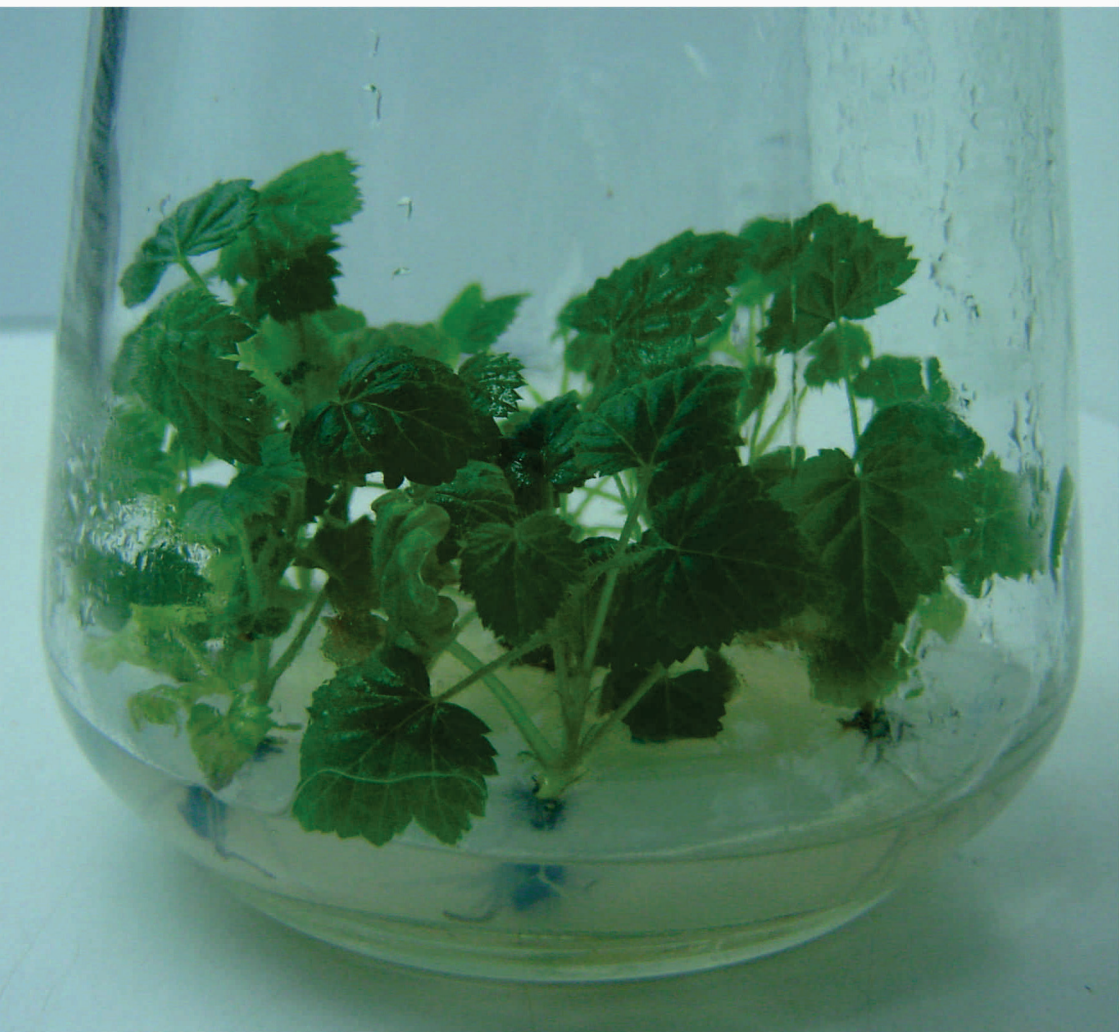


Sistemas 09 **de Produção**

ISSN 1676-7683

Dezembro, 2015

Produção de Mudas Certificadas de Framboeseira por meio de Cultura in Vitro de Tecidos



ISSN 1676-7683
Dezembro, 2015

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Sistemas de Produção 09

Produção de Mudanças Certificadas de Framboeseira por meio de Cultura in Vitro de Tecidos

*Roberto Pedroso de Oliveira
Maria do Carmo Bassols Raseira
Osmar Nickel*
Editores Técnicos

Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392, Km 78

Caixa postal 403, CEP 96010-971 - Pelotas/RS

Fone: (53) 3275-8100

www.embrapa.br/clima-temperado

www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê de Publicações da Embrapa Clima Temperado

Presidente: Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente: Enio Egon Sosinski Junior

Secretária-Executiva: Bárbara Chevallier Cosenza

Membros: Ana Luiza Barragana Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sônia Desimon.

Revisão de texto: Ana Luiza B. Viegas

Normalização bibliográfica: Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica: Jaqueline Jardim (estagiária)

Foto de capa: Roberto Pedroso de Oliveira

2ª edição

1ª impressão (2015): 30 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Clima Temperado

M943 Produção de mudas certificadas de framboeseira por
 meio de cultura in vitro de tecidos / Roberto Pedroso de
 Oliveira, Maria do Carmo Bassols Raseira, Osmar
 Nickel, editores técnicos. - 2. ed. - Pelotas: Embrapa
 Clima Temperado, 2015.
 49 p. (Sistemas de Produção / Embrapa Clima Temperado,
 ISSN 1676-7683; 9).

1. Framboesa. 2. Muda. I. Oliveira, Roberto
Pedroso. II. Raseira, Maria do Carmo Bassols.
III. Nickel, Osmar. IV. Título. V. Série.

Autores

Roberto Pedroso de Oliveira

Engenheiro-agrônomo, D.Sc., pesquisador da
Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Maria do Carmo Bassols Raseira

Engenheira-agrônoma, D.Sc., pesquisadora da
Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Osmar Nickel

Engenheiro-agrônomo, D.Sc., pesquisador da
Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

Apresentação

A framboeseira é uma espécie frutífera ainda pouco cultivada no Brasil, cuja produção anual é de apenas 150 toneladas em uma área que não ultrapassa 50 hectares. Esses dados foram levantados junto a produtores e extensionistas, já que não existem estatísticas oficiais.

Os fruticultores têm manifestado interesse no cultivo dessa espécie do grupo das pequenas frutas, cuja demanda tem aumentado significativamente no País e, principalmente, no exterior, motivada por suas propriedades nutracêuticas associadas à prevenção de doenças e à longevidade. Há mais de uma década, a Embrapa Clima Temperado vem introduzindo, multiplicando e avaliando o desempenho produtivo de cultivares de framboeseira. Mais recentemente, a Embrapa Uva e Vinho iniciou uma série de pesquisas sobre a cultura, atualmente destacando-se nas áreas de monitoramento de doenças e [indexação](#) de matrizes e de mudas. A [muda](#) é um dos principais insumos do sistema de produção, sendo o ponto de partida para a obtenção de melhor resposta a qualquer tecnologia empregada no processo produtivo. Nesse aspecto, as mudas certificadas são as que oferecem maior garantia de qualidade genética, fitossanitária e fitotécnica, aumentando as chances de sucesso do empreendimento agrícola.

A presente publicação aborda o conjunto de tecnologias disponíveis sobre a produção de mudas de framboeseira, as quais estão em consonância com as normas de certificação vigentes. Além disso, são apresentados dados sobre as principais cultivares recomendadas no Brasil, relativos às suas exigências edafoclimáticas, potencial de produção e qualidade dos frutos. Espera-se, com isso, potencializar a produção de framboesa no Brasil e, ao mesmo tempo, contribuir para a diversificação da matriz produtiva.

Clenio Nailto Pillon
Chefe-Geral

Sumário

Produção de Mudanças Certificadas de Framboeseira por meio de Cultura in Vitro de Tecidos	9
Aspectos gerais da cultura	11
Plantio	12
Espaçamento, condução e poda	13
Principais pragas e doenças	13
Cultivares	16
Propagação	19
Propagação de mudas certificadas de fruteiras	20
Propagação de mudas certificadas de framboeseira	22
Pré-tratamento das plantas	23
Época de coleta	23
Fontes de explante	23
Termoterapia	24

Indexação	24
Tamanho dos explantes	25
Desinfestação dos explantes	25
Extração de meristemas	26
Estabelecimento in vitro	26
Multiplicação	28
Enraizamento in vitro	29
Transplântio em casa de vegetação.....	30
Aclimatização.....	30
Formação das mudas	31
Padrão de comercialização	31
Eficiência do sistema	31
Controle de qualidade	32
Análise de viabilidade econômica	33
Considerações Finais	34
Agradecimentos	35
Glossário	36
Referências	42

Produção de Mudanças Certificadas de Framboeseira por meio de Cultura in Vitro de Tecidos

Roberto Pedroso de Oliveira
Maria do Carmo Bassols Raseira
Osmar Nickel

Introdução

A framboeseira (*Rubus ideaus* L.) é uma espécie do grupo das pequenas frutas ainda pouco cultivada no Brasil, sendo considerada uma alternativa de renda, principalmente para a pequena propriedade familiar das regiões de clima temperado. Trata-se de uma cultura de baixo custo de implantação, grande demanda por mão de obra, facilmente conduzida em sistema orgânico de produção e que apresenta alta rentabilidade por hectare (POLTRONIERI, 2003).

A produção de **framboesa** pode ser destinada tanto ao mercado de frutas frescas quanto à fabricação de polpa congelada, purês, conservas, geleias, sucos e concentrados para sorvetes e iogurtes (VENDRÚSCULO, 2004). O mercado nacional e internacional encontra-se em expansão, motivado pelas propriedades nutracêuticas dessa fruta, que se enquadra no grupo dos alimentos funcionais, ou seja, aqueles que, além de nutrir, têm ação comprovada na prevenção e/ou na cura de doenças. Segundo Salgado (2003), a framboesa é rica em vitamina C, betacaroteno e compostos fenólicos. Dentre os compostos

fenólicos presentes, destacam-se os flavonoides, os quais se ligam a açúcares, formando complexos chamados de glicosídeos, que apresentam ação antioxidante, anticancerígena e anti-inflamatória, além de atuarem como retardadores do envelhecimento.

A produção mundial de framboesa é de aproximadamente 415 mil toneladas, sendo a Rússia a maior produtora, seguida pela Sérvia, Montenegro, Estados Unidos e Polônia (UNIVERSITY OF GEORGIA, 2006). Na América Latina, segundo Plaza (2003), o Chile se destaca, com produção anual de 30 mil toneladas, cultivadas em cerca de 5 mil ha, possuindo alta tecnologia de produção e logística de exportação para os principais mercados mundiais. Nos últimos anos, os plantios de framboeseira têm aumentando significativamente na Argentina e no Uruguai. Não existem dados mais recentes.

A produção de framboesa no Brasil iniciou-se com a chegada dos imigrantes alemães, que a cultivavam nos quintais de suas colônias, visando consumo familiar (PAGOT, 2004). A produção comercial ocorreu pela primeira vez em Campos do Jordão, Estado de São Paulo, em função de, na década de 1950, o Barão e Baronesa Von Leithner, terem introduzido o material para cultivo em sua fazenda, onde constituíram a empresa agroindustrial Alto da Boa Vista, que fabricava geleias, xaropes e uma bebida destilada de framboesa (FARIA, 2010). Mais tarde, foram realizados plantios nas regiões de Vacaria e de Caxias do Sul, no Rio Grande do Sul, e no Sul de Minas Gerais (PAGOT, 2004).

Não existem dados precisos e atuais sobre a cultura da framboeseira no Brasil, porém, com base nos dados divulgados por Pagot e Hoffmann (2003), Faria (2010) e pelo IBGE (2012), estima-se que a área plantada seja de aproximadamente 50 ha, com produção anual de 150 toneladas e receita direta de R\$ 500 mil. O mercado interno, assim como o internacional, tem se expandido nos últimos anos, sendo frequentes as importações de frutos de framboesa, principalmente do Chile, na forma congelada, para abastecimento das indústrias brasileiras.

Os principais fatores limitantes à expansão da cultura da framboeseira no Brasil referem-se à sensibilidade da planta e dos frutos à alta **pluviometria** e à alta umidade relativa do ar, alta suscetibilidade a fungos e a viroses, e exigência de **frio hibernal** para frutificação (PAGOT; HOFFMANN, 2003; INFOAGRO, 2006). Esses fatores restringem a área produtora a regiões de altitude elevada nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais.

As produtividades dos plantios de framboeseira no País são extremamente variáveis, sendo as maiores obtidas na região de Vacaria (5,6 t ha⁻¹) (EMATER, 2004). No entanto, segundo Plaza (2003), a produção de um pomar adequadamente manejado pode chegar a 16 t ha⁻¹. Esses dados demonstram a necessidade de se aperfeiçoar o sistema de produção adotado no País, o que somente será possível mediante a realização de pesquisas nas áreas de seleção e melhoramento genético, otimização do sistema de produção de mudas e manejo fitotécnico da cultura.

Aspectos gerais da cultura

Maria do Carmo Bassols Raseira

Roberto Pedroso de Oliveira

Osmar Nickel

As framboeseiras desenvolvem-se melhor em solos profundos, bem drenados, com boa capacidade de retenção de água, pH ligeiramente ácido (em torno de 5,5) e conteúdo de matéria-orgânica superior a 3%. Preferem áreas bem iluminadas, protegidas em relação a ventos, com boa circulação de ar, precipitação anual de 700 mm a 900 mm, verões frescos e invernos moderados. Requerem frio hibernal, com nível de exigência dependente da cultivar (FERNANDEZ et al., 2006; INFOAGRO, 2006).

Em geral, as plantas iniciam a produção um ano e meio após o plantio

das mudas. A frutificação ocorre nos meses de novembro a fevereiro e, nas cultivares remontantes, também nos meses de outono, ou seja, março a maio (RASEIRA et al., 2004). A maioria das cultivares de framboeseira apresenta flores completas e se autopolinizam com facilidade. No entanto, as abelhas e o vento também contribuem no processo de **polinização** (UNIVERSITY OF GEORGIA, 2006).

Os frutos de framboesa apresentam de 10 mm a 20 mm de diâmetro, com sabor variando de doce a ligeiramente ácido e aroma bastante peculiar. Botanicamente, os frutos são do tipo agregado (INFOAGRO, 2006). A coloração dos frutos é um dos parâmetros utilizados na classificação das framboesas, havendo as vermelhas, pretas, roxas e amarelas (FERNANDEZ et al., 2006). As framboesas amarelas são resultantes de mutação das pretas ou das vermelhas, enquanto as roxas de cruzamentos entre as pretas e vermelhas (DEMCHAK, 2005).

Os frutos não são climatéricos, devendo ser colhidos no momento em que atingem a maturação completa. São altamente perecíveis, conservando-se por, no máximo, quatro dias, sob condições de 0°C e umidade relativa de 90% a 95% (RASEIRA et al., 2004). Além disso, são extremamente frágeis ao transporte, o qual deve ser feito com máximo cuidado para aumentar a vida de prateleira (PLAZA, 2003).

Plantio

Em relação à escolha da área para plantio, deve-se, ainda, evitar locais onde se cultivaram solanáceas nos últimos cinco anos, principalmente batata, tomate e pimentão, em função de apresentarem alguns **patógenos** em comum, tais como **nematoides** e fungos de solo (UNIVERSITY OF GEORGIA, 2006). O sistema radicular é fasciculado, com raízes delgadas e superficiais, que se desenvolvem lateralmente, consistindo na parte perene da planta. A cada ano, a planta emite numerosas hastes chamadas de **rebentos**, inicialmente herbáceos, mas que se lignificam no decorrer do verão (INFOAGRO, 2006).

Espaçamento, condução e poda

O espaçamento recomendado para a implantação do pomar de framboeseira é de 0,30 m entre plantas e de 1,5 a 2,5 m entre linhas, dependendo do sistema de condução a ser adotado (RASEIRA et al., 2004). No Chile, a densidade de plantio recomendada é em torno de 10 mil plantas por hectare (PLAZA, 2003).

Em função do hábito de crescimento da framboeseira, torna-se necessária a implantação de um sistema para condução/sustentação das plantas. O sistema mais utilizado é o de **espaldeira** simples, também podendo ser empregado o de postes em T ou Y (FERNANDEZ et al., 2006).

Quanto ao manejo da cultura, deve-se dar atenção especial à poda e ao desbaste de hastes. Desta forma, as hastes que já frutificaram devem ser eliminadas anualmente; o desbaste (poda verde) das hastes do ano com mais de 1,10 m de altura também deve ser realizado; e, para garantir frutos de maior tamanho, devem ser selecionadas de cinco a seis hastes por planta por ano. Além disso, recomenda-se renovar o pomar, em média, a cada quatro anos, para evitar que a concorrência entre hastes prejudique a **produtividade** e a qualidade dos frutos (RASEIRA et al., 2004; INFOAGRO, 2006). No período pós-dormência, enquanto as hastes do crescimento anterior florescem, novas hastes brotam das gemas da raiz. Essas hastes são as responsáveis pela produção do novo ciclo (novo ano), mas, no caso de cultivares remontantes, essas hastes também produzirão a safra de outono, do mesmo ciclo e após a colheita serão despontadas e preparadas para a safra de primavera/verão seguintes.

Principais pragas e doenças

Várias doenças têm causado prejuízos aos pomares de framboeseira, destacando-se o mofo-cinzento ou podridão-do-fruto (*Botrytis cinerea*), podridão-do-colo (*Phytophthora infestans*), antracnose (*Elsinoe veneta*).

Sphaceloma necator), sarna (*Cladosporium* sp.), requeima-dos-brotos (*Dydimella aplanata*), ferrugem-amarela (*Phragmidium rubi-idaei*), ferrugem-tardia-das-folhas (*Puccinia strumamericanum*), oídio (*Sphaerotheca macularis*), mancha-das-folhas (*Cylindrosporium rubi*), podridão-das-raízes (*Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp.) e galha-dacoroa e dos galha-dos-ramos (*Agrobacterium tumefaciens* e *A. rubi*) (RASEIRA et al., 2004; SANHUEZA, 2004). Além dos danos causados por fungos e por bactérias, as viroses têm provocado problemas sérios na cultura da framboeseira.

As viroses mais importantes da framboeseira são as mesmas que causam prejuízos em amoreira-preta, em razão de ambas pertencerem ao gênero *Rubus*, que possui 740 espécies descritas, divididas em 15 subgêneros provenientes de várias partes do mundo (HUMMER, 1996). Mais de 30 doenças virais e assemelhadas são relatadas infectando a cultura da framboeseira, as quais podem ser classificadas em três grupos de vírus: transmissíveis pelo pólen, por nematoides e por pulgões (CONVERSE, 1987). Deve-se considerar, no entanto, que a principal forma de transmissão ocorre por meio de material propagativo contaminado.

Segundo Nickel (2003), podem-se destacar as seguintes viroses transmitidas por pulgões: vírus da necrose da amoreira-preta (BRNV), vírus da mancha amarela foliar de *Rubus* (RYNV), vírus da mancha foliar de *Rubus* (RLSV), vírus do mosqueado de *Rubus* (RLMV) e vírus da clorose da nervura da amoreira-preta (RVCV); transmitida por pólen: vírus do nanismo arbustivo de *Rubus* (RBDV); e transmitidas por nematoides: mosaico de *Arabis* (ArMV), vírus da mancha anelar latente do morangueiro (SLRSV), vírus da mancha anelar de *Rubus* (RpRSV) e vírus do anel negro do tomate (TBRV). Em função das formas de transmissão das viroses, deriva-se a relevância de produzir as mudas em ambiente protegido contra o ataque de vetores alados. Dentro do grupo das viroses transmitidas por pulgões, destaca-se o mosaico das amoras, principal doença viral da framboeseira, a qual é causada por um complexo de até quatro vírus. Nos Estados Unidos,

o mosaico das amoras é causado por vírus da necrose da amoreira-preta (BRNV) (não classificado) e por vírus da mancha amarela foliar de Rubus (RYNV). Na Europa, a doença é causada por RYNV e vírus do mosqueado de Rubus (RLMV). Entretanto, os sintomas são intensificados quando ocorre uma combinação entre BRNV ou BRNV e vírus da mancha foliar de Rubus (RLSV). Nos EUA, ainda ocorre o vírus do enrolamento da folha (RLCV) e, na Europa, o vírus da clorose das nervuras (RVCV). O complexo viral do mosaico é formado por componentes termosensíveis e termotolerantes, enquanto o RVCV é termoestável e de difícil remoção somente por **termoterapia**. Desta forma, a necessidade de se conhecer previamente o estado fitossanitário das cultivares para subsidiar as decisões de limpeza viral.

Entre os vírus transmissíveis por nematoides, destacam-se o vírus da mancha anelar latente do morangueiro (SLRSV), mosaico de Arabis (ArMV) e vírus da mancha anelar de Rubus (RpRSV) por serem facilmente transmissíveis mecanicamente para plantas indicadoras herbáceas, tais como o *Chenopodium quinoa* e a *Petunia hybrida*. Quanto aos vírus transmitidos por pólen, o vírus do nanismo arbustivo de Rubus (RBDV) destaca-se por ser o de maior ocorrência no mundo.

Além das viroses, os fitoplasmas também ocorrem em framboeseira. Estes organismos também são transmissíveis por enxertia e são disseminados, geralmente, por cigarrinhas.

Os principais danos econômicos causados pelas viroses na framboeseira relacionam-se à redução da produção e da qualidade dos frutos (aborto de frutícolas, redução de firmeza, tamanho e peso), redução da longevidade das plantas e, conseqüentemente, da rentabilidade do investimento (NICKEL, 2003). Jones (1980) verificou reduções de 22% no número de frutos, de 25% no comprimento total dos ramos e de 18% no peso médio dos frutos, ao comparar plantas sadias e infectadas por BRNV e RBDV.

Em relação às pragas da framboeseira, as principais são: afídeos e nematoides, os quais, além dos danos diretos, são vetores de várias viroses; larva das raízes (*Naupactus xanthographus*); cochonilha branca (*Aulacaspis rosae*); e tripes das flores (*Frankliniella* sp.) (RASEIRA et al., 2004; INFOAGRO, 2006).

Cultivares

A maioria das cultivares de framboeseira são originárias de cruzamentos entre *Rubus idaeus* var. *Vulgatus* Arrhen, originária da Europa, e *R. idaeus* var. *Strigosus* Michx., originária da América do Norte e Ásia, tendo sido acrescentados genes das espécies *R. occidentalis* L., *R. Cockburnianus* Hemls., *R. Biflorus* Buch., *R. Kuntzeanus* Hemls., *R. Parvifolius* Hemls., *R. pungensoldhamii* (Mig.) Maxim., *R. arcticus* L., *R. stellatus* Sm. E *R. odoratus* L. (DAUBENY, 1996).

No Brasil, as principais cultivares utilizadas são:

'Heritage': originária de Geneva, Estado de Nova York, Estados Unidos, resultante do cruzamento entre as cultivares (Milton x Cuthbert) e Durham, realizado na Universidade de Cornell, em 1969. Trata-se da cultivar de framboeseira de maior distribuição no mundo, tendo sido, por muitos anos, a principal cultivar dos Estados Unidos e, atualmente, a de maior área plantada no Chile. Por isso, tem sido utilizada como parental em vários programas de melhoramento. As plantas de 'Heritage' são de elevado porte (1,5 m a 2,1 m), eretas e muito vigorosas, perfilhando com facilidade. A cultivar é suscetível ao afídeo vetor do vírus do mosaico da framboeseira. É do tipo remontante (primocane) Os frutos são cônicos, de tamanho médio, vermelhos, firmes, de qualidade regular e maturação tardia, indicados para a comercialização tanto na forma in natura quanto congelada. A cultivar desenvolve-se adequadamente em diferentes tipos de solo, no entanto exige mais de 600 horas anuais de frio hibernal (< 7,2 °C) para frutificação. Por essa razão, no Brasil, vem sendo cultivada somente nas regiões da Alta Mantiqueira (Campos do Jordão e Gonçalves), de Vacaria e de Caxias do Sul (JOUBLAN et al., 2002; PLAZA,

2003; CORNELL UNIVERSITY, 2006b; RASEIRA et al., 2004; NOURSE, 2006).

'Autumn Bliss': originária de East Malling, Inglaterra, resultante de vários cruzamentos realizados em 1974, entre as espécies *R. strigosus*, *R. arcticus* e *R. occidentalis*, e as cultivares Malling Landmark, Malling Promise, Lloyd George, Pyne's Royal e Norfolk Giant. Em geral, a 'Autumn Bliss' é mais produtiva e seus frutos são maiores e de melhor sabor do que os da cultivar Heritage, porém não são tão firmes. A produção ocorre nas hastes primárias, que são moderadamente numerosas e glabras, com muitos espinhos. A cultivar é menos exigente em horas de frio do que a 'Heritage', podendo ser cultivada em solos de média fertilidade, mas que apresentem boa drenagem. Trata-se de uma cultivar remontante, como a 'Heritage', porém de produção precoce, resistente a afídeos vetores do vírus do mosaico da framboeseira e suscetível ao vírus do nanismo arbustivo de *Rubus*. A 'Autumn Bliss' tem apresentado bom desempenho produtivo no sul de Minas Gerais e na região de Caxias do Sul (OLMOS, 2000; JOUBLAN et al., 2002; RASEIRA et al., 2004; MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 2006).

'Batum': planta com hábito de crescimento semelhante a 'Autumn Bliss'. Cultivar também do tipo remontante, com frutas de coloração vermelho e de formato oval. Apresenta baixa exigência em horas de frio, tendo apresentado boa adaptação no sul de Minas Gerais (RASEIRA et al., 2004). Desconhece-se a origem.

Dormanred: foi obtida por cruzamento entre *Rubus parvifolius* e a cultivar Dorsett, realizado em 1949, na Estação Experimental da Universidade de Mississippi, Estados Unidos (BROOKS; OLMO, 1997). Suas hastes são prostradas, necessitando ser amarradas à espaldeira. Foi testada em Pelotas, RS, e tem boa adaptação. O sabor das frutas é doce-ácido, predominando a acidez. As frutas têm ótima aparência, apresentando cor vermelha brilhosa. São excelentes para a elaboração de geleias e doces caseiros. Segundo Brooks e Olmo (1997), as plantas da cultivar Dorman red são produtivas e tolerantes às altas temperaturas de verão.

‘Scepter’: originária de College Park, Madison, Estados Unidos, resultante do cruzamento entre as cultivares September e Durham. As plantas são muito vigorosas, tolerantes a variações de temperatura durante o inverno. A frutificação ocorre nas hastes primárias, com produção de frutos grandes, de coloração vermelho-média e moderadamente macios (BROOKS; OLMO, 1997; RASEIRA et al., 2004).

‘Southland’: originária de Raleigh, Carolina do Norte, Estados Unidos, resultante de cruzamento realizado em 1953, entre as seleções N.C. 237 e Md. S420-5. As plantas são vigorosas, multiplicam-se com facilidade e necessitam de solos férteis e de boa drenagem, em razão de serem sensíveis à asfixia das raízes. A cultivar é resistente à mancha da folha, oídio e mancha do caule. Apresenta baixa exigência em frio, tendo sido obtidas produções satisfatórias em regiões do País com cerca de 300 horas de frio. As frutas são de tamanho médio, de coloração vermelho-clara, forma cônica, simétrica, firmes e de sabor levemente ácido (RASEIRA et al., 2004).

Várias outras cultivares, de diferentes procedências, apresentam potencialidade de cultivo no Brasil, destacando-se aquelas originárias de regiões com invernos amenos. Nos países de clima temperado estão sendo conduzidos vários programas de melhoramento genético de framboeseira, tendo sido frequente a disponibilização de novas cultivares. A grande maioria dessas cultivares está protegida por patentes, sendo necessário o pagamento de royalties para o acesso dos produtores a esses materiais genéticos. Dentre essas cultivares, destacam-se: Amity, Anne, Cascade Bounty, Cascade Dawn, Cascade Delight, Caroline, Chemainus, Chilliwack, Chinook, Cowichan, Coho, Cumberland, Durham, Encore, Eskimalt, FallRed, Huron, Illini Hardy, Jaclyn, Kiwigold, Lauren, Malahat, Meeker, Moutere, Munger, Nectar, Prelude, Royalty, Ruby, Titan, Willamette (CORNELL UNIVERSITY, 2006a; NOURSE, 2006).

Há também programas de melhoramento genético conduzidos por

empresas privadas, cujas cultivares são disponibilizadas somente a seus fornecedores. É o caso da cultivar Maravilha, de excepcional qualidade e alta produtividade.

Propagação

Roberto Pedroso de Oliveira

Maria do Carmo Bassols Raseira

A muda é um dos principais insumos do sistema de produção de fruteiras, pois, com mudas sadias, pode-se reduzir o uso de defensivos químicos (BETTI et al., 2000). Além disso, a muda consiste no ponto de partida para a obtenção de um melhor nível de resposta a qualquer tecnologia empregada no pomar (OLIVEIRA et al., 2004).

A renovação ou a formação de novos pomares de framboeseira tem sido frequentemente realizada, utilizando hastes enraizadas de pomares mais antigos, o que não consiste na melhor prática do ponto de vista fitossanitário. Segundo Nickel (2003), a infestação de viroses nos pomares estabelecidos no País pode ser considerada elevada, conforme sugeriram testes biológicos realizados na Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves, RS) em amostras da região.

Segundo o autor, essa suposição decorre do fato de que a maioria das cultivares de pequenas frutas foram introduzidas no Brasil antes da década de 1980, quando não havia programas de [limpeza clonal](#) e de certificação nos países de origem desses materiais, os quais são propagados vegetativamente. A propagação de framboeseira por meio de sementes também não é recomendada, em função da variabilidade genética decorrente do processo de segregação genética (INFOAGRO, 2006). Visando trabalhar com o conceito de prevenção de pragas e de doenças, como medida de redução de custos e otimização da produtividade e da qualidade dos frutos, o pomar deve ser formado utilizando mudas certificadas, que são as que oferecem

melhor qualidade genética, fitotécnica e fitossanitária.

Produção de mudas certificadas de fruteiras

A Lei no 10.711, de 05/08/2003, regulamentada pelo Decreto nº 5.153, de 23/07/2004, criou o Sistema Nacional de Produção de Sementes e Mudanças (SNSM) e o Registro Nacional de Sementes e Mudanças (Renasem), com a finalidade de garantir a identidade e a qualidade do material de multiplicação e de reprodução vegetal produzido e comercializado em todo o território nacional. O SNSM compreende atividades relacionadas ao registro nacional de cultivares e à produção, certificação, análise, comercialização e fiscalização do setor. Mais recentemente, foi publicada a Instrução Normativa no 24 de 16/12/2005, que aprovou as normas para produção, comercialização e utilização de mudas no País. Normas e padrões específicos para cada espécie de fruteira ainda estão em processo de elaboração pelos órgãos competentes do governo federal.

De uma forma geral, os viveiristas deverão atender às seguintes exigências:

- Inscrição do viveiro ou da unidade de propagação **in vitro** junto ao órgão de fiscalização.
- Elaboração de mapas de produção e de comercialização das sementes e/ou mudas por espécie e por cultivar.
- Disponibilização de projeto técnico de produção e de laudos de vistoria do viveiro e do laboratório de micropropagação a quem interessar.

Segundo o SNSM, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) possui a função de promover, coordenar, normatizar, supervisionar, auditar e fiscalizar o setor de produção de

sementes e de mudas. Os estados e o Distrito Federal podem elaborar normas e procedimentos complementares, bem como exercer a fiscalização do comércio estadual. A certificação das mudas deve ser realizada por entidade certificadora credenciada pelo Mapa para esse fim. A entidade certificadora deverá promover o controle de qualidade de todas as etapas do processo de produção das mudas, incluindo o conhecimento da origem genética e o controle das gerações.

O sistema de certificação de mudas pressupõe a existência de plantas básicas, matrizes e mudas certificadas. Nesse sistema, a **planta matriz** será obtida da **planta básica** e a **muda certificada** da planta matriz (RIO GRANDE DO SUL, 1998; EPPO, 2004).

As plantas básicas e matrizes podem ser mantidas por entidades governamentais ou pelos próprios viveiristas, porém, sempre, sob condições de ambiente protegido de vetores de pragas e de doenças. Estas devem ser indexadas em relação às viroses e adequadamente caracterizadas quanto à **fidelidade genética**.

As mudas certificadas devem ser produzidas a partir de plantas matrizes, utilizando substrato isento de **patógenos** e de propágulos de plantas daninhas e conduzidas também sob condições de ambiente protegido.

Em relação ao viveiro, esse deve: ser registrado e credenciado no Renasem para a produção de mudas; apresentar termo de compromisso com um responsável técnico; comprovar a origem do material de propagação; possuir autorização do detentor dos direitos de propriedade intelectual das cultivares; possuir contrato com entidade certificadora; ser instalado, no mínimo, a 50 m de estradas públicas; ser protegido por quebraventos para evitar danos mecânicos às mudas e entrada de patógenos; ser cercado, para controlar a entrada de pessoas estranhas e animais; apresentar rodolúvio na entrada da propriedade e **pedilúvio** na entrada do viveiro, para desinfestação de patógenos; ser mantido sempre limpo de detritos vegetais.

Produção de mudas certificadas de framboeseira

Em se tratando de mudas certificadas de framboeseira, essas podem ser produzidas a partir de segmentos de raiz, enraizamento de estacas e **cultura in vitro** de tecidos (ALARCÓN, 2004), devendo-se, sempre, utilizar material genético indexado e caracterizado geneticamente e substrato isento de patógenos e de propágulos de plantas daninhas.

A propagação por segmentos de raiz é um método rápido e de baixo custo, por meio do qual raízes de diâmetro aproximado de um lápis e comprimento de 8cm a 10 cm são plantadas, inicialmente, em canteiros contendo areia esterilizada. Após o desenvolvimento da parte aérea são transplantadas em sacolas plásticas contendo substrato para completar a formação das mudas (UNIVERSITY OF GEORGIA, 2006).

A propagação por estacas herbáceas também pode ser utilizada. Nos meses de maio a julho, podem-se enraizar estacas herbáceas de 15 a 20 cm em local sombreado, completando-se a formação das mudas em recipientes maiores que contenham substrato (RASEIRA et al., 2004). Silva et al. (2012) tiveram melhores resultados com estacas caulinares do que com radiculares, não tendo ocorrido a necessidade de utilização de tratamento com ácido indolbutírico (AIB), sendo o processo de mergulhia superior ao de alporquia.

A micropropagação de framboeseira in vitro por **meio de cultura** de tecidos vem sendo realizada comercialmente em larga escala na Itália e nos Estados Unidos há bastante tempo (DEBNATH, 2003).

Essa técnica é empregada com sucesso na propagação de diversas fruteiras, em função de possibilitar a produção massal de mudas sadias a partir de um pequeno volume de material genético, em curto período de tempo e pequeno espaço físico (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Na literatura internacional existem vários trabalhos sobre propagação in vitro de framboeseira (VERTESY, 1979; ANDERSON, 1980; PYOTT; CONVERSE, 1981; WELANDER, 1987; SOBCHYKIEWICZ, 1992; GONZALES et al., 2000; DEBNATH, 2003; DEBNATH, 2004; dentre outros). Há 18 anos, a Embrapa Clima Temperado iniciou uma série de atividades de pesquisa relacionadas à produção de mudas de framboeseira por meio de cultura de tecidos, as quais foram intensificadas nos últimos anos, em função do aumento da demanda por mudas. Anualmente, vários técnicos de laboratório de empresas públicas e privadas de micropropagação são treinados na Embrapa Clima Temperado, com o intuito de fomentar a produção de mudas por meio dessa metodologia. Dessa forma, tem-se obtido mudas de alta qualidade de várias cultivares, para disponibilização ao setor produtivo de diferentes estados brasileiros e para outros centros de pesquisa.

Com base em recentes resultados de pesquisa obtidos na Embrapa Clima Temperado, as etapas otimizadas de um sistema para produção de mudas de framboeseira por cultura de tecidos são descritas a seguir:

Pré-tratamento das plantas

Antes da coleta dos explantes, as plantas matrizes devem ser tratadas com soluções fungicida e bactericida, quinzenalmente, por pelo menos três vezes, para a minimização das contaminações durante o cultivo in vitro.

Época de coleta

As brotações devem ser coletadas nos períodos de desenvolvimento vegetativo intenso das plantas matrizes.

Fontes de explante

Devem-se utilizar explantes provenientes de plantas básicas ou matrizes adequadamente caracterizadas e indexadas.

Termoterapia

A termoterapia é um procedimento prévio à cultura de meristemas, que aumenta a probabilidade de obtenção de explantes livres de vírus. Torna-se necessária quando não se dispõe de plantas matrizes indexadas das cultivares desejadas.

Para a termoterapia, utilizam-se, geralmente, plantas de 5 cm a 10 cm de altura desenvolvidas em sacolas plásticas contendo substrato. Essas plantas podem ser obtidas a partir de brotação de raízes removidas de plantas-mãe no período de inverno.

O tratamento térmico deve ser realizado cultivando-se as plantas doadoras de explantes em câmara incubadora à temperatura de 37-39°C, com fotoperíodo de 16 horas de luz de intensidade próxima a 20.000 lux, por cinco a oito semanas (BAUMANN, 1980; PYOTT; CONVERSE, 1981; LANKES; MATTHIES, 1994).

Indexação

A avaliação do êxito do processo de remoção dos vírus de framboeseira por meio de termoterapia e cultivo de meristemas pode ser feita mediante indexagem biológica com plantas indicadoras por enxertia ou inoculação mecânica; testes sorológicos (ELISA), quando existe disponibilidade de antissoros; e moleculares (RT-PCR), nos casos em que se conheça as sequências do genoma viral para embasar a síntese de iniciadores.

Em se tratando da indexagem biológica, os resultados podem ser observados de quatro a seis semanas nas seguintes combinações vírus/*fitoplasma* e planta indicadora: complexo Raspberry Common Mosaic Virus (vírus do mosaico comum da framboesa) e *Rubus occidentalis*; Black Raspberry Necrosis Virus (vírus da necrose da framboesa preta) e *Rubus occidentalis*; Raspberry Leaf Mottle Virus (vírus do mosqueado da framboesa) e *Rubus idaeus* 'Malling

Landmark' ou *R. occidentalis*; Raspberry Leaf Spot Virus (vírus da mancha foliar da framboesa) e *Rubus idaeus* 'Norfolk Giant', 'Baumforth's Seedling B' ou 'Klon Bonn'; e Raspberry Bushy Dwarf Virus (vírus do nanismo arbustivo da framboesa) e *Rubus idaeus* 'Norfolk Giant'. Após 12 meses, podem ser observados os resultados da indexagem de *Rubus Stunt Phytoplasma* (fitoplasma do nanismo em *Rubus*) em *Rubus idaeus* 'Norfolk Giant' ou 'Zeva2', e em 6 a 8 semanas do vírus Raspberry Vein Chlorosis (vírus da clorose das nervuras de framboesa) em *Rubus idaeus* 'Baumforth's Seedling B'.

Plantas de framboeseira também podem ser indexadas em relação ao Black Raspberry Necrosis Virus (vírus da necrose da framboesa preta) e Raspberry Bushy Dwarf Virus (vírus do nanismo arbustivo da framboesa) por transmissão mecânica, utilizando a planta indicadora *Chenopodium quinoa*.

Martin (2004) atualizou procedimentos sorológicos, moleculares e biológicos para a detecção de viroses e fitoplasmas em framboeseira. No entanto, o diagnóstico ainda se apoia substancialmente na indexagem biológica.

Tamanho dos explantes

Em média, os explantes devem ser coletados com 1,5 cm de comprimento, correspondendo aos ponteiros das plantas. Em seguida, devem ser acondicionados em papel toalha umedecido ou em béquer contendo água destilada e esterilizada, sempre ao abrigo da luz. As cultivares devem ser adequadamente identificadas.

Desinfestação dos explantes

Esta etapa deve ser realizada em laboratório. Inicialmente, os explantes devem ser lavados em água corrente. Em seguida, devem ser desinfestados, mergulhando-os completamente em soluções à base de álcool 70%, por 15 segundos, e de hipoclorito de sódio 1%, por 10

minutos. Finalmente, sob condições assépticas, no interior de câmara de fluxo laminar, deve-se proceder à lavagem dos explantes com água destilada autoclavada, por três vezes, para a completa remoção dos resíduos de cloro.

Extração de meristemas

A cultura de meristemas é realizada para otimizar a eliminação de viroses, viroides e micoplasmas durante a cultura in vitro de tecidos, fundamentando-se no fato de que o tecido meristemático é praticamente livre desses patógenos, principalmente em plantas de crescimento rápido.

A extração dos meristemas deve ser realizada no interior de câmara de fluxo laminar, com auxílio de pinça e bisturi, utilizando lupa estereoscópica. Os meristemas extraídos devem apresentar tamanho próximo a 0,1 mm, podendo-se utilizar explantes maiores no caso do material vegetal ser proveniente de plantas básicas ou matrizes. Explantes menores são muito difíceis de serem extraídos e apresentam baixa porcentagem de pegamento. Explantes maiores aumentam os riscos de contaminação por fungos e bactérias. Após a extração, os meristemas devem ser introduzidos em meio de cultura o mais rápido possível, para se minimizar os riscos de contaminação e dessecação.

Estabelecimento in vitro

Meio de cultura: macronutrientes e micronutrientes do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 1 mg L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina), 0,01 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 0,1 mg L⁻¹ de AG3 (ácido giberélico), acrescido com 0,5 mg L⁻¹ de tiamina, 0,5 mg L⁻¹ de piridoxina, 0,5 mg L⁻¹ de ácido nicotínico, 2 mg L⁻¹ de glicina, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de myo-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. O pH do meio de cultura deve ser ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. A composição do meio MS é descrita na Tabela 1.

Tipos de frasco: a introdução in vitro dos explantes deve ser feita em recipientes individuais, pois o risco de contaminação nessa fase é bastante elevado. Recomenda-se utilizar tubos de ensaio de 15 mm de diâmetro por 150 mm de altura, contendo 6mL de meio de cultura.

Tabela 1. Composição do meio de cultura

Componente	Fórmula	Concentração (mg L ⁻¹)
Macronutrientes		
<i>Nitrato de amônio</i>	NH ₄ NO ₃	1650
<i>Nitrato de potássio</i>	KNO ₃	1900
<i>Cloreto de cálcio</i>	CaCl ₂ .2H ₂ O	441
<i>Sulfato de magnésio</i>	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
<i>Fosfato de potássio</i>	KH ₂ PO ₄	170
<i>Sódio EDTA</i>	Na ₂ EDTA	37,25
<i>Iodeto de potássio</i>	KI	0,83
Micronutrientes		
<i>Sulfato de ferro</i>	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,85
<i>Sulfato de manganês</i>	MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
<i>Sulfato de zinco</i>	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
<i>Ácidobórico</i>	H ₃ BO ₃	6,2
<i>Molibdato de sódio</i>	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
<i>Cloreto de cobalto</i>	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
<i>Sulfato de cobre</i>	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
Vitaminas		
<i>Ácido nicotínico</i>	C ₆ H ₅ NO ₂	0,5
<i>Cloridrato de piridoxina</i>	C ₆ H ₁₂ ClNO ₂	0,5
<i>Cloridrato de tiamina</i>	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS	0,5
<i>Glicina</i>	C ₂ H ₅ NO ₂	2,0
<i>Mio-inositol</i>	C ₆ H ₁₂ O ₆	100,0
<i>Outros</i>		
<i>Ágar</i>		7.000
<i>Sacarose</i>	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30.000

Fonte: MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

Condições de autoclavagem: 121 °C, a 1,5 atm, por 15 minutos.

Duração do cultivo: 40 dias

Condições de cultura: cultivo no escuro, nas primeiras 48 horas, para minimizar a oxidação dos explantes. Nos 38 dias restantes do subcultivo, recomenda-se utilizar intensidade luminosa de $20 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Multiplicação

Meio de cultura: macronutrientes, micronutrientes e vitaminas do meio MS suplementado com $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, 15 mg L^{-1} de sulfato de ferro, 30 g L^{-1} de sacarose e 7 g L^{-1} de ágar. O pH do meio de cultura deve ser ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Tipos de frasco: vários tamanhos e formatos de frasco de vidro ou de plástico podem ser utilizados. Um dos tamanhos recomendados é o de 60 mm de diâmetro por 140 mm de altura. Deve-se buscar equilíbrio em relação ao tamanho do frasco, sabendo-se que os frascos maiores comportam maior número de plântulas, sendo mais econômicos, porém apresentam maior risco de contaminação. A quantidade de meio de cultura por frasco varia em função de seu tamanho. No frasco recomendado, deve-se utilizar 40 mL de meio de cultura.

Condições de autoclavagem: 121 °C, a 1,5 atm, por 15 minutos.

Condições de cultura: cultivo sob intensidade luminosa de $20 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Tipo e tamanho dos explantes: a repicagem deve proporcionar explantes com tamanho de 2 mm a 3 mm, contendo de duas a três gemas.

Número de subcultivos: recomenda-se a realização de seis subculturas

de 25-30 dias (cada uma), embora normalmente não sejam relatados variantes somaclonais em framboeseira (HOEPFNER et al., 1996).

Sistemas alternativos: com a finalidade de reduzir custos durante a fase de cultivo in vitro, alguns autores recomendam o uso parcial ou total de iluminação natural na sala de cultivo (KODYM; ZAPATA-ARIAS, 1999), a substituição da sacarose por açúcar cristal e do ágar por amido de batata ou de milho (KODYM; ZAPATA-ARIAS, 2001). Erig e Schuch (2005) sugerem o uso de luz verde, proporcionada por filtros coloridos de acetato celulose, em substituição à luz branca proporcionada pelas lâmpadas fluorescentes brancas-frias, para aumentar a taxa de multiplicação dos explantes.

Eficiência do sistema: espera-se obter por volta de 750 plântulas por **meristema** após seis subcultivos de 25-30 dias.

Enraizamento in vitro

Meio de cultura: metade da concentração de sais do meio MS, micronutrientes e vitaminas do MS, suplementado com 0,1 mg L⁻¹ ANA, 30 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar, sem adição de reguladores de crescimento, sendo o pH do meio de cultura ajustado para 5,8, antes da autoclavagem.

Tipos de frasco, condições de autoclavagem e de cultura: idem ao item multiplicação in vitro.

Tipo e tamanho dos explantes: a repicagem deve ser conduzida de forma a proporcionar a individualização das plântulas, que serão dispostas no meio de cultura para alongar e emitir raízes. O tamanho mínimo dos explantes para essa fase é de 1 cm de altura.

Qualidade esperada: plântulas adequadamente alongadas e enraizadas com altura maior do que 2 cm, raízes curtas e abundantes, após 25 dias de cultivo.

Eficiência do sistema: nas condições descritas, pode-se obter quase 100% de plântulas enraizadas.

Transplântio em casa de vegetação

Terminada a fase de enraizamento in vitro, as plântulas devem ser removidas dos frascos, lavadas e, cuidadosamente separadas umas das outras. Em seguida, devem ser classificadas por tamanho e transplantadas para recipientes, contendo substrato com características químicas e físicas favoráveis ao desenvolvimento das plantas. Bandejas plásticas ou de isopor, ou ainda saquinhos de polietileno de diferentes tamanhos podem ser utilizados como recipientes. O substrato deve ser isento de patógenos e de propágulos de plantas daninhas, podendo ser adquirido de empresas especializadas ou produzido no próprio viveiro, a partir de casca de arroz carbonizada, casca de pinos, serragem, vermiculita, perlita, turfa, dentre outros materiais.

As mudas em formação devem ser dispostas sobre bancadas de, no mínimo, 30 cm de altura em relação ao solo, sendo mantidas em ambiente protegido. Recomenda-se que o local seja coberto com filme de polietileno transparente ou outro material, para evitar a entrada de água das chuvas, e que possua lateral revestida com tela antiafídica, para impedir a entrada de vetores de doenças.

Aclimatização

A passagem das plantas do ambiente in vitro, que apresenta alta umidade relativa do ar, completa assepsia e iluminação, temperatura e fotoperíodo controlados, para a condição ex vitro deve ser gradual. Isso é conseguido por meio da disposição das plantas no interior de um túnel plástico, com luminosidade, temperatura (20-28 °C) e irrigação controladas, simulando a condição do laboratório. Em seguida, deve-se proceder à remoção gradual do plástico, de forma a permitir que as plantas passem do estado heterotrófico, no qual dependiam de um suprimento externo de energia, no caso a sacarose,

para o **estado autotrófico**, em que se faz necessária a realização de fotossíntese para sobreviver (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990).

As plântulas de framboeseira são de fácil aclimatização, quando comparadas às de outras espécies frutíferas. Por isso, pode-se obter uma porcentagem de pegamento de 85% a 90%.

Formação das mudas

Nutrição: durante e após a fase de aclimatização, as mudas devem ser fertilizadas, semanalmente, com solução nutritiva composta por nitrogênio, fósforo e potássio (fórmula 10:10:10).

Irrigação: deve ser realizada diariamente, em função da necessidade das plantas e da umidade no substrato.

Controle de pragas: deve ser preventivo, por meio do uso de fungicidas, inseticidas e acaricidas.

Padrão de comercialização

Em média, nas condições citadas, as mudas tornam-se aptas ao transplântio no campo a partir de 90 dias do início da aclimatização, quando apresentam tamanho mínimo de 10 cm. As mudas certificadas têm tolerância zero para mistura varietal, plantas atípicas e presença de patógenos da cultura.

Eficiência do sistema

O sistema de produção de mudas de framboeseira in vitro por cultura de tecidos descritos é bastante eficiente. Embora possa ser utilizado para todas as cultivares de framboeseira, a eficiência apresenta pequenas variações em função da cultivar (OLIVEIRA et al., 2010). Em média, obtém-se 675 mudas por explante inicial por ciclo de propagação, ou seja, em um prazo total de dez meses da extração do meristema até as mudas estarem aptas ao plantio.

Controle de qualidade

Como as plantas básicas e matrizes estão sujeitas à recontaminação e os métodos de cultura de meristemas e de termoterapia não são completamente eficientes, recomenda-se o monitoramento da presença de patógenos, ao final do processo de produção das mudas (SPIEGEL, 1998).

A indexação para viroses pode ser realizada pelo método da enxertia de tecido da muda a ser testada em espécies sensíveis. Testes sorológicos, como o ELISA, e moleculares, como a PCR, também podem ser utilizados na indexação de plantas de framboeseira.

A ocorrência de misturas de cultivares em pomares é um dos problemas da fruticultura, causando dificuldades no planejamento e na operacionalização dos tratos culturais e da colheita. Muita atenção e cuidado devem ser tomados durante o ciclo de multiplicação de mudas nos laboratórios de micropropagação, pois um único frasco fora de sua posição na sala de cultivo resultará em milhares de mudas misturadas.

Como é praticamente impossível diferenciar cultivares de framboeseira no estágio in vitro e durante a aclimatização, o monitoramento da fidelidade genética pode ser realizado por meio de marcadores morfológicos durante o desenvolvimento das mudas no pomar. Em casos especiais, podem ser utilizados marcadores moleculares, tais como o Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Simple Sequence Repeats (SSR) e Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Na Embrapa Clima Temperado já foram produzidas milhares de mudas de framboeseira, utilizando o presente protocolo, não tendo sido identificadas plantas com características morfológicas que pudessem ser consideradas distintas do padrão original das cultivares.

Evidentemente, a ausência de plantas atípicas deve ser confirmada em campo, principalmente após a frutificação, pois as mutações mais frequentes em fruteiras ocorrem na arquitetura das plantas e nas características dos frutos (ISRAELI et al., 1991; KAUSHAL et al., 2004).

O fato de o sistema de propagação proposto não passar pela fase de calo, utilizar baixas doses de reguladores de crescimento e, principalmente, número reduzido de subcultivos, contribui para a minimização do surgimento de variantes somaclonais (SWARTZ et al., 1981; OLIVEIRA et al., 2000; KAUSHAL et al., 2004).

Análise de viabilidade econômica

As cultivares de framboeseira são bastante responsivas in vitro, apresentando taxas de multiplicação superiores às de outras espécies frutíferas, tais como as da bananeira e do abacaxizeiro, para as quais também existem empresas de produção de mudas micropropagadas estabelecidas no mercado. Em média, independentemente da cultivar, utilizando o presente protocolo são obtidas taxas de multiplicação próximas a 5,0 após o terceiro subcultivo.

Basicamente, para produzir mudas por meio de cultura in vitro de tecidos são necessários infraestrutura física para o laboratório e casas de ve-getação, equipamentos, vidraria, reagentes e mão de obra treinada. Esta última representa de 40% a 70% do custo de produção (OLIVEIRA, 1998).

O custo de produção das mudas micropropagadas é variável em função da escala de produção, do nível tecnológico empregado, da remuneração local paga à mão de obra, da distância do laboratório aos centros fornecedores de insumos e equipamentos, da qualidade das estruturas do laboratório e da casa de vegetação e das estratégias utilizadas para a minimização de despesas, tais como iluminação natural, uso de açúcar cristal em vez de sacarose, uso de amido de batata ou de milho no lugar de ágar, dentre outras. A instalação do

laboratório na zona rural também contribui para a redução do custo de produção, pois a energia elétrica é subsidiada e a mão de obra normalmente menos onerosa.

Como vários fatores estão envolvidos, o custo de produção da muda apresenta uma grande variação. Em termos médios, considerando-se um laboratório com capacidade de produção de 100 mil mudas de framboeseira por ano, nas condições do Estado do Rio Grande do Sul, pode-se estimar um custo de produção de aproximadamente R\$ 2,50 a R\$ 3,00 por muda. Atualmente, as mudas de framboeseira estão sendo vendidas entre R\$ 3,00 e R\$ 4,00 cada, havendo muita procura em função, principalmente, do preço da fruta no mercado.

Desta forma, a atividade apresenta-se como uma oportunidade atraente de investimento. Nesse aspecto, recomenda-se que o viveirista também utilize a estrutura do laboratório para a produção de mudas e matrizes de outras espécies, tais como abacaxizeiro, amoreira-preta, bananeira, batata, flores, mirtilo, dentre outras, visando maximizar o uso dos meios de produção e aumentar a competitividade.

Considerações Finais

A utilização de mudas de qualidade, preferencialmente certificadas, é uma medida essencial para a melhoria do sistema de produção de frutas no Brasil, consistindo no alicerce para a transformação das potencialidades agroclimáticas em pomares produtivos.

Por meio do sistema de produção apresentado, podem-se obter mudas uniformes, com **fidelidade genética**, isentas de patógenos, em larga escala, em pequeno espaço físico e curto período de tempo, de forma economicamente viável e atendendo às exigências das entidades certificadoras e às necessidades dos produtores por mudas de qualidade.

Outra significativa vantagem do sistema proposto refere-se à sua versatilidade, já que é aplicável a praticamente todas as cultivares de framboeseira recomendadas pela Embrapa Clima Temperado, não tendo sido detectados problemas típicos da **cultura de tecidos**, relativos ao surgimento de variantes somaclonais, oxidação e vitrificação de plântulas.

Os técnicos e pesquisadores da Embrapa Clima Temperado estão à disposição dos interessados para maiores esclarecimentos sobre o sistema de produção de mudas de framboeseira apresentado. Treinamentos individuais ou para grupos de interessados são periodicamente realizados. Desta forma, são oferecidas condições para a incubação de laboratórios de micropropagação, os quais são estratégicos para o desenvolvimento da fruticultura nacional.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de pesquisa aos autores.

Glossário

A

Aclimatização: processo de adaptação do organismo vegetal da condição in vitro para a ex vitro, ou seja, da condição de laboratório para a de casa de vegetação.

Afídeo: inseto diminuto que se alimenta da seiva de plantas, pulgão.

Ágar: agente gelificante, composto de polissacarídeos, usado em preparações de meios de cultura e em eletroforese, extraído de algas vermelhas.

B

C

Cultivar remontante: cultivar que produz inclusive no outono (março a maio), antes de passar o inverno, além do período normal de produção de dezembro a fevereiro.

Cultura de tecidos: processo de propagação vegetativa, assexuada, realizado em laboratório de micropropagação.

Cultura in vitro: propagação clonal massal de um genótipo selecionado por técnicas de micropropagação.

D

Desinfestação: método de limpeza de patógenos da superfície de tecidos vegetais, utilizando imersão e lavagens com produtos químicos e água autoclavada.

E

Espaldeira: sistema de condução de plantas, podendo ser em postes simples ou nos formatos em "T" ou "Y".

Estabelecimento in vitro: introdução de tecidos vegetais no interior de frascos com meio de cultura, com posterior desenvolvimento dos mesmos.

Estado autotrófico: estado em que a planta possui a capacidade de produzir seu próprio alimento a partir de material inorgânico, por meio de fotossíntese.

Estado heterotrófico: estado em que a planta não possui a capacidade de produzir o seu alimento a partir de material inorgânico, requerendo sacarose ou outro componente como fonte de energia.

Explante: célula, tecido ou órgão de uma planta usado para iniciar culturas in vitro.

F

Fidelidade genética: geneticamente idênticos.

Fitoplasma: organismo assemelhado a vírus.

Framboesa: pequena fruta da espécie *Rubus idaeus*.

Frio hiberna: relaciona-se à necessidade de um determinado número de horas de frio (<7,2 °C) para frutificar.

Frutos climatéricos: são os frutos que possuem a capacidade de amadurecer após a sua colheita durante o armazenamento, a exemplo do mamão e da banana.

Frutos não climatéricos: são os frutos que não possuem a capacidade de amadurecer após a sua colheita durante o armazenamento, a exemplo da framboesa, devendo ser colhidos maduros.

G

H

I

Indexação: conjunto de testes/análises que possibilitam analisar o estado fitossanitário de um organismo.

In vitro: cultivo de células, tecidos ou órgãos em recipientes, sob condições de ambiente artificial.

J

K

L

Limpeza clonal: remoção de patógenos de plantas ou partes das plantas a serem usadas na propagação assexuada.

M

Meio de cultura: fontes de carbono, energia, nitrogênio, fósforo, sais minerais e vitaminas diluídas em água, com ou sem agente gelificante, capazes de proporcionar o desenvolvimento de organismos.

Meristema: célula indiferenciada com capacidade de divisão contínua, a partir da qual se pode regenerar uma planta.

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

Muda: planta jovem, em geral produzida para o posterior plantio em local definitivo.

Muda certificada: muda com fidelidade genética e qualidade fitossanitária atestada por órgão certificador.

N

Nematoide: parasita de plantas, também conhecido por verme cilíndrico.

O

P

Patente: concessão conferida pelo Estado, que garante ao seu titular a propriedade de explorar comercialmente a sua criação.

Patógeno: agente externo causador de doença, podendo ser um fungo, bactéria, vírus ou assemelhado.

Pedilúvio: sistema para desinfestação de calçados, instalado, normalmente, na entrada de viveiros.

Perfilho: gema lateral, proveniente da base da planta.

Planta básica: planta da qual são obtidas as matrizes.

Planta matriz: planta mãe, da qual são coletadas sementes ou propágulos para a produção de mudas.

Pluviometria: trata-se de uma unidade de medida de chuva, que consiste na precipitação de água em uma dada superfície de área.

Polinização: ato da transferência de grãos de pólen de uma flor para o estigma de outra ou para o seu próprio estigma, possibilitando que o gameta masculino possa alcançar e fecundar o gameta feminino.

Produtividade: produção por área, ou seja, qual a produção de uma determinada área.

Q

R

Rebento: gema, que dá origem a uma nova planta, idêntica à planta-mãe.

Requerimento em frio hibernal: relaciona-se à necessidade de um determinado número de horas de frio (<7,2 °C) para frutificar.

Rodolúvio: sistema de lavagem para desinfestação de veículos.

S

Solanáceas: família botânica representada por aproximadamente 2 mil espécies distribuídas em 95 gêneros, compreendendo culturas de grande repercussão econômica, como a batata, tomate e tabaco.

Subcultivo: cultura de tecidos de explantes já estabelecidos in vitro por um determinado período de tempo.

T

Termoterapia: uso de variações de temperatura para eliminação de patógenos.

Testes sorológicos: testes baseados na reação antígeno e anticorpo para diagnose de doenças.

U

V

Varição somaclonal: alteração de natureza genética ou epigenética decorrente de procedimentos de cultura in vitro.

W

X

Y

Z

Referências

- ALARCÓN, J. S. M. Propagación de arándano y frambueso rojo. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2., 2004, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 31-38. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 44).
- ANDERSON, W. C. Tissue culture propagation of red and black raspberry *Rubus idaeus* and *R. occidentalis*. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 112, p. 17-20, 1980.
- BAUMANN, G. Gewinnung von gesundem Himbeerplanzgut. **Erwerbsobstbau**, Berlin, v. 22, p. 148-151, 1980.
- BETTI, J. A.; PASSOS, F. A.; TANAKA, M. A. S. Produção de mudas sadias de morangueiro. In: TRANI, P. E.; MACEDO A.C. (Ed.). **Manejo integrado de pragas e doenças do morangueiro**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 2000. p. 55-61. (Manual Técnico, Série Especial).
- BROOKS, R. M.; OLMO, H. P. **Register of fruit and nut varieties**. 3. ed. Alexandria: ASHS Press, 1997. p. 174-188.
- CONVERSE, R. H. Virus disease of small fruits. **Agriculture Handbook**, Washington, v. 631, p. 103-105, 1987.

CORNELL UNIVERSITY. **Cornell fruit resources:** berries. Disponível em: <<http://www.hort.cornell.edu/extension/commercial/fruit/berries/nurseries/brambles.html>>. Acesso em: 31 jul. 2006a.

CORNELL UNIVERSITY. New York State Agricultural Experiment Station. **Cornell's heritage raspberry receives 2004 outstanding fruit cultivar award.** Disponível em: <<http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/press/2004/040729Heritage.html>>. Acesso em: 31 jul. 2006b.

DAUBENY, H. A. Brambles. In: JANICK, J. E.; MOORE, J. N. (Ed.). **Fruit breeding, tree and tropical fruit.** New York: J. Willey, 1996. v. 1. p. 252-286.

DEBNATH, S. C. Clonal propagation of dwarf raspberry (*Rubus pubescens* Raf.) through in vitro axillary shoot proliferation. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v. 43, p. 179-186, 2004.

DEBNATH, S. C. Micropropagation of small fruits. In: JAIN, S.M.; ISHII, K. (Ed.). **Micropropagation of woody trees and fruits.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 465-506.

DEMCHAK, K. **Agricultural alternatives:** red raspberry production. University Park: Pennsylvania State University, 2005. 6 p.

EMATER-RS. **Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul - 2003-2004.** Porto Alegre: Emater/RS-ASCAR, 2004. 89 p.

JOÃO, P. L. (Coord.) **Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul - 2003/2004.** Porto Alegre: EMATER-RS/ASCAR, 2004. 89 p.

EPPO. European and Mediterranean Plant Protection Organization. **Certification schemes;** pathogen-tested material of *Rubus*. Paris: EPPO, 2004. 9 p.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de luz na multiplicação in vitro de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) 'Batum'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 488-490, 2005.

FARIA, J. C. Safra na serra: framboesas, amoras e mirtilos estão em plena colheita na Serra da Mantiqueira. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 06 de janeiro de 2010. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/suplementos,safra-na-serra,491506,0.htm>>. Acesso em: 24 set. 2013.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).

FERNANDEZ, G. E.; LOUWS, F. J.; BALLINGTON, J. R.; POLING, E. B. **Growing raspberries in North Carolina**. Raleigh: North Carolina State University, 2006. 12 p.

GONZALES, M. V.; LOPEZ, M.; VALDES, A. E.; ORDAS, R. J. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 137, p. 73-78, 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.) **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 1990. p. 99-167.

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

HOEPFNER, A. S.; NESTBY, R.; NYBOM, H. Genetic deviation initiated by adventitious shoot regeneration from tissue cultured red raspberry. **Journal of Horticultural Science**, Ashford Kent, v. 71, n. 1, p. 71-79, 1996.

HUMMER, K. E. Rubus diversity. **HortScience**, Alexandria, v. 31, n. 2, p. 1182-1184, 1996.

IBGE. Framboesa. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 19 maio 2012.

INFOAGRO. **El cultivo del frambueso**. Disponível em: <http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/frambueso.htm>. Acesso em: 04 ago 2006.

ISRAELI, Y.; REUVENI, O.; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variation by in vitro techniques. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 48, p. 71-88, 1991.

JONES, A. T. Some effects of latent virus infection in red raspberry. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 95, p. 63-70, 1980.

JOUBLAN, J. P.; BANADOS, P.; MARCHANT, A. Adaptación y comportamiento de cultivares de frambueso en la provincia de Nuble. **Agro Sur**, Valdivia, v. 30, n. 2, p. 1-13, 2002.

KAUSHAL, K.; NATH, A. K.; KAUNDAL, P.; SHARMA, D. R. Studies on somaclonal variation in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 662, p. 269-275, 2004.

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

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 55, p. 141-145, 1999.

LANKES, C.; MATTHIES, A. Entwicklungsdynamik pathogenfreier Himbeerkulturen in vitro.

Gartenbauwissenschaft, Hannover, v. 59, p. 138-142, 1994.

MARTIN, R. R. Recommended procedures for detection of viruses of small fruit crops. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 656, p. 199-207, 2004.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **Raspberry variety testing at MSU**. Disponível em: <<http://web1.msue.msu.edu/vanburen/raspvar.htm>>. Acesso em: 31 jul. 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

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).

NOURSE. **Small Fruit Nursery Catalog and Resource**. All raspberry and blackberry varieties. Disponível em: <http://www.noursefarms.com/catalog/raspberries/all_varieties>. Acesso em: 31 jul. 2006.

OLIVEIRA, R. P. **Infra-estrutura e custos de um laboratório de produção de mudas de bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMF, 1998. 17 p. (Embrapa-CNPMF. Documentos, 81).

OLIVEIRA, R. P.; GOMES, T. S.; VILARINHOS, A. D. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedade de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2329-2334, 2000.

OLIVEIRA, R. P.; NAKASU, B. H.; SCIVITTARO, W. B. **Tecnologias para qualidade de mudas de morangueiro e amora-preta**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 39-47. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 44).

OLIVEIRA, R. P.; ROCHA, P. S. G.; GULARTE, V. F.; SCIVITTARO, W. B. Micropropagação de framboeseira em diferentes concentrações de ferro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2598-2602, 2010.

OLMOS, F. R. **Evaluación de cultivares de frambuesa en la provincia de Nuble**. Chillán: Universidad de Concepción, 2000. 30 p.

PAGOT, E. Diagnóstico da produção e comercialização de pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2., Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 09-18. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 44).

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 7-15. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).

PLAZA, L. E. Producción de berries en Chile. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 16-23. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).

POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 37-40. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).

PYOTT, J. L.; CONVERSE, R. H. In vitro propagation of heat treated red raspberry clones. **HortScience**, Alexandria, v. 3, p. 308-309, 1981.

RASEIRA, M. C. B.; GONÇALVES, E. D. G.; TREVISAN, R.; ANTUNES, L. E. C. **Aspectos técnicos da cultura da framboeseira**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 22 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 120).

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Produção Vegetal. Comissão Estadual de Sementes e Mudanças do Estado do Rio Grande do Sul. **Normas e padrões de produção de mudanças de fruteiras para o Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1998. 100 p.

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

SANHUEZA, R. M. V. Doenças de importância potencial para os pequenos frutos no Sul do Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 2., Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 79-91. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 44).

SILVA, K. N.; PIO, R.; TADEU, M. H.; ASSIS, C. N.; MOURA, P. H. A.; PATTO, L. S. Produção de mudanças de framboeseira negra por diferentes métodos de propagação vegetativa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 3, 2012.

SOBCZYKIEWICZ, D. Micropropagation of raspberry (*Rubus idaeus* L.). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. v. 18, p. 339-353.

SPIEGEL, S. Virus certification of strawberries. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Ed.) **Plant virus disease control**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998. p. 320-324.

SWARTZ, H. J.; GALLETTA, G. J.; ZIMMERMANN, R. H. Phenotypic stability and field performance of tissue culture propagated thornless blackberry. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 418, 1981.

UNIVERSITY OF GEORGIA. **Blackberries and raspberries** (*Rubus* spp.). 14 p. Disponível em: <<http://www.uga.edu/fruit/rubus.htm>>. Acesso em: 30 jul. 2006.

VENDRUSCULO, J. L. S. Processamento de morango e demais pequenas frutas. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 133-143. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 124).

VERTESY, J. Experiments on the production of virus-free raspberry propagation material by meristem culture. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 95, p. 77-79, 1979.

WELANDER, M. In vitro culture of raspberry (*Rubus idaeus*) for mass propagation and virus elimination. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 212, p. 610, 1987.

Embrapa

Clima Temperado

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

CGPE 12319