oriundas de gemas axilares, as flores são perfeitas e dependem da polinização por abelhas para produzir frutos bem formados e de valor comercial.

As framboeseiras que produzem seus frutos no período de outono são denominadas de plantas reflorescentes. No primeiro ano, os brotos vegetativos dão a primeira colheita na parte terminal da cana, desde o verão ao outono; por outro lado, as gemas axilares subapicais produzem uma segunda colheita na primavera do ano seguinte. Estas necessitam de menor quantidade de unidades de frio, podendo ser indicadas para regiões de clima subtropicais (OLIVEIRA et al., 2004; CAMINITI; PAGOT, 2016).

Independente do grupo, as framboeseiras desenvolvem-se bem em solos profundos, bem drenados, com boa capacidade de retenção de água e pouco argilosos, com pH neutro a ligeiramente ácido (entre 5,5 a 6,5) e conteúdo de matéria orgânica superior a 3% (ULIANA; KLUGE, 2013).

As mudas devem ser plantadas em áreas bem iluminadas, com boa circulação de are protegidas em relação ao vento. Quanto à temperatura, por ser uma frutífera de clima temperado é exigente em frio, devendo ser plantada em região com verão relativamente fresco e inverno com temperatura inferior a 7°C por, pelo menos, 250 horas (ULIANA; KLUGE, 2013).

2.2.1.2 Framboeseira 'Polana' e 'Schönemann'

A framboeseira 'Polana' é resultante do cruzamento entre 'Heritage' e 'Zeba Herbsterte'. Foi obtida na Usina Experimental Orchard, em Brzezna. Muito cultivada na Polônia desde 1991, esta cultivar produz muitos brotos à partir da raiz, os quais crescem, com cerca de 1,50 a 1,70 m de altura e é muito resistente à geada, possui elevado vigor e bom rendimento.

Produz bagas grandes, brilhantes, com drupéolas coesas, conferindo aos frutos boa qualidade e excelente sabor (FISHER, 2012). A frutificação é do tipo reflorescente e os frutos são muito utilizados para o processamento. A frutificação do outono é abundante e a fruta amadurece sucessivamente até a geada. Na primavera da estação seguinte, novos brotos com flores crescem nas gemas subapicais das hastes. Os frutos que crescem neles amadurecem entre junho e julho, mas o rendimento obtido é muito mais modesto em relação ao outono (ASSOCIAÇÃO POLONESA DE PRODUTORES DE FRUTAS, 2018).

A cultivar Schönemann, desenvolvida na Alemanha, é oriunda do cruzamento entre 'Lloyd George' × 'Preussen Germany'. Possui de 1,20 até 1,80m de altura, boa resistência a doenças e seus brotos são resistentes ao frio. Produz no final do verão, de julho até o final de agosto, com alto rendimento. Os frutos são apreciados pela equilibrada acidez, que os diferencia

de outras cultivares e ideais para o consumo *in natura* ou processamento em geleias, doces e sucos. Prefere locais ensolarados e seus ramos devem ser eliminados após a colheita.

2.2.1.3 Propagação e cultivo

Para se obter êxito na produção de frutas é de extrema importância a implantação de um pomar com mudas de qualidade, adotando práticas adequadas, desde a instalação até a obtenção do material propagativo e do método recomendado para cada espécie, entre outras.

A propagação das frutíferas pode ser sexuada ou assexuada. No entanto, na fruticultura a propagação vegetativa ou clonal é a mais utilizada e consiste na multiplicação de indivíduos a partir de porções das plantas, em razão da capacidade de regeneração dos órgãos vegetativos (HARTMANN et al., 2002; FACHINELLO et al., 2005). Esse método tem por objetivo multiplicar plantas com garantia de manutenção das características de importância agrônômica e idênticas necessidades climáticas, edáficas, nutricionais e de manejo (FRANZON, 2010).

Para a produção de mudas de framboeseira os métodos utilizados são a estaquia, as estruturas especializadas, como os rebentos, e a micropropagação (FRANZON et al., 2010) (Figura 2).



Figura 2. Framboeseira cultivada *in vitro*.
Foto: Tainara Gris, 2019.

Apesar dessas opções, tradicionalmente as estacas subterrâneas tem sido usadas para a multiplicação da framboeseira. Estas estacas de raiz são retiradas do solo na estação de dormência e depois armazenadas a frio até a primavera seguinte. Neste método de propagação, após retiradas do solo as raízes são cortadas em pedaços e refrigeradas com camadas de substrato fertilizado para induzir as brotações, assim, mais plantas podem ser obtidas a partir da mesma raiz (QIU et al., 2016).

Silva et al. (2012), visando a estudar a propagação vegetativa da framboeseira negra (*Rubus niveus* Thunberg), verificaram o potencial de enraizamento de estacas caulinares e radiculares, assim como daquelas oriundas da mergulhia aérea e de ponta. Descreveram ainda que estacas caulinares possuem maior potencial rizogênico, não sendo necessário usar o ácido indolbutírico e armazenar as estacas a frio, além da mergulhia de ponta promover a maior emissão de raízes.

A potencialidade de uma estaca formar raízes é variável com a espécie e a cultivar (FACHINELLO et al., 1995), pois há evidências de que o enraizamento por estaquia se dá em função da genética (HAISSIG, 1982). Em trabalho com estacas lenhosas de amoreira-preta, Antunes et al. (2000) observaram diferentes percentuais de enraizamento entre as cultivares

utilizadas. De acordo com Wang e Andersen (1989), as diferenças nos níveis de auxinas ou dos cofatores de enraizamento.

Com relação à micropropagação, Vujovic et al. (2017) relataram o interesse na utilização da mesma (Figura 3). Esta técnica proporciona a propagação massal de frutíferas e esta sendo utilizada com eficientes resultados na produção de mudas no Brasil e em outros países, como por exemplo, o mirtilheiro no Uruguai (CASTILLO et al., 2004).



Figura 3. Explantes de framboeseira cultivar Polana.
Foto: Tainara Gris, 2019.

A micropropagação apresenta vantagens quando comparada aos métodos convencionais de propagação vegetativa, incluindo a multiplicação de clones de alta qualidade, produção durante todo o ano, obtenção de plantas livres de patógenos e produção em larga escala de plantas em um curto espaço de tempo a partir de um explante (RANI; RAINA, 2000), além de possibilitar a multiplicação de espécies vegetais difíceis de serem propagadas por outros métodos (CASTILLO et al., 2004).

De acordo com Uliana e Kluge (2013), esse método baseia-se nos seguintes passos:

- Pré-tratamento de plantas matrizes (quando há presença de pragas)
- Coleta do explante
- Indexação ou desinfecção dos explantes
- Extração de meristemas ou segmentos nodais
- Estabelecimento *in vitro*
- Multiplicação
- Enraizamento
- Aclimatização

Esta técnica é uma ferramenta interessante para o setor de produção de mudas, já que a tendência da fruticultura moderna está voltada aos plantios adensados, com a utilização de um maior número de mudas por hectare, e ao uso de mudas certificadas (LEITZKE, 2007).

2.3 Substâncias húmicas

As substâncias húmicas são produtos oriundos da transformação dos resíduos orgânicos, através de reações de condensação, demetilação e oxidação (SANTOS; CAMARGO, 1999).

De acordo com Caron et al. (2015), a matéria orgânica do solo pode ser dividida em dois grupos fundamentais; o primeiro está formado por compostos quimicamente bem definidos, incolores e exclusivos dos solos. Estes compostos constituem aproximadamente 10 a 15% da reserva total de carbono orgânico nos solos minerais e são proteínas, aminoácidos, carboidratos e complexos, resinas, ligninas, álcool, auxinas, aldeídos e ácidos aromáticos e alifáticos. O segundo grupo é representado pelas substâncias húmicas, que constituem 85 a 90% da reserva total de carbono orgânico.

Tais substâncias são amplamente distribuídas no solo, tendo origem na degradação química e biológica de resíduos orgânicos e da atividade sintética dos microrganismos do solo (CARON et al., 2015).

Os microrganismos desempenham papel fundamental nos solos, especialmente no ciclo do carbono e na gênese das substâncias húmicas. Os exsudados liberados pelos microrganismos e pelas raízes das plantas contribuem para o estabelecimento da atividade de prótons e de elétrons da solução do solo e, também, para a reciclagem dos elementos-traço do solo (BALDOTTO; BALDOTTO, 2014).

A matéria orgânica humificada do solo é composta por diferentes frações, de acordo com sua solubilidade. De modo geral, é aceita a distribuição das frações humificadas em três categorias: as huminas, que representam a matéria orgânica intimamente ligada à fração mineral do solo, e por isso insolúvel; os ácidos fúlvicos, que apresentam grande quantidade de grupamentos funcionais oxigenados e são solúveis tanto em meio ácido como básico, e os ácidos húmicos, insolúveis em meio fortemente ácido, pois, com a protonação dos grupamentos funcionais ocorre o colapso da estrutura e precipitação das macromoléculas. Os ácidos húmicos representam a fração reativa mais estável da matéria orgânica humificada (CANELLAS et al., 2001).

As substâncias húmicas participam de importantes reações, influenciando a fertilidade dos solos pela liberação de nutrientes, pela detoxificação de elementos químicos, melhoria das condições físicas e biológicas e pela produção de substâncias fisiologicamente ativas (GUMINSKI, 1968; SANTOS; CAMARGO, 1999).

Rosa et al. (2009), em estudo para avaliar o efeito de substâncias húmicas solúveis extraídas de carvão mineral nos parâmetros cinéticos de absorção de Potássio (K) e no crescimento e na concentração de nutrientes em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), observaram que as substâncias húmicas extraídas de carvão mineral promovem o crescimento da parte aérea e das raízes.

Na produção de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), Bernardes et al. (2011) avaliaram a influência de doses de substâncias húmicas adicionadas ao substrato Plantmax® e concluíram que o uso de 0,96 ml dessas substâncias proporciona o desenvolvimento de mudas de melhor qualidade.



Figura 4. Produto Solo Humics®.
Foto: Tainara Gris, 2019.

Distinguir os efeitos diretos e indiretos dessas substâncias não tem sido tarefa fácil. De fato, alguns de seus efeitos positivos podem ser atribuídos a uma melhoria geral da fertilidade do solo, levando a uma maior disponibilidade de nutrientes para as plantas, enquanto, em outros casos, o ácido húmico parece influenciar positivamente as vias metabólicas e de sinalização envolvidas no desenvolvimento da planta, agindo diretamente em alvos fisiológicos específicos (TREVISAN et al., 2010).

Em vários estudos, uma atividade semelhante a hormônio também foi atribuída às substâncias húmicas. Por exemplo, Muscolo et al. (1998) e Nardi et al. (2000) pesquisaram a relação com os fitohormônios, visto que ativam a bomba de prótons (H^+), da plasmalema e do vacúolo dentro da rota de biossíntese da auxina, mas nenhuma evidência convincente de sua presença nas substâncias húmicas foi encontrada.

Segundo Silva et al. (2015), a *Cattleya warneri* var. Concolor (Orchidaceae), quando cultivada *in vitro* com adição de ácido húmico isolado de vermicomposto desenvolve plantas com alto vigor vegetativo.

Efeitos favoráveis do uso das substâncias húmicas foram relatados em relação à emergência e crescimento de plântulas, floração, iniciação radicular e massa das raízes e da parte aérea, além do acréscimo na população microbiana da rizosfera e na absorção de nutrientes (CHEN et al., 2004).

Em avaliação do desenvolvimento do sistema radicular e da produção dos colmos e folhas de milho (*Zea mays*) com solução nutritiva e quatro concentrações de substâncias húmicas (0, 10, 20 e 30 mg.L⁻¹) provenientes de sete fontes de matéria orgânica, Silva et al. (1999) observaram que as substâncias húmicas extraídas das fontes avaliadas aumentam a produção de matéria seca das raízes, o comprimento do sistema radicular, a superfície ocupada pelas raízes e diminuíram o raio médio das raízes. Os mesmos autores constataram que houve aumento na produção de matéria seca de colmos e das folhas.

Na fruticultura, o efeito das substâncias húmicas foi testado em culturas, como o abacaxi 'Vitória' cultivado *in vitro*, na fase de aclimação, sendo que o ácido húmico oriundo de vermicomposto e bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia* promoveram o crescimento da parte aérea, do sistema radicular e do conteúdo de Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) nas plantas (BALDOTTO et al., 2010).

Goenadi e Sudharama (1995), em estudos *in vitro* para avaliar o efeito de substâncias húmicas no desenvolvimento da parte aérea dos segmentos nodais de gnetum (*Gnetum gnemon*), cardamomo (*Elletaria cardamomum*) e pachouli (*Pogostemon cablin*), observaram que a iniciação radicular foi maior quando substâncias húmicas foram utilizadas em meio de cultura líquido. Os dados obtidos levam à suposição de que, dependendo das espécies vegetais, a adição destas substâncias em concentrações específicas induz aumento do crescimento da parte aérea e/ou formação de raízes e promove crescimento mais rápido.

Com relação ao uso dessas substâncias na micropropagação de framboeseira não existem trabalhos publicados, o que denota a importância do presente estudo.

2.4 Reguladores vegetais

Os reguladores de crescimento são moléculas sintéticas que tem efeito parecido com os hormônios vegetais. De acordo com Kielse et al. (2009), além da escolha do explante mais adequado, é necessário o uso de reguladores de crescimento adequados para estimular a formação de parte aérea e raízes de plantas.

As auxinas, giberelinas e citocininas são os reguladores de crescimento mais utilizados na cultura de tecidos (QUISEN; ANGELO, 2008; CID; TEIXEIRA, 2014), isolados ou em combinações, para estimular o crescimento rápido de células e posterior desenvolvimento organizado de raízes e parte aérea (DINIZ et al., 2006).

As citocininas pertencem a um grupo de substâncias que promovem a divisão celular (TAIZ et al., 2017), sendo usadas na cultura de tecidos para promover a indução de brotos adventícios a partir de calos ou para induzir multibrotações a partir de gemas axilares ou apicais (CID et al., 1994).

A 6-benzilaminopurina (BAP), a 6-furfuriadenina (KIN) e o tidiazurom (TDZ) são exemplos de citocininas sintéticas empregadas em cultivo *in vitro* (QUIROZ et al., 2017; MARTINS et al., 2014; PING et al., 2010). Dentre estas, BAP é a citocinina sintética de uso mais abrangente. É utilizada em trabalhos com praticamente todos os grupos de plantas durante o cultivo *in vitro*, na etapa de propagação.

Leitzke et al. (2010), avaliando o uso de 6-benzilaminopurina (BAP) na micropropagação de framboeseira e amoreira-preta, verificaram que esta citocinina na concentração de 15 μM foi mais eficiente para ambas frutíferas, induzindo maior número médio de folhas, brotações e gemas.

Em meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) com $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ BAP e 15 mg L^{-1} sulfato de ferro, Oliveira e Nino (2009) registraram maior quantidade de mudas para as framboeseiras 'Autumn Bliss', 'Heritage', 'Batum' e 'Dorman Red'.

Em outro experimento, Khlebova et al. (2019) também testaram o uso de BAP e quelato de ferro na micropropagação de framboeseira 'Biryulevskaya' e observaram que a adição de $1,0 \text{ mg de L}^{-1}$ de BAP ao meio de cultura MS contendo uma concentração tripla de quelato de ferro proporcionou proliferação intensiva de brotos adventícios de alta qualidade.

Na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cultivar Xavante a utilização de BAP aumentou o número de brotações, gemas e folhas (PASA et al., 2012).

O ácido naftalenoacético (ANA), o ácido indolacético (AIA) e o ácido indolbutírico (AIB) são as principais auxinas utilizadas no cultivo *in vitro*. O ácido indolbutírico (AIB) é uma auxina que ao ser aplicada exógenamente induz as raízes adventícias, podendo formar calo antes de aparecer as raízes (LEMOS, 2014). A indução de calos ou enraizamento vai depender da concentração utilizada e do tipo de composto (CID; TEIXEIRA, 2014).

Villa et al. (2008), em estudo sobre crescimento *in vitro* de amoreira-preta obtiveram maior comprimento da parte aérea da cultivar Brazos com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA.

Pasqual et al. (1991) observaram que brotos mais alongados de amoreira-preta 'Ébano' são obtidos com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, $0,001 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e que a adição de AG3 (ácido giberélico) ao meio com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,001 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA resulta em um significativo aumento do número de brotos por gema.

Radmann et al. (2002) avaliaram o efeito do enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira 'M-9' e constataram que quando o ANA foi utilizado em concentrações mais baixas houve maior porcentagem de enraizamento.

3. Capítulo 1- Substâncias húmicas e 6-benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de cultivares de framboeseira

3.1 Introdução

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.), pertencente ao grupo das pequenas frutas, possui grande potencial de produção na região Sul do Brasil. Seus frutos possuem sabor e aroma agradáveis, além do alto valor nutritivo, sendo muito apreciados no preparo de geleias, sucos, sorvetes e para o consumo *in natura* (CAMINITI; PAGOT, 2016).

Para que haja expansão nas áreas de produção é primordial a utilização de mudas de qualidade. No caso da framboeseira, normalmente a propagação é realizada por meio da estaquia aérea e subterrânea (RASEIRA et al., 2004) ou por estruturas especializadas, mas outra alternativa promissora é a micropropagação, técnica que possibilita a obtenção de várias plantas a partir de um explante, redução do tempo e da área necessária à propagação, além da qualidade fitossanitária (SCHUCH; ERIG, 2005).

Vários fatores podem influenciar no potencial regenerativo de uma espécie durante o processo de micropropagação, como o genótipo, os tipos e concentrações de reguladores vegetais, os tipos e tamanhos de explantes, os meios de cultura e as condições de cultivo (BERED et al., 1998). Além disso, alternativas inovadoras, como as substâncias húmicas, podem ser utilizadas visando o melhor desenvolvimento da cultura *in vitro*.

As substâncias húmicas são produtos oriundos da transformação dos resíduos orgânicos, através de reações de condensação, demetilação e oxidação (SANTOS; CAMARGO, 1999). Participam de importantes reações, influenciando a fertilidade dos solos pela liberação de nutrientes, pela detoxificação de elementos químicos, melhoria das condições físicas e biológicas e pela produção de substâncias fisiologicamente ativas (GUMINSKI, 1968; SANTOS; CAMARGO, 1999).

Em alguns estudos, uma atividade semelhante à auxina foi atribuída às substâncias húmicas, como por exemplo, de Muscolo et al. (1998) e Nardi et al. (2000), que testaram a relação direta de fitohormônios, tendo em vista que ativam a bomba de prótons (H⁺) da plasmalema e do vacúolo, dentro da rota de biossíntese da auxina.

Considerando a importância do aperfeiçoamento na propagação da framboeseira e a escassez de informações a respeito do uso de substâncias húmicas na micropropagação, justifica-se o desenvolvimento de pesquisas sobre esse tema, principalmente no que se refere à avaliação da sua eficiência. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da 6-benzilaminopurina e de concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro* das framboeseiras ‘Polana’ e ‘Schönemann’.

3.2 Material e métodos

O trabalho foi conduzido de junho a julho de 2019 no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão-RS.

Foram utilizadas plantas matrizes de framboeseira ‘Polana’ e ‘Schönemann’ cultivadas *in vitro* no mesmo laboratório. Como explantes, foram utilizados segmentos nodais contendo duas gemas e uma folha, com aproximadamente dois centímetros.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x4, sendo duas cultivares (‘Polana’ e ‘Schönemann’), duas concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) (0 mg L⁻¹ e 0,8 mg L⁻¹) (Dutra, et al., 2012) e quatro concentrações do produto SoloHumics® (0mg L⁻¹, 1mg L⁻¹, 2mg L⁻¹, 3mg L⁻¹), totalizando 16 tratamentos e quatro repetições, sendo cada repetição composta por quatro explantes no frasco de cultivo.

O produto SoloHumics® é composto de uma combinação de ácidos húmicos e fúlvicos, com a seguinte composição: ácido húmico (25%), ácido fúlvico (5%), matéria orgânica (59%), carbono orgânico total (31%) e potássio (3%).

Os explantes foram inoculados em frascos de vidro transparente com capacidade para 200 ml, contendo 30 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose, geleificado com 6,0 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,8 ± 0,1 anteriormente à autoclavagem a 120°C e 108 kPa, durante 15 minutos. Em seguida, foram transferidos para sala de crescimento e mantidos durante 60 dias com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e 48 µmol m⁻² s⁻¹ de fluxo de fótons.

Após este período, avaliou-se a sobrevivência (%), o número de folhas e de brotações, o comprimento da parte aérea (cm) e da maior raiz (cm), o número de raízes, a massa de matéria fresca e seca de planta (g). O comprimento da parte aérea e da maior raiz foram mensurados com paquímetro digital e a massa de matéria fresca e seca com balança analítica de precisão. Para a determinação da massa de matéria seca, as amostras foram dispostas em estufa de circulação forçada, com temperatura constante de 70°C até atingirem peso constante.

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância através do teste F (p≤0,05). Constatando-se significância estatística, os efeitos da concentração de substâncias húmicas foram comparados pelo teste de Duncan (p≤0,05) e os efeitos da cultivar e da adição de BAP, comparados pelo teste t (p≤0,05).

3.3 Resultados e discussão

Para a variável sobrevivência, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Sobrevivência das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Concentração de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)	Cultivar			
	Polana		Schönemann	
	benzilaminopurina (BAP) (mg L ⁻¹)			
	Com	Sem	Com	Sem
Sobrevivência (%)				
0	75 ^{NS}	100 ^{NS*}	100 ^{NS}	100 ^{NS}
1	100	100	100	100
2	100	100	100	100
3	100	100	100	100
CV (%)	26,7	0	0	0

^{NS}: não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$) da análise de variância. C.V. (%): coeficiente de variação.

Na produção de mudas a sobrevivência na fase de multiplicação *in vitro* é de extrema importância, pois assegura que as plantas irão para a fase de enraizamento, aumentando as chances de seguir para a etapa de aclimatização e posterior plantio a campo. Assim, quanto maior a porcentagem de sobrevivência, maior é a chance do produtor obter lucro.

Para as variáveis número de folhas, comprimento de parte aérea e número de raízes houve interação tripla entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Número de folhas, comprimento de parte aérea e número de raízes das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Concentração de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)	Cultivar			
	Polana		Schönemann	
	benzilaminopurina (BAP) (mg L ⁻¹)			
	Com	Sem	Com	Sem
Número de folhas				
0	12,9 aA ^{1/}	4,9 bB ^α	29,4 aA ^α	11,1 aB ^α
1	11,6 aA ^α	5,4 bB ^β	32,1 aA ^α	12,1 aA ^α
2	6,7 bA ^β	12,4 aA ^α	53,9 aA ^α	7,5 aB ^α
3	9,9 abA ^β	9,4 abA ^α	41,7 aA ^α	6,8 aB ^α
CV (%)	30,6	38,4	40,2	34,8
Comprimento de parte aérea (cm)				
0	2,13 aA ^α	0,92 cA ^α	2,53 aA ^α	2,41 aA ^α
1	3,18 aA ^α	1,18bcA ^α	2,26 aA ^α	2,73 aA ^α
2	1,34 aB ^β	2,61aA ^α	2,5 aA ^α	2,00 aA ^α
3	2,42 aA ^α	2,21abA ^α	2,3 aA ^α	1,56 aB ^α
CV (%)	48,8	43,4	27,6	48,9
Número de raízes				
0	0,08 aA ^α	0,06 aA ^α	0,00 aA ^α	0,31 aA ^α
1	0,25 aA ^α	0,00 aB ^α	0,00 aA ^β	1,00 aA ^α
2	0,19 aA ^α	2,18 aA ^α	0,00 aA ^β	0,38 aA ^α
3	0,00 aB ^α	1,56 aA ^α	0,00 aA ^α	0,25 aA ^β
CV (%)	131,6	145,7	0	137,9

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a aplicação de BAP dentro de cada cultivar para cada Concentração de substâncias húmicas (mg L⁻¹). Letras gregas iguais na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a cultivar para cada aplicação de BAP dentro de cada cultivar cada para concentração de substâncias húmicas (mg L⁻¹). C.V. (%): coeficiente de variação.

Quanto ao número de folhas da cultivar Polana, quando comparado em cada concentração de substâncias húmicas, com adição ou não de regulador de crescimento BAP em cada cultivar, a concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas com regulador de crescimento foi a que proporcionou a menor média, não diferindo estatisticamente apenas da concentração de 3 mg L⁻¹. Em contrapartida, quando o BAP não foi usado o maior número de folhas foi obtido com o uso de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, não diferindo estatisticamente de 3 mg L⁻¹. Para ‘Schönemann’ não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 2).

Goenadi e Sudharama (1995), em estudo sobre a propagação de belinjo (*Gnetum gnemon*) observaram que a utilização de ácidos húmicos promoveu maior número de folhas, além do menor período de emissão dos brotos. Esse resultado reitera a hipótese de que os ácidos húmicos aumentam a permeabilidade da membrana plasmática, resultando em aumento da captação de nutrientes (VAUGHAN; MCDONALD, 1976).

O aumento da absorção de nutrientes tem sido atribuído ao aumento da permeabilidade dessa membrana por meio da ação das substâncias húmicas e à ativação da H^+ -ATPase da membrana plasmática (CANELLAS; SANTOS, 2005). As H^+ -ATPases (bombas de H^+) são enzimas transmembranares capazes de hidrolisar ATP, gerando energia e gradiente eletroquímico que está diretamente envolvido em dois mecanismos fundamentais para o desenvolvimento e crescimento vegetal (RODDA et al., 2006).

Para a mesma variável, comparando os tratamentos com e sem regulador de crescimento, para 'Polana' verificou-se que na presença de BAP os tratamentos com 1 mg L^{-1} de substâncias húmicas e sem o uso das mesmas diferiram do mesmo tratamento sem a adição de regulador de crescimento; porém, com 2 mg L^{-1} de substâncias húmicas e sem a utilização do regulador de crescimento foi obtido maior número de folhas, diferindo estatisticamente do tratamento com regulador (Tabela 2).

Entre as cultivares, quando comparada a utilização ou não do regulador de crescimento, no tratamento com BAP, 'Schönemann' foi superior estatisticamente a 'Polana' nas concentrações de 2 e 3 mg L^{-1} de substâncias húmicas; enquanto sem este regulador 'Schönemann' apresentou mais folhas com o uso de 1 mg L^{-1} de substâncias húmicas, diferindo estatisticamente de 'Polana' (Tabela 2).

A área foliar é uma variável de suma importância na propagação, por estar diretamente relacionada com a taxa fotossintética.

Para o comprimento de parte aérea da 'Polana', quando o regulador de crescimento foi adicionado ao meio de cultura não houve diferença estatística entre as concentrações de substâncias húmicas. Entretanto, sem a utilização do mesmo o maior comprimento foi observado em 2 e 3 mg L^{-1} das mesmas substâncias, diferindo estatisticamente das demais concentrações. Para

‘Schönemann’ não houve diferença significativa entre a utilização ou não de BAP entre as concentrações de substâncias húmicas (Tabela 2).

Para a mesma variável, quando comparado os tratamentos com e sem regulador de crescimento, em ‘Polana’ a concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, sem o regulador de crescimento, diferiu estatisticamente da mesma concentração com o regulador e para ‘Schönemann’, enquanto o uso do BAP e de 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas propiciou maior resultado quando comparado ao mesmo tratamento sem o referido regulador (Tabela 2).

Entre as cultivares, quando comparado a utilização ou não de BAP as maiores médias foram obtidas com regulador para ‘Schönemann’ na concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, diferindo estatisticamente do mesmo tratamento com ‘Polana’. Sem o uso de regulador de crescimento não houve diferença significativa entre as duas cultivares nas concentrações de substâncias húmicas testadas (Tabela 2).

Amaral et al. (2017), objetivando analisar a eficiência da utilização de vermicomposto e ou isolados fúngicos do gênero *Trichoderma* como promotores de crescimento de mudas de caroba (*Jacaranda micranta*), observaram que o crescimento em altura das mudas foi maior com a suplementação do substrato com concentrações de vermicomposto.

O crescimento da muda é um dos fatores determinantes para a comercialização e, quanto mais rapidamente o produtor puder comercializá-la, menor será o tempo para obter retorno do capital investido na propagação.

Em relação ao número de raízes, quando comparado em cada concentração de substâncias húmicas, com e sem regulador de crescimento para cada cultivar, não houve diferença estatística. No entanto, analisando a utilização ou não de BAP para cada cultivar entre as concentrações de substâncias húmicas, para ‘Polana’ 1 mg L⁻¹ dessas substâncias com adição do regulador diferiu estatisticamente do mesmo tratamento sem regulador. Sem a adição de BAP 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas diferiu estatisticamente do mesmo tratamento com adição de regulador.

Para a cultivar Schönemann, a adição ou não de regulador de crescimento entre as concentrações de substâncias húmicas não propiciou diferença estatística (Tabela 2).

De acordo com Rodda et al. (2006) e Rosa et al. (2009), até determinadas concentrações os ácidos húmicos podem favorecer o desenvolvimento de plantas, alterando tanto a parte aérea quanto as raízes. Contudo, seus efeitos são difíceis de serem explicados, devido à natureza complexa e ainda desconhecida da fração húmica, é possível que os ácidos húmicos possam exercer inúmeros efeitos nas plantas e que alguns possam resultar em uma regulação da absorção de íons (NARDI et al., 2002).

Para a mesma variável, quando analisado entre as cultivares a adição ou não de BAP em cada concentração de substâncias húmicas, na cultivar Polana maior número de raízes foi verificado com a adição de regulador de crescimento em 1 e 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, sendo superior ao valor obtido para 'Schönemann'. Por outro lado, sem adição de BAP a cultivar Polana apresentou maior número de raízes que a 'Schönemann' com o uso de 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas (Tabela 2).

De acordo com Neto, (2018), a utilização de substâncias bioestimuladoras como as húmicas também demonstra eficiência quando aplicadas em pequenas concentrações, estimulando o bom desempenho dos processos metabólicos e fisiológicos da planta, resultando na obtenção de mudas de maior qualidade, mesmo sob condições ambientais adversas.

Em se tratando da massa de matéria fresca da planta, houve diferença estatística no tratamento com regulador de crescimento para 'Polana' entre as concentrações de substâncias húmicas, sendo que 3 mg L⁻¹ propiciou maior massa, não diferindo estatisticamente das plantas dispostas no meio de cultura sem substâncias húmicas e daquelas em que foi usado 1 mg L⁻¹ de tais substâncias (Tabela 3).

Tabela 3 – Massa de matéria fresca da planta e massa de matéria seca de planta das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação ou não de 6-benzilaminopurina (BAP) e concentrações de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Concentração de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)	Cultivar			
	Polana		Schönemann	
	benzilaminopurna (BAP) (mg L ⁻¹)			
	Com	Sem	Com	Sem
Massa de matéria fresca da planta				
0	0,442aAβ ^{1/}	0,183aAβ	1,281bAα	0,787aBα
1	0,378abAβ	0,293aAα	2,265abAα	0,839aAα
2	0,220bAβ	0,321aAα	2,908aAα	0,334aBα
3	0,481aAβ	0,353aAα	1,403bAα	0,341aBα
CV (%)	29,9	82,4	44,4	76,9
Massa de matéria seca da planta				
0	0,091 aAβ	0,042aAβ	0,216bAα	0,144aAα
1	0,077 aAβ	0,064aAα	0,244abAα	0,132aAα
2	0,047 aAβ	0,064aAα	0,361aAα	0,083aBα
3	0,089 aAβ	0,068aAα	0,242abAα	0,088aBα
CV (%)	35,9	94,2	30,8	57,38

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a aplicação de BAP dentro de cada cultivar para cada concentração de substâncias húmicas (mg L⁻¹). Letras gregas iguais na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a cultivar para cada aplicação de BAP dentro de cada cultivar cada para concentração de SH. C.V. (%): coeficiente de variação.

Fernández et al. (2014), testando ácidos húmicos em substituição do uso de AIB e BAP na multiplicação *in vitro* de bananeira (*Musa* sp.), constataram que a utilização de 10 e 30 mg L⁻¹ de ácidos húmicos permite que as plantas estejam prontas e possam ir direto da fase de multiplicação para a aclimatização, reduzindo assim o tempo e os custos na etapa da micropropagação.

Para a mesma cultivar, sem o uso de BAP não houve diferença estatística entre as concentrações de substâncias húmicas. Para ‘Schönemann’, no meio de cultura com regulador de crescimento, 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas resultou as maiores médias, diferindo estatisticamente de 0 e 3 mg L⁻¹ (Tabela 3).

Santos et al. (2013), em estudo sobre o controle de nematóide *Meloidogyne javanica* em mudas de bananeira ‘prata-anã’ (*Musa acuminata*)

utilizando compostos orgânicos, observaram que o uso das substâncias húmicas apresentou efeito nematocida e nematostático *in vitro*, e ainda promoveu maior massa de matéria fresca de parte aérea e maior altura de mudas em relação à testemunha, o que demonstra a eficácia das mesmas.

Na massa de matéria seca da planta não houve diferença estatística entre as concentrações de substâncias húmicas para 'Polana', com ou sem regulador de crescimento. Quando analisado a adição ou não de BAP nas concentrações de substâncias húmicas para cada cultivar, houve diferença estatística apenas com uso de regulador e utilização de 2 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas para 'Schönemann', as quais diferiram das plantas sem o uso de tais substâncias, enquanto sem a utilização de regulador as médias não diferiram estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 3).

Na comparação entre as cultivares em cada concentração de substâncias húmicas com e sem BAP, 'Schönemann' com regulador de crescimento diferiu de 'Polana' em todas concentrações de substâncias húmicas. Por outro lado, sem o uso do regulador houve diferença estatística apenas para 'Schönemann' sem a adição de substâncias húmicas (Tabela 3).

Baldotto et al. (2009), avaliando a micropropagação de abacaxizeiro com pulverização foliar de ácidos húmicos observaram aumento do acúmulo de matéria seca, com incrementos de cerca de 60% na matéria seca da parte aérea, quando comparado com a testemunha. Também verificaram que a promoção do crescimento das mudas que receberam a aplicação desses ácidos pode melhorar a adaptação das plântulas ao ambiente *ex vitro*, reduzindo o período de aclimatização.

A massa de matéria fresca e seca são importantes do ponto de vista de produção de maior biomassa da planta. Normalmente, à medida que ocorre aumento do acúmulo de matéria orgânica também ocorre aumento da eficiência média de conversão da radiação absorvida para matéria seca e da partição desta entre as partes úteis e o restante da planta (CHARLES EDWARDS, 1986; HAY; WALKER, 1989).

Para o número de brotações houve interação significativa apenas para a adição de regulador de crescimento e cultivar (Tabela 4). Para 'Polana' no tratamento com e sem a adição de BAP não houve diferença estatística e, para

‘Schönemann’, o tratamento com adição de regulador de crescimento foi superior ao que não foi usado o mesmo, diferindo estatisticamente. Entre as cultivares, houve diferença estatística no tratamento com adição de BAP e a cultivar Schönemann apresentou maior média (Tabela 4).

Tabela 4 – Número de brotações das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos à aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

benzilaminopurina (BAP)	Cultivar	
	Polana	Schönemann
Com	0,61 aB ^{1/}	5,85 aA
Sem	0,29 Aa	0,71 bA
C.V. (%)	132,3	69,2

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a adição de benzilaminopurina para cada cultivar. Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando cada cultivar para a aplicação de 6-benzilaminopurina. C.V. (%): coeficiente de variação.

De acordo com Radmann et. al (2009) além da composição do meio de cultura, os reguladores de crescimento, principalmente as citocininas, exercem papel importante nas brotações axilares, pois estas são responsáveis pela redução da superação da dominância apical. Esta variável é importante na produção de mudas, pois quanto mais brotações vigorosas, maior será a possibilidade de obtenção de maior número de mudas.

Nino e Oliveira (2009) observaram que as cultivares apresentaram pronunciada variabilidade genética quanto ao potencial de multiplicação *in vitro*. Tal fato corrobora com os dados obtidos neste trabalho, visto que houve diferença estatística para a maioria das variáveis nas cultivares analisadas.

Quanto ao comprimento de maior raiz houve efeito significativo apenas para adição de regulador de crescimento. Para ambas as cultivares verificou-se maiores medias sem a utilização de BAP, diferindo estatisticamente do tratamento com regulador (Tabela 5).

Tabela 5 – Comprimento de maior raiz das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

benzilaminopurina (BAP)	Polana	Schönemann
Com	0,15 b ^{1/}	0,00 b
Sem	0,56 a	0,86 a
C.V. (%)	168,4	243,0

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando a adição de 6-benzilaminopurina. C.V. (%): coeficiente de variação.

De acordo com Damiani e Schuch (2009), o desenvolvimento do sistema radicular resulta em mudas com maior qualidade fisiológica e diminuição de perdas durante a fase de aclimatização. Alguns fatores como estado nutricional das plantas, época do ano, taxa de respiração e fotossíntese, bem como a relação carbono/nitrogênio podem interferir diretamente no enraizamento da planta (KRAMER; KOZLOWSKI (1972).

Com base no exposto, em geral, verifica-se que 2 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas podem ser usados na multiplicação *in vitro* de ambas cultivares de framboeseiras. Com isso, visando o menor custo nesta etapa da micropropagação, a menor concentração é a mais indicada. Outro aspecto relevante é que as substâncias húmicas, possuem aspectos econômicos e ambientais, pois são fontes naturais renováveis e podem ser extraídas de diferentes resíduos urbanos, como lodo de lixo e esgoto (CANELLAS et al., 2000), os resíduos do processamento de frutos, esterco de animais, entre outros (MELO et al., 2008).

Com relação ao regulador de crescimento, os resultados demonstram que o efeito do regulador de crescimento é variável em função da cultivar. Para 'Polana' não é necessário utilizar 6-benzilaminopurina, o que é vantajoso pela economia nesta etapa da micropropagação.

3.4 Conclusões

A multiplicação *in vitro* das framboeseiras 'Polana' e 'Schönemann' pode ser realizada com 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas.

Com relação ao regulador de crescimento, apenas para 'Schönemann' é necessário utilizar 6-benzilaminopurina na multiplicação *in vitro*.

4 Capítulo 2- Substâncias húmicas e ácido naftalenoacético no enraizamento *in vitro* de cultivares de framboeseira

4.1 Introdução

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.) apresenta grande potencial de produção na região Sul do Brasil. Seus frutos possuem sabor e aroma agradáveis, alto valor nutritivo e são muito apreciados no preparo de geleias, sucos, sorvetes e para o consumo *in natura* (CAMINITI; PAGOT, 2016).

A propagação clonal *in vitro* de espécies pertencentes ao grupo das pequenas frutas tem sido uma das abordagens mais amplamente exploradas em biotecnologia. No caso das framboeseiras, estas são propagadas com sucesso por métodos convencionais de propagação vegetativa, como a estaquia aérea ou subterrânea, além das estruturas especializadas que garantem a preservação das características genéticas desejáveis. No entanto, a cultura de tecidos é outra opção interessante (VUJOVIĆ et al., 2017).

A micropropagação, além de possibilitar a produção de grande quantidade de plantas em curto período de tempo, permite a obtenção de plantas livres de doenças e a propagação de espécies difíceis de serem multiplicadas por outros métodos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

De acordo com Schuch e Erig (2005), o uso de reguladores de crescimento, juntamente com as formulações básicas dos meios de cultura é imprescindível para que se obtenha êxito na propagação de algumas culturas *in vitro*. Dentre os reguladores de crescimento, o ácido naftaleno acético (ANA) é utilizado para o enraizamento *in vitro* de framboeseira.

Os efeitos observados dos reguladores de crescimento quanto às respostas das células, tecidos e órgãos *in vitro* variam de acordo com as condições ambientais, o tipo do explante e o genótipo (PASQUAL, 2001).

Para melhorar as condições do cultivo *in vitro*, algumas técnicas vem sendo adotadas na micropropagação, como a adição de substâncias húmicas

ao meio de cultura. Alguns dos efeitos positivos dessas substâncias podem ser atribuídos a uma melhoria geral da fertilidade do solo, levando a uma maior disponibilidade de nutrientes para as plantas, enquanto, em outros casos, parece influenciar positivamente nas vias metabólicas e de sinalização envolvidas no desenvolvimento da planta, agindo diretamente em alvos fisiológicos específicos (TREVISAN et al., 2010). Porém, distinguir entre os efeitos diretos e indiretos dessas substâncias não tem sido tarefa fácil.

Na literatura há escassez de informações a respeito do uso de substâncias húmicas na produção de mudas, especialmente na micropropagação, fato que justifica o desenvolvimento de pesquisas, principalmente no que se refere à avaliação da sua eficiência. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de ácido naftalenoacético e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro* das framboesiras ‘Polana’ e ‘Schönemann’.

4.2 Material e métodos

O trabalho foi conduzido de setembro a outubro de 2019, no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas, RS, Campus Capão do Leão.

Foram utilizadas plantas matrizes de framboeseira ‘Polana’ e ‘Schönemann’ cultivadas *in vitro* no mesmo laboratório. Como explantes, foram utilizados segmentos nodais contendo duas gemas e uma folha, com aproximadamente dois centímetros.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x4, sendo duas cultivares (‘Polana’ e ‘Schönemann’) duas concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) (0mg L^{-1} , $0,1\text{mg L}^{-1}$) (DUTRA, et al., 2012) e quatro concentrações do produto SoloHumics® (0mg L^{-1} , 1mg L^{-1} , 2mg L^{-1} , 3mg L^{-1}), totalizando 16 tratamentos, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por quatro explantes no frasco de cultivo.

O produto comercial SoloHumics® é composto de uma combinação de ácidos húmicos e fúlvicos, com a seguinte composição: ácido húmico (25%), ácido fúlvico (5%), matéria orgânica (59%), carbono orgânico total (31%) e potássio (3%).

Os explantes foram inoculados em frascos de vidro transparente com capacidade para 200 ml, contendo 30 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose, geleificado com 6,0 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,8 ± 0,1 anteriormente à autoclavagem a 120°C, 108 kPa, durante 15 minutos.

Em seguida, os mesmos foram transferidos para a sala de crescimento e mantidos durante 30 dias com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e 48 µmol m⁻² s⁻¹ de fluxo de fótons.

Após este período avaliou-se a sobrevivência (%), o número de folhas, número de brotações, o comprimento de parte aérea (cm), a massa de matéria fresca (g), o número de raízes e o comprimento da maior raiz (cm) e a massa de matéria fresca de planta (g). O comprimento de parte aérea e de maior raiz foram mensurados com paquímetro digital e a massa de matéria fresca com balança analítica de precisão. As amostras foram levadas a estufa de circulação forçada, com temperatura constante de 70°C até atingir peso constante.

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, os efeitos da concentração de substâncias húmicas foram comparados pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) e os efeitos da cultivar e da adição de BAP, comparados pelo teste t ($p \leq 0,05$).

4.3 Resultados e discussão

Para a porcentagem de sobrevivência, observa-se o bom desempenho das cultivares estudadas (Tabela 1). Esta variável é de suma importância na produção de mudas, pois possibilita a sequência das etapas; no caso, a aclimatização de mudas e posterior plantio a campo.

Tabela 1. Sobrevivência das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidas à aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Concentração de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)	Cultivar			
	Polana		Schönemann	
	Ácido naftalenoacético (ANA) (mg L ⁻¹)			
	Com	Sem	Com	Sem
Sobrevivência (%)				
0	100 ^{NS}	100 ^{NS}	100 ^{NS}	100 ^{NS}
1	100	100	100	100
2	100	100	100	100
3	100	100	75	100
CV (%)	0	0	26,7	0

^{NS}: não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$) da análise de variância. C.V. (%): coeficiente de variação.

Para o número de folhas e de brotações, número de raízes e massa de matéria fresca de planta houve interação tripla entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Número de folhas, número de brotações, número de raízes e massa de matéria fresca de planta das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos à aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Concentração de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)	Cultivar			
	Polana		Schönemann	
	Ácido naftalenoacético (ANA) (mg L ⁻¹)			
	Com	Sem	Com	Sem
	Número de folhas			
0	10,0 abAα ^{1/}	7,00 bAα	6,1 bAα	9,8 aAα
1	12,4 aAα	12,6 aAα	12,2 bAα	12,2 aAα
2	8,7 bAβ	9,7 abAα	23,8 aAα	5,5 bBβ
3	8,4 abBα	10,0 abAα	11,4 bAα	6,6 abBβ
C.V. (%)	23,0	25,4	35,0	41,8
Número de brotações				
0	0,1 bAα	0,2 aAα	0,2 bAα	0,7 aAα
1	0,6 abAα	0,3 aAα	1,2 bAα	0,5 aAα
2	0,3 abAβ	0,3 aAα	7,7 aAα	0,1 aBα
3	1,1 aAα	0,2 aAα	1,5 bAα	0,1 aAα
C.V. (%)	102,0	97,7	105,5	104,3
Número de raízes				
0	3,1 aAα	1,6 bAα	0,2 bAβ	0,6 aAα
1	4,1 aAα	1,1 bBα	2,1 aAβ	1,3 aAα
2	3,2 aAα	4,2 aAα	2,2 aAα	2,1 aAα
3	2,8 aAα	4,3 aAα	3,5 aAα	2,1 aAβ
C.V. (%)	44,1	29,5	56,9	91,4
Massa de matéria fresca de planta (g)				
0	0,52 aAα	0,41 bAα	0,25 cBβ	0,66 abAα
1	0,77 aAα	0,75 aAα	0,57 bAα	0,87 aAα
2	0,57 aAα	0,86 aAα	0,91 aAα	0,48 bBα
3	0,70 aAα	0,46 bBα	0,60 bAα	0,59 abAα
C.V. (%)	26,0	25,7	28,5	35,8

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a aplicação de ANA dentro de cada cultivar para cada Concentração de substâncias húmicas (mg L⁻¹). Letras gregas iguais na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a cultivar para cada aplicação de ANA dentro de cada cultivar cada para concentração de substâncias húmicas (mg L⁻¹). C.V. (%): coeficiente de variação.

Quanto ao número de folhas, quando comparado cada cultivar com e sem regulador de crescimento em cada concentração de substâncias húmicas, as maiores médias foram obtidas com 1 mg L^{-1} de substâncias húmicas com regulador de crescimento para a cultivar Polana; porém, esta só diferiu de 2 mg L^{-1} . Para a cultivar Polana A concentração 1 mg L^{-1} de substâncias húmicas sem adição de regulador de crescimento diferiu estatisticamente apenas do tratamento 0 mg L^{-1} (Tabela 2).

A área foliar interfere na capacidade fotossintética da planta, e, conseqüentemente, na sua capacidade de sobrevivência a campo (BAKKER, 1994).

De acordo com Trevisan et al. (2010), as substâncias húmicas são bioestimulantes e apresentam-se também como fonte de nutrientes para as plantas, disponibilizando carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S). Também possuem elevada atividade de estimulação no crescimento de plântulas quando usados em concentrações relativamente pequenas (NARDI et al., 2007; AGUIAR et al., 2013).

Estas substâncias estão naturalmente presentes no solo, contribuindo direta ou indiretamente na adaptabilidade ambiental e no metabolismo do carbono (C) (NARDI et al. 2007). Além disso, benefícios adicionais são relatados, como aumento da promoção de crescimento radicular (Nardi et al. 2002), através da ativação e expressão das $\text{H}^+\text{ATPases}$, e maior transporte de íons (ZANDONADI et al., 2013; RAMOS et al., 2015).

Ainda para a variável número de folhas, analisando os dados de 'Schönemann' pode-se constatar que 2 mg L^{-1} de substâncias húmicas diferiu das demais concentrações com a adição de regulador de crescimento. Para a mesma cultivar sem adição de regulador de crescimento, com o uso de 0 e 1 mg L^{-1} de substâncias húmicas houve diferença estatística apenas da concentração de 2 mg L^{-1} (Tabela 2).

Para a mesma variável, quando analisado a adição ou não de regulador de crescimento para cada cultivar em cada concentração de substâncias húmicas, as maiores médias foram obtidas sem a utilização de regulador de crescimento na concentração de 3 mg L^{-1} de substâncias húmicas, para 'Polana'. Para 'Schönemann' as maiores médias também foram obtidas na

concentração de 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas e em 2 mg L⁻¹ com adição de regulador de crescimento, diferindo estatisticamente dos mesmos tratamentos sem a utilização de regulador (Tabela 2).

Baldotto et al. (2009) descreveram que houve influência das substâncias húmicas no desenvolvimento da parte aérea de abacaxizeiro (*Ananas comosus*), onde a aplicação de ácidos húmicos extraídos das fontes vermicomposto e torta de filtro proporcionou incrementos de 10,12% no número de folhas.

É importante salientar que a presença de folhas auxilia no processo fotossintético, e no enraizamento das plantas, pois a auxina é produzida nas folhas novas e nas gemas e é conduzida com açúcares e outras substâncias nutritivas para a parte inferior da planta, acumulando-se na base (HARTMANN et al., 2002), além da produção de fotoassimilados a partir das folhas garantir a energia necessária para a manutenção e o desenvolvimento vegetal (TAIZ; ZIGUER, 2013).

Silva et al. (2015) em estudo com a utilização de ácidos húmicos oriundos de vermicomposto na micropropagação da orquídea *Cattleya warneri* também observaram incremento no número de folhas por planta naquelas submetidas ao tratamento com ácidos húmicos em comparação com a testemunha (sem a adição dos mesmos).

Quando analisado entre as cultivares, cada concentração de substâncias húmicas com e sem regulador de crescimento, 'Schönemann' com adição de regulador de crescimento na concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas foi superior estatisticamente a 'Polana'. Sem a adição de regulador a cultivar Polana teve maiores médias nas concentrações de 2 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, diferindo estatisticamente de 'Schönemann' (Tabela 2).

Atiyeh et al. (2002), avaliando o crescimento de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) e pepino (*Cucumis sativus*) com adição de vermicomposto de porco e vermicomposto de resíduos alimentares concluíram que os vermicompostos podem influenciar positivamente o crescimento das plantas e produzir aumentos na produtividade geral da planta, independentemente da absorção de nutrientes.

Em relação ao número de brotações, quando comparado cada concentração de substâncias húmicas com e sem regulador de crescimento em cada cultivar, as concentrações de substâncias húmicas 1, 2 e 3 mg L⁻¹ com adição de regulador, diferiram estatisticamente da concentração de 0 mg L⁻¹ para 'Polana'; porém, sem a adição de regulador para a mesma cultivar, as concentrações não diferiram estatisticamente (Tabela 2).

De acordo com Muscolo et al. (1994), a ação das substâncias húmicas é complexa, devido às possíveis interferências dos reguladores de crescimento. O que pode ser observado no presente estudo, onde os resultados sugerem uma ação sinérgica entre o regulador de crescimento e as substâncias húmicas.

A concentração de substâncias húmicas de 2 mg L⁻¹ com adição de regulador de crescimento na cultivar Schönemann, diferiu estatisticamente de todas as outras concentrações, já sem a adição de reguladores não houve diferença estatística entre as concentrações de substâncias húmicas para esta cultivar (Tabela 2).

A estimulação da atividade da H⁺ -ATPase na membrana celular sugere que as modificações provocadas pelas substâncias húmicas não se restringem apenas à estrutura radicular, mas também são estendidas às principais vias bioquímicas, uma vez que a força motriz da maior absorção de nutrientes é o gradiente eletroquímico na membrana plasmática. Esta é uma indicação clara de que os efeitos destas substâncias nas plantas são complexos e envolvem processos não lineares, inter-relacionados e dinâmicos que precisam ser tratados com uma visão interdisciplinar (CANELLAS; OLIVARES, 2014).

Ainda para número de brotações, quando analisado a adição ou não de regulador de crescimento, em cada cultivar e concentração de substâncias húmicas, 'Polana' não obteve diferença estatística entre os tratamentos. A cultivar Schönemann na concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas com adição de regulador de crescimento diferiu estatisticamente do mesmo tratamento sem adição do regulador (Tabela 2).

Quando analisado entre as cultivares, em cada concentração de substâncias húmicas com a adição ou não de regulador de crescimento, pode-se observar que 'Schönemann' com uso de regulador de crescimento na concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, foi superior estatisticamente

a cultivar Polana. Sem a dição de regulador de crescimento não houve diferença estatística entre as cultivares (Tabela 2).

Para a variável número de raízes, quando comparado em cada concentração de substâncias húmicas, com e sem regulador de crescimento para cada cultivar, não houve diferença estatística entre as concentrações de substâncias húmicas com adição de regulador de crescimento para 'Polana', porém, sem a adição de regulador, as concentrações de 2 e 3 mg L⁻¹ diferiram estatisticamente das demais concentrações (Tabela 2).

Rzepka-Plevnes et al. (2011) indicaram que a adição de ácido húmico ao meio de cultura na fase de enraizamento de *Fragaria x ananassa* Duch teve uma influência mais benéfica que as auxinas no desenvolvimento do sistema radicular e na massa de matéria seca e fresca das plantas produzidas. Em outro estudo, Pinheiro et al. (2010) verificaram que baixas concentrações de substâncias húmicas resultam em elevada área radicular que pode contribuir para a absorção mais eficiente de nutrientes.

Na avaliação da bioatividade de ácidos húmicos e dos efeitos sobre o desenvolvimento radicular e a bomba de prótons da membrana plasmática em milho (*Zea mays*) e café (*Coffea arabica*), Façanha et al. (2002) constataram que a presença de grupamentos auxínicos na estrutura das substâncias húmicas sugere uma relação entre a indução e a ativação da H⁺-ATPase de membrana plasmática com a atividade hormonal dos ácidos húmicos.

Esses grupamentos, uma vez dissociados da molécula base de ácido húmico, poderiam acessar receptores na superfície ou no interior das células das raízes, desencadeando processos que culminariam com o estímulo do desenvolvimento em comprimento e área radicular (FAÇANHA et al., 2002).

Na cultivar Schönemann com regulador de crescimento, sem o uso de substâncias húmicas observa-se as menores médias, diferindo estatisticamente das demais concentrações. Para os tratamentos sem adição de substâncias húmicas para esta cultivar, não houve diferença estatística (Tabela 2).

Quando analisado a adição ou não de regulador de crescimento para cada cultivar em cada concentração de substâncias húmicas, o tratamento com adição de reguladores de crescimento para 'Polana' na concentração de 1 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, diferiu estatisticamente do mesmo tratamento sem

adição de regulador. Para 'Schönemann' os resultados não diferiram estatisticamente (Tabela 2).

A etapa de enraizamento é fundamental para a produção de mudas, dada a importância das raízes para a absorção de água e nutrientes. A auxina é o principal regulador do crescimento e desenvolvimento radicular (SAINI et al., 2013) e o bom desenvolvimento das raízes é fundamental para o alcance de elevadas taxas de sobrevivência na aclimatização das mudas (COSTA, 2008).

De acordo com Maggioni et al. (1987), os ácidos húmicos podem influenciar a absorção de nutrientes via efeito enzimático, por intermédio da atividade de ATPase dependente de potássio (K) e magnésio (Mg).

Na análise entre as cultivares para cada concentração de substâncias húmicas com e sem regulador de crescimento, 'Polana' no meio de cultura com adição de regulador na concentração de 1 mg L^{-1} , bem como sem substâncias húmicas obteve maiores médias que Schönemann, diferindo estatisticamente. No tratamento sem adição de regulador de crescimento, na concentração de 3 mg L^{-1} de substâncias húmicas 'Polana' foi superior a Schönemann, com diferença estatística (Tabela 2).

Em experimento realizado por Muscolo et al. (1999) sobre o efeito da matéria húmica oriunda do húmus de minhoca em *Daucus carota*, os autores sugeriram efeitos semelhantes a auxinas e observaram uma influência mais benéfica que as auxinas no desenvolvimento do sistema radicular.

Até determinadas concentrações, os ácidos húmicos podem favorecer o desenvolvimento de plantas, alterando tanto a parte aérea quanto as raízes (RODDA et al., 2006; ROSA et al., 2009), sendo os efeitos difíceis de ser explicados, devido à natureza complexa e ainda desconhecida dessa fração húmica. É possível que os ácidos húmicos possam exercer inúmeros efeitos nas plantas e que alguns destes possam resultar, direta ou indiretamente, em uma regulação da absorção de íons (NARDI et al., 2002).

Para a massa de matéria fresca de planta, quando comparado em cada concentração de substâncias húmicas com e sem regulador de crescimento cada cultivar, não houve diferença estatística no tratamento com adição de regulador de crescimento nas concentrações de substâncias húmicas para

‘Polana’. No entanto, sem a adição de BAP as concentrações de 1 e 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas diferiram estatisticamente das demais (Tabela 2).

Com relação a cultivar Schönemann, com adição de regulador de crescimento as maiores médias de massa de matéria fresca foram obtidas na concentração de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, diferindo das demais concentrações. Além disso, 1 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, diferiram de mgL⁻¹ no mesmo tratamento. Sem adição de regulador de crescimento na mesma cultivar, as concentrações de 1 e 3 mg L⁻¹, além de 0 mg L⁻¹ de substâncias húmicas diferiram estatisticamente da concentração 2 mg L⁻¹ (Tabela 2).

Tais substâncias, além de estarem envolvidas na maioria das reações que ocorrem no solo, têm a capacidade de estimular diretamente o crescimento das plantas (NARD et al., 2002). O que ficou evidente nos resultados deste estudo foi que sem adição das mesmas o valor de massa de matéria fresca foi inferior às demais concentrações.

Quando analisado a adição ou não de regulador de crescimento para cada cultivar em cada concentração de substâncias húmicas, o tratamento com adição de regulador para ‘Polana’ na concentração de 3 mg L⁻¹ diferiu estatisticamente do mesmo tratamento sem regulador em relação a massa de matéria fresca (Tabela 2).

Na cultivar Schönemann o tratamento sem regulador de crescimento e sem o uso de substâncias húmicas obteve maiores médias, com diferença estatística. Entretanto, com 2 mg L⁻¹ dessas substâncias e o regulador de crescimento houve diferença estatística, comparando com o tratamento sem adição de regulador (Tabela 2).

Marques et al. (2008), avaliando o enraizamento de cana-de-açúcar com o uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas, observaram efeitos positivos da inoculação bacteriana e dos ácidos húmicos sobre a biomassa da parte aérea e das raízes das plantas.

Analisado entre as cultivares a adição ou não de regulador de crescimento e concentração de substâncias húmicas houve diferença estatística apenas na concentração de 0 mg L⁻¹ de substâncias húmicas com adição de regulador, no qual a cultivar Polana foi superior a ‘Schönemann’

estatisticamente. Para os tratamentos sem adição de ANA, não houve diferença estatística entre as cultivares (Tabela 2).

Silva et al. (2015), utilizando ácidos húmicos oriundos de vermicomposto *in vitro* em plântulas de orquídea (*Cattleya warneri*), verificaram que incremento no crescimento das plântulas e proporcionou incremento de 81 e 159 % em relação ao controle (100%), para a massa fresca das folhas e das raízes respectivamente.

Para o comprimento de parte aérea e de maior raiz houve interação significativa apenas para a adição de ácido naftalenoacético e cultivar (Tabela 3).

Tabela 3 – Comprimento de parte aérea e comprimento de maior raiz das cultivares de framboeseira Polana e Schönemann submetidos à aplicação de ácido naftalenoacético (ANA) e concentrações de substâncias húmicas no enraizamento *in vitro*. Pelotas-RS, 2020.

Ácido naftalenoacético (ANA)	Cultivar	
	Polana	Schönemann
Comprimento de parte aérea (cm)		
Com	2,88 aA ^{1/}	2,07 Bb
Sem	2,80 aA	2,83 aA
C.V. (%)	24,6	32,5
Comprimento de maior raiz (cm)		
Com	4,77 aA	1,14 aB
Sem	2,98 aA	1,37 aB
C.V. (%)	57,1	106,2

^{1/} Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando a adição de ANA para cada cultivar. Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando cada cultivar para a aplicação de BAP. C.V. (%): coeficiente de variação.

Com relação ao comprimento de parte aérea, quando comparada a adição ou não de regulador de crescimento, não houve diferença estatística para ‘Polana’. Em contrapartida, para ‘Schönemann’ o tratamento sem regulador demonstrou maiores médias, diferindo estatisticamente do com regulador. Entre as cultivares com o uso de regulador de crescimento, ‘Polana’

teve as maiores médias, diferindo estatisticamente de 'Schönemann', no tratamento sem regulador não houve diferença entre as cultivares (Tabela 3).

Na análise do comprimento de maior raiz, com a adição ou não de regulador de crescimento não houve diferença estatística, mas na comparação entre cultivares 'Polana' foi superior estatisticamente a 'Schönemann', independente do uso de ANA (Tabela 3).

A obtenção de plantas *in vitro* com um sistema radicular bem desenvolvido é de grande importância para a sua sobrevivência e crescimento, principalmente na etapa de aclimatização, e posterior plantio a campo (ROCHA et al., 2008).

Em síntese, pode-se observar que neste trabalho, em geral, o uso de 2 e 3 mg L⁻¹ de substâncias húmicas no meio de cultura é suficiente para o enraizamento *in vitro* da cultivar Polana. Dessa forma, considerando o custo de produção, a menor concentração é a mais indicada. No entanto, quando o regulador de crescimento é usado, 2 mg L⁻¹ substâncias húmicas conferiram resultados superiores para a cultivar Schönemann.

4.4 Conclusão

O enraizamento *in vitro* da framboeseira 'Polana' pode ser realizado com 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas sem ácido naftalenoacético no meio de cultura. Para a 'Schönemann' 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas e ácido naftalenoacético podem ser usados.

5 Considerações finais

A micropropagação e o uso de substâncias húmicas são alternativas promissoras para a obtenção de mudas das framboeseiras 'Polana' e 'Schönemann'.

Na etapa de multiplicação *in vitro*, em geral, o uso de 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas é suficiente para ambas cultivares de framboeseiras. No entanto, com relação ao regulador de crescimento, apenas para 'Polana' não é necessário utilizar 6-benzilaminopurina no meio de cultura.

No enraizamento *in vitro* o meio de cultura pode ser elaborado com 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas sem a utilização de ácido naftalenoacético (ANA) para a framboeseira 'Polana'. Para a 'Schönemann' pode ser utilizado 2 mg L⁻¹ de substâncias húmicas com o regulador de crescimento ANA.

A atividade bioestimulante dos compostos húmicos foi verificada neste trabalho, mediante o incremento na multiplicação e no enraizamento *in vitro* das framboeseiras 'Polana' e 'Schönemann'. Como não existem trabalhos relacionados à micropropagação de framboeseira 'Polana' e 'Schönemann' com o uso dessas substâncias, é importante realizar o estudo mais aprofundado da interação das mesmas com os reguladores vegetais utilizados.

Referências bibliográficas

- AGUIAR, N.O.; OLIVARES, F.L. NOVOTNY, E.H.; DOBBSS, L.B.; BALMORI, D.M.; SANTOS-JÚNIOR, L.G.; CHAGAS, J.G.; FAÇANHA, A.R. & CANELLAS, L.P. Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. **Plant and Soil**, Rio de Janeiro, v. 362, p. 161-174, 2013.
- AMARAL, P. P.; STEFFEN, G. P. K.; MALDANER, J.; MISSIO, E. L.; SALDANHA, C. W.; Promotores de crescimento na propagação de caroba. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 37, p. 149 – 157, 2017.
- ANCHONDO, T. R.; MARTÍNEZ, J. A.; CASTILLO, T. C.; QUEZADA, R. Á. P.; BARRIOS, D. L. O.; RODRÍGUEZ, A. H. In vitro establishment of two cultivars released from strawberries: strawberry and raspberry. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, Misión, v. 9, p. 799-812, 2018.
- ANDRADE, P. F. S. **Análise da conjuntura agropecuária, safra 2016/17**. Secretaria de Agricultura e de Abastecimento. Departamento de economia rural. Paraná. 9p. 2017.
- ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M. do C.B. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documento 122, 2004.
- ANTUNES, L. E. C.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. de A. Propagação de cultivares de amoreira-preta (*Rubus* spp.) através de estacas lenhosas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, p. 195- 199, 2000.
- ANTUNES, L.E.C.; PERES, N.A. Strawberry production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, Wimauma, v. 13, p.156-161, 2013.
- APEX BRASIL (Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos). **Mercado de frutas na China: Estudo setorial de mercados prioritários para exportação**. Disponível em: <<http://www.apexbrasil.com.br/Content/Imagens/965e1d39-c67d-46de-808b-0c3ba6f6b30a.pdf>> Acesso em: 17 jan 2020.
- ABRAFRUTAS (Associação Brasileira dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados). **Dados estatísticos**. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/dados-estatisticos/>> . Acesso em: 13 out. 2019.
- ATIYEH, R.M.; EDWARDS, C.A.; METZGER, J.D.; LEE, S. & ARANCON, N.Q. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. **Bioresource Technology**, Columbus, v. 84, p. 7-14, 2002.
- BALDOTTO, M.A.; BALDOTTO, L.E.B. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, Viçosa v. 61, p. 856-881, 2014.
- BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; CANELLAS, L.P.C.; BRESSAN, S.R.; OLIVARES, F.L. Growth promotion of pineapple 'Vitória' by humic acids and burkholderia spp. during acclimatization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p:1593-1600, 2010.

BAKKER, A. P. **Efeito do húmus de minhoca e da inoculação do fungo micorrízico arbuscular *Glomus* *crocarpum* Tul. & Tul. sobre o desenvolvimento de mudas de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.).** 1994. 60f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1994.

BERNARDES, J. M.; REIS, J. M. R.; RODRIGUES, J. F. Efeito da aplicação de substância húmica em mudas de tomateiro. **Global Science and Technology**, Goiânia, v. 04, p.92 – 99, 2011.

BERED, F.; SERENO, M.J.C.M.; CARVALHO, F.I.F. de; LANGE, C.E.; ANDEL, C.L.; DORNELLES, A.L.C. Regeneração de plantas de aveia a partir de calos embriogênicos e organogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 1827-1833, 1998.

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

CAMINITI, A.; PAGOT, E. Técnicas de produção de framboesa e mirtilo. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 2016.

CANELLAS P. L.; ARAÚJO SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V. M.; MORAES, A. A. M.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 1529-1538, 2001.

CANELLAS, L.C. & FAÇANHA, A.R. Relationship between natures of soil humifield fractions and their bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 233-240, 2004.

CHARLES-EDWARDS, D. A. **Physiological determinants of crop growth.** Academic Press, Sydney, Austrália, p.161, 1986.

CHEN, Y.; CLAPP, C. E.; MAGEN, H. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes. **Soil Science and Plant Nutrition**, London, v. 50, p. 1089-1095, 2004.

CHEN, Y. Organic matter reactions involving micronutrients in soils and their effect on plants. In Humic Substances in Terrestrial Ecosystems, Ed. A Piccolo, **Elsevier Science**, Amsterdã, v. 13, p. 507-530, 1996.

CID, B. L. P.; ILLG, R. D.; PIEDRABUENA, A. E. Regeneration of garlic plants (*Allium sativum* L., cv Chonan) via cell culture in liquid medium. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, Switzerland, v. 30, p. 150-155, 1994.

CID, L. P. B., TEIXEIRA, J. B. (2014). Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: Cid, L. P. B. (ed.). Cultivo *in vitro* de plantas. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2014. p. 21-26, 2014.

CONTE, A. **Fruticultura**. EMATER, 2017. Disponível em: <<http://www.emater.tcche.br/site/area-tecnica/sistema-de-producao-vegetal/fruticultura.php#.WSOIuOsrLIU>>. Acesso em: 13 nov. 2019.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; PEREIRA, J. E. S.; RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, p.31-37, 2008.

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

DEBNATH, S.C. Clonal Propagation of Dwarf Raspberry (*Rubus pubescens* Raf.) through *in vitro* Axillary Shoot Proliferation. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v.43, p.179-186, 2004.

DINIZ, K. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, J. C. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n.3, p. 37-43, 2006.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPel, 1995. 179 p.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M. da S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, p.109-120, 2011.

FRANZON, R.C.; CARPENEDO, S.; SILVA, J.C.S. **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na produção de fruteiras**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Documento 283, p. 54, 2010.

FISCHER, P. **Raspberry varieties for Ontario**. Disponível em: <<http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/raspvarc.htm>> Acesso em: 09/12/2019.

GOENADI, D.H.; SUDHARAMA, I.M. Shoot initiation by humic acids of selected tropical crops grown in tissue culture. **Plant Cell Reports**, Indonésia v. 15, p. 59-62, 1995.

GONÇALVES, E.D.; PIO, R.; CAPRONI, C.M.; ZAMBON, C.R.; SILVA, L. F.O. Implantação, cultivo e pós-colheita de framboesa no Sul de Minas Gerais. Belo Horizonte: EPAMIG (**Circular Técnica** 145), 2011.

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

GUMINSKI, S. Present days view on physiological effects induced in plant organisms by humic compounds. **Soviet Soil Science**, Moscow, v. 9, p. 1250-1255, 1968.

HAISSIG, B. E. Carbohydrate and amino acid concentration during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. Cuttings. **Forestry Science**, Oxford, v. 28, p. 813-821, 1982.

HAY, R. K. M.; WALKER, A. J. **An Introduction to the physiology of crop yield**. Ed. Longman Scientific & Technical. Harlow, England. 1989, p. 292.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.

HAN, H. et al. A review on the molecular mechanism of plants rooting modulated by auxin. **African Journal of Biotechnology**, África, v.8, p.348-353, 2009.

HUMMER, K.E. Rubus diversity. **HortScience**, Alexandria, v. 31, p.1182-1184, 1996.

JOÃO, P.L.; ROSA, J.I.; FERREIRA, V.C.; MARTINELLO, M.D. **Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, EMATER, 2001. 80 p.

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

KIST, B.B.; SANTOS, C.E.; CARVALHO, C.; BELING, R.R. **Anuário brasileiro de fruticultura 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 96p, 2019.

KIELSE, P.; FRANCO, E. T. H.; PARANHOS, J. T.; LIMA, A. P. S. Regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p.1098-1104, 2009.

KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, I. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Caloute. Gulbenkian, 1972. 745 p.

LEMOS, E. E. P. Organogênese. In: CID, L. P. B. Cultivo *in vitro* de plantas. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2014. p. 105-124.

LEITZKE, L.N. **Micropropagação fotoautotrófica de amoreira-preta (*Rubus* spp.) e framboeseira (*Rubus idaeus* L.) com a utilização de luz natural**. 2007. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2007.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, p. 582-587, 2009.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Influência do meio de cultura, tipo e concentração de citocininas na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 352-360, 2010.

LILA, M. A.; RASKIN, I. Health-related interactions of phytochemicals. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, p. 20-27, 2005.

LONE, A.B.; LÓPEZ, E.L.; ROVARIS, S.R.S.; KLESENER, D.F.; HIGASHIBARA, L.; ATAÍDE, L.T.; ROBERTO, S.R. Efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira VR 43-43 em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, p.599-604, 2010.

MAGGIONI, A.; VARANINI, Z. & NARDI, S. Action of soil humic matter on plant roots: Stimulation of ion uptake and effects on (Mg²⁺ + K⁺) ATPase activity. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 62, p. 355-363, 1987.

MARCHI, P. M. **Propagação, aspectos agrônômicos e qualidade de frutas de cultivares de framboeseira**. 2015. 123f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2015.

MARTINS, J. P. R.; SCHMILDT, E. R.; ALEXANDRE, R. S.; CASTRO, E. M.; NANI, T. F.; PIRES, M. F.; PASQUAL, M. Direct organogenesis and leaf-anatomy modifications *in vitro* of *Neoregelia concentrica* (Vellozo) LB Smith (Bromeliaceae). **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 46, p. 2179-2187, 2014.

MELO LCA; SILVA CA; DIAS BO. Caracterização da matriz orgânica de resíduos de origens diversificadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 101-110, 2008.

MERCIER, H. 2004. **Auxinas**. In: KERBAUY, G.B. Ed. Fisiologia Vegetal. São Paulo: Editora Guanabara Koogan S.A. p. 217-249.

MOURA, P.; H.; A. **Fenologia e produção de cultivares de framboeseira e ‘Boysenberry’ em clima tropical de altitude com inverno ameno**. 2012. 49f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.

MUSCOLO, A.; CUTRUPI, S.; NARDI, S. IAA detection in humic substances. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, p. 1199-1201, 1998.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; RENIERO, F.; RASCIO, N.; Chemical and biochemical properties of humic substances isolated from forest soils and plant growth. **Soil Science Society of America**, Wisconsin, v. 64, p. 639-645, 2000.

NICKEL, O. Doenças causadas por vírus em morangos, amoras preta, framboesas e mirtilo. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 41-47. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A. & VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 34, p. 1527-1536, 2002.

NARDI, S.; MUSCOLO, A. VACCARO, S.; BAIANO, S.; SPACCINI, R. & PICCOLO, A. 2007. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and Krebs cycle in maize seedlings. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 39, p. 3138 - 3146, 2007.

NETO, A. M. **Reguladores de crescimento e adubação orgânica no estresse hídrico da cana-planta**. 2018. 70f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2018.

OLIVEIRA, P. B. A planta de Framboeseira: Morfologia e Fisiologia. **Folhas de Divulgação Agro**, São Paulo, v. 556, n. 1, p. 1-36, 2007.

OLIVEIRA, R. P. NINO, A. F. P. Potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, p. 280-284, 2009.

OLIVEIRA, I. M.; PEREIRA, L. A. G. Logística e comércio internacional na fruticultura no estado de Minas Gerais – Brasil. **Revista do Programa de Pós-Graduação em Geografia e do Departamento de Geografia da UFES**, Montes Claros, p. 28-53, 2019.

OLIVEIRA, P.; B. A planta de framboesa: morfologia e fisiologia. **Folhas de Divulgação Agro**, v. 556, p. 1-36, nov. 2007.

OLIVEIRA, M.C. de; RAMOS, J.D.; PIO, R.; CARDOSO, M. das G. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, p.30-35, 2012.

PAGOT, E. Diagnóstico da produção e comercialização de pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2., 2004, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004, p.9-18. (Documentos, 44).

PASA, M. S.; CARVALHO, G. L.; SCHUCH, M. W.; SCHMITZ, L. D.; TORCHELSEN, M. M.; NICKEL, G. K.; SOMMER, L. R.; LIMA, T. S.; CAMARGO, S. S. Qualidade de luz e fitorreguladores na multiplicação e

enraizamento *in vitro* da amoreira-preta 'Xavante'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, p.1392-1396, 2012.

PASQUAL, M. PEIXOTO, P.H.P. SANTOS, J.C.do ;PINTO,J.E.B.P.Propagação "in vitro" da amora-preta (*Rubus* sp.) cv .Ébano: uso de reguladores de crescimento.**Ciência e Prática**, Lavras, v.15, p.282-286,1991.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, E.C. Análise quantitativa do crescimento de comunidade vegetal. Campinas: Instituto Agrônômico. **Boletim Técnico**. n. 114, 1987. p. 33.

PINHEIRO, G.L.; SILVA, C.A. & FURTINI NETO, A.E. Crescimento e nutrição de clone de eucalipto em resposta à aplicação de concentrações de C-ácidos húmicos. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Viçosa, v. 34, p. 1217-1229, 2010.

PING, X.; HONGPING, D.; MIN, T.; QINGWEI, G. Establishment and Optimization of Regeneration System of Ornamental Bromeliads. **Journal of Yunnan Agricultural University** (Natural Science), v. 3, p. 018, 2010.

KHLEBOVA, L.P.; TITOVA, A.M.; PIROGOVA A.V. Biotechnological approaches to the reproduction of remontant forms of red raspberry. **Ukrainian Journal of Ecology**, Bernaul, v. 9, p. 402-405, 2019.

QUIROZ, K. A.; BERRIOS, M.; CARRASCO, B.; RETAMALES, J. B.; CALIGARI, P. D. S.; ROLANDO GARCÍA-GONZÁLES, R. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). **Biological Research**, Santiago, v. 50, p. 20, 2017.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C. S. **Manual de Procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos 61, 2008.

QIU, C. P.; XU, Q. H.; GAUDREAU, L.; GOSSELIN, L.; GAUTHIER, L.; VAN STERTHEM, A.; DESJARDINS, Y. Yield improvement of red raspberry by soilless cultivation with two propagation methods under northern Canadian climate. **Acta Horticulturae**, Wageningen, p. 195-200, 2016.

RADMANN, E. B.; FACHINELLO, J. C; PETERS, J. A. Effect of auxin and cultivation conditions in *in vitro* rooting of root-stock of apple 'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 24, p. 624-628, 2002.

RADMANN, E. B.; BIANCHI, B. J.; OLIVEIRA, R. P.; FACHINELLO, J. C. Multiplicação *in vitro* e alongamento das brotações micropropagadas do porta-enxerto 'tsukuba 1' (*Prunus persica* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, p. 656-663, 2009.

RAYLE, D.L. & CLELAND, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, Jena, v. 99, p. 1271-1274, 1992.

RAMOS, A.C., DOBBSS, L.B. SANTOS, L.A.; FERNANDES, M.F.; OLIVARES, F.L. AGUIAR, N.O.& CANELLAS, L.P 2015. Humic matter elicits proton and

calcium fluxes and signaling dependent on Ca^{2+} -dependent protein kinase (CDPK) at early stages of lateral plant root development. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, Switzerland, v. 2, p. 1-12, 2015.

RANI, V. Y.; RAINA, S. N. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plants: a critical reappraisal. **In vitro cellular & developmental biology**, Switzerland v. 36, p. 319–330, 2000.

RUŽIĆ, Đ., CEROVIĆ, R. The rapid method of blackberry propagation. **Acta agriculturae Serbica**, Čačak, v. 6, p. 55–6, 2000.

RASEIRA, M. DO C. B.; GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R.; ANTUNES, L. E. C. **Aspectos técnicos da cultura da framboeseira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documento 120, p. 24, 2004.

RAUTHAN, B. S.; CHNITZER, M. Effects of a soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. **Plant Soil**, Netherlands, v. 63, p. 491-495, 1981.

ROCHA, M. A. C.; COSTA, M. A. P. C.; SILVA, S. A.; LEDO, C. A. S.; MOREIRA, M. J. S.; BASTOS, L. P. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, p. 769 – 774, 2008.

RODDA, M. R. C.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R.; ZANDONADI, D. B.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L. & SANTOS, G. A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 649-656, 2006.

ROSA, C. M.; CASTILHOS, R. M. V.; VAHL, L. C.; CASTILHOS, D. D.; PINTO, L. F. S.; OLIVEIRA, E. S.; LEAL, O. A. Efeito de substâncias húmicas na cinética de absorção de potássio, crescimento de plantas e concentração de nutrientes em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, p. 959 – 967, 2009.

RZEPKA-PLEVNES, D.; KULPA, D.; GOŁĘBIOWSKA, D.; PORWOLIK, D. Effects of auxins and humic acids on in vitro rooting of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Finlândia, v. 9, p. 592-595, 2011.

SALIBE, A.B.; BRAGA, G. C.; PIO, R.; TSUTSUMI, C. Y.; JANDREY, P. E.; ROSSOL, C. D.; FRÉZ, J. R. S.; SILVA, T. P. Enraizamento de estacas do porta-enxerto de videira 'VR 043-43' submetidas a estratificação, ácido indolbutírico e ácido bórico. **Bragantia**, Campinas, v.69, p.617-622, 2010.

SILVA, K. N.; PIO, R.; TADEU, M. H.; ASSIS, C. N.; CURI, P. N.; MOURA, P. H. A.; PATTO, L. S. Produção de mudas de framboeseira negra por diferentes métodos de propagação vegetativa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, p. 418-422, 2012.

SAINI, S.; SHARMA, I.; KAUR, N.; PATI, P. K. Auxin: a master regulator in plant root developed. **Plant cell Reports**, Germany, v. 32, p. 741- 757, 2013.

SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. 544 p.

SKIRVIN, R.M.; CHU, M.C.; GOMEZ, E. *In vitro* propagation of Thornless Treiling Blackberries. **HortScience**, Alexandria, v.16, p.310-312, 1981.

SILVA, R. M.; JABLONSKI, A.; SIEWERDT, L.; SILVEIRA, P, J. Crescimento da parte aérea e do sistema radicular do milho cultivado em solução nutritiva adicionada de substâncias húmicas. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.5 p. 101-110, 1999.

SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 69-90.

SCHNEIDER, E. P.; PAGOT, E.; NACHTIGAL, J. C.; BERNARDI, J. Ações para o desenvolvimento da produção orgânica de pequenas frutas na região dos Campos de Cima da Serra, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 245-248, 2007.

SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. **Micropropagação de plantas frutíferas**. In: FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. Propagação de plantas frutíferas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

SILVA, M.A.C.; SANTOS, W.O.; SIMOURA, N.T.; TESCH, J.A.; RUAS, K.F.; COLODETE, C.M.; TANNURE, F.P.; BARBIRATO, J.O.; RAMOS, A.C.; DOBBSS, L.B. Ácidos húmicos de vermicomposto estimulam o crescimento in vitro de plântulas de *Cattleya warneri* (Orchidaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 759- 768, 2015.

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

SOMMER, L.R. **Recipientes e substratos na produção de mudas, desenvolvimento e fenologia de pequenas frutas**. 2018. 106f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, 2013. 918 p.

TREVISAN, S.; PIZZEGHELLO, D.; RUPERTI, B.; FRANCIOSO, O.; SASSI, A.; PALME, K.; QUAGGIOTTI, S. & NARDI, S. 2010. Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxinresponsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in Arabidopsis. **Plant Biology**, Berlin v. 12, p. 604-614, 2010.

TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant–soil interface: from environmental aspects to molecular factors. **Plant Signaling & Behavior**, Seattle, v. 5, p. 635–643, 2010.

ULIANA, T.J.V; KLUGE, R.A. **Framboesa: cultura alternativa para pequenas propriedades rurais em regiões subtropicais**. Piracicaba, São Paulo, 2013. p. 33.

VAUGHAN, D.; MACDONALD, I.R. Alguns efeitos do ácido húmico na captação de cátions pelo tecido do parênquima. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 8, p. 415 – 421, 1976.

VILLA F.; PASQUAL M.; ASSIS, F. A.; PIO, L. A. S.; GLEICE APARECIDA DE ASSIS, G. A. Crescimento *in vitro* de amoreira-preta: efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1754-1759, 2008.

VUJOVIĆA, T.; RUŽIĆA, D.; CERVIĆB, R.; LEPOSAVIĆA, A.; KARAKLAJIĆ-STAJIĆA, Ž.; MITROVIĆA, O.; ŽURAWICZ, E. An assessment of the genetic integrity of micropropagated raspberry and blackberry plants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 225, p. 454-461, 2017.

ZANDONADI, D.B.; SANTOS, M.P.; BUSATO, J.G.; PERES, L.E.P.& FAÇANHA, A.R. Plant physiology as affected by humified organic matter. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 12-25, 2013.

WANG, Q.; ANDERSEN, A. S. Propagation of *Hibiscus rosasinensis*: relations between stock plant cultivar age, environment and growth regulator treatments. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 251, p. 289-309, 1989.

YAMAMOTO, L.Y.; KOYAMA, R.; BORGES, W.F.S; ANTUNES, L.E.C.; ASSIS, A.M.; ROBERTO, S.R. Substratos no enraizamento de estacas herbáceas de amora preta ‘Xavante’. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, p. 15-20, 2013.