

MARCIO DOS SANTOS

**SENSIBILIDADE DE *Physalis peruviana* A MUTAGÊNICOS
QUÍMICOS E FÍSICOS.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção vegetal.

Orientador: Altamir Frederico Guidolin.

Co-orientador: Jefferson Luís Meirelles Coimbra.

LAGES, SC

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

dos Santos, Marcio
SENSIBILIDADE DE Physalis peruviana A MUTAGÊNICOS
QUÍMICOS E FÍSICOS. / Marcio dos Santos. -- 2019.
66 p.

Orientador: Altamir Frederico Guidolin
Coorientador: Jefferson Luís Meirelles Coimbra
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Mutação. 2. Melhoramento. 3. Concentração. I. Frederico
Guidolin, Altamir . II. Luís Meirelles Coimbra, Jefferson . III.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção
Vegetal. IV. Título.

MARCIO DOS SANTOS

**SENSIBILIDADE DE *Physalis peruviana* A MUTAGÊNICOS
QUÍMICOS E FÍSICOS.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Produção Vegetal, na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Banca examinadora:

Orientador:

Dr. Altamir Frederico Guidolin. Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro interno:

Dr. Adelar Mantovani. Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro interno:

Dr. Newton Clóvis Freitas da Costa. Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro externo:

Dra. Patrícia Maria Oliveira Pierre Castro. Universidade Federal de Santa Catarina.

Lages - SC, 10 de Setembro de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado força para concluir mais uma etapa em minha caminhada para a formação profissional. A todos os Professores e Doutores do Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), em especial ao Prof. Dr. Altamir Frederico Guidolin e ao Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra, pela oportunidade e orientação em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. Lírio Luiz Dal Vesco por ter me incentivado a continuar na área da pesquisa científica.

À minha mãe, que com grande esforço e amor me deu muito mais que a vida e nunca me deixou desistir nas horas difíceis. Ao meu pai (*in memoriam*) que mesmo ausente me ajudou espiritualmente guiando meu caminho, tenho certeza que de onde estiver, terá orgulho de mim por realizar seus sonhos.

Aos meus amigos (a) e companheiros (a) nesses anos: Paulo, Guga, Manu, Rita, Mara, Nicole, Fábio, Rubia, Cristiane, Sabrina, Inayara e a minha irmã Marcia. A Raquel e ao Dirceu pelo acolhimento em sua casa. A minha filha Yasmin, por ser o motivo da minha alegria e a razão de viver. Em geral, a todos familiares, amigos e colegas, que contribuíram para minha formação acadêmica e a realização deste trabalho, deixo a minha gratidão.

RESUMO

A *Physalis peruviana* L. é uma espécie frutífera de notável sabor e aroma, por isso existe uma alta demanda por seus frutos. No entanto, apesar de sua importância econômica, há poucas cultivares de fisális melhoradas e registradas. A principal dificuldade encontrada para a seleção de populações com constituição genética superior esta relacionada à base genética restrita. Por isso, é de fundamental importância a utilização de ferramentas como a mutagênese induzida através de agentes químicos e físicos para aumentar a frequência de mutações e criar novos alelos. Após a indução é necessário caracterizar as gerações seguintes e realizar estudos de correlações entre as variáveis, a fim de obter progressos mais rápidos através da seleção indireta de caracteres de difícil mensuração, como a produtividade. Tendo em vista ao que foi exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a sensibilidade de *Physalis peruviana* submetida aos agentes mutagênicos químicos e físicos. Para isso foram realizados três experimentos. Os dois primeiros demonstraram que a pré-embebição das sementes em água potencializa os efeitos dos mutagênicos alquilantes. Em relação às doses avaliadas para o etilmetanosulfonato (EMS) e o metilmelanosulfonato (MMS), as variáveis: estatura (cm), diâmetro do colo da plântula (mm), número de folhas e comprimento radicular (cm) apresentaram decréscimo à exposição aos mutagênicos quando comparado ao grupo controle. Desta forma, foi possível estabelecer doses que causem o maior índice de danos e a menor mortalidade possível. Esse valor corresponde a DL_{20-50} (Dose letal entre 20 a 50%), ou seja, nas condições do presente trabalho deve-se utilizar para a indução de mutações, concentrações entre 3 a 6% do produto ativo para ambos os mutagênicos. No terceiro ensaio foram avaliadas diferentes populações oriundas do mutagênico físico (radiação gama), tendo como fonte o cobalto 60. Foi observado comportamento diferenciado para um tratamento (população de Fraiburgo na dose 500 Grays), havendo incremento para as variáveis sólidos solúveis (SST) em 1,55 Brix° e 0,4 para a acidez titulável (ATT). A correlação e a análise de trilha demonstraram que é possível melhorar as características de frutos sem haver perdas em produtividade, uma vez que estas variáveis apresentaram correlações significativas e positivas.

Palavras-chave: Doses, Mutação, Melhoramento genético.

ABSTRACT

The *Physalis peruviana* L. is a fruit species of remarkable flavor and aroma, so there is a high demand for its fruits. However, despite their economic importance, there are few cultivars of improved and registered phyllis. The main difficulty encountered in selecting populations with higher genetic makeup is related to the restricted genetic base. Therefore, the use of tools such as chemical and physical induced mutagenesis to increase the frequency of mutations and create new alleles is of paramount importance. After induction, it is necessary to characterize the following generations and to carry out correlation studies between variables in order to achieve faster progress through indirect selection of difficult to measure characters such as productivity. In view of the above, the objective of this study was to evaluate the sensitivity of *Physalis peruviana* submitted to chemical and physical mutagenic agents. For this, three experiments were performed. The first two showed that seed pre-soaking in water potentiates the effects of alkylating mutagens. Regarding the concentrations evaluated for ethyl methanesulfonate (EMS) and methyl methanesulfonate (MMS), the variables: height (cm), seedling neck diameter (mm), number of leaves and root length (cm) showed a decrease in exposure to mutagens. when compared to the control group. Thus, it was possible to establish concentrations that cause the highest damage rate and the lowest possible mortality. This value corresponds to DL_{20-50} (lethal concentrations between 20 and 50%), ie, under the conditions of the present work, concentrations between 3 and 6% of the active product for both mutagens should be used for the induction of mutations. In the third trial, different populations derived from the physical mutagen (gamma radiation) were evaluated, using cobalt 60 as a source. Different behavior was observed for one treatment (Fraiburgo population at 500 Grays concentrations), with increment for soluble solid variables (SST). 1,55 Brix and 0,4 for titratable acidity (ATT). Correlation and path analysis showed that it is possible to improve fruit characteristics without yield losses, since these variables showed significant and positive correlations.

Keywords: Concentrations, Mutation, Genetic improvement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 — Estatura de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etilmetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 29
- Figura 2 — Número de folhas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etilmetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 30
- Figura 3 — Diâmetro na altura colo da plântula em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de etimetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 31
- Figura 4 — Sobrevida de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etimetanosulfonato (EMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 32
- Figura 5 — Porcentagem de germinação de sementes em função da exposição de sementes de *physalis* em diferentes doses do mutagênico de Metilmetasulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste T..... 35
- Figura 6 — Número de folhas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metilmetasulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 36
- Figura 7 — Comprimento radicular em função da exposição de sementes de *physalis* em diferentes doses do mutagênico Metilmetasulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste T..... 37
- Figura 8 — Estatura de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré- embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metimetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 38
- Figura 9 — Sobrevida de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré- embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metimetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Resumo da análise de variância (Quadrado médio) e desdobramento dos efeitos simples da interação pré-embebição*dose para fisális na geração M1 para as variáveis: Porcentagem de germinação das sementes (GER), índice de germinação (IVG), Estatura (EST), Número de folhas (NFL), diâmetro do colo da plântula (DIC), Comprimento radicular (COR), Anormalidade de plântulas (ANOR) e Sobrevivência de plântulas (SOB).....	28
Tabela 2 — Resumo da análise de variância (Quadrados médios) e desdobramento dos efeitos simples da interação pré-embebição*dose para physalis na geração M1 para as variáveis: Porcentagem de germinação das sementes (GER), Estatura (EST), Número de folhas (NFL), diâmetro do colo da plântula (DIC), Anormalidade de plântulas (ANOR) Comprimento radicular (COR).....	34
Tabela 3 — Resumo da análise de variância global (Quadrados médios) para as variáveis, acidez titulável total (ATT), índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brix ^o (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NDF), peso do fruto sem capulho (PDF), produtividade total estimada ao longo do ciclo (PROD), Lages-SC, 2019	46
Tabela 4 — Coeficiente de correlação simples de Pearson entre os caracteres acidez titulável total (ATT), Índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brix ^o (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NFR), produtividade por planta (PDF), produtividade total estimada ao longo do ciclo (PROD).....	47
Tabela 5 — Efeito fenotípico direto e indireto das variáveis independentes explicativas pH, titulável total (ATT), Índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brix ^o (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NFR), peso do fruto (PDF), sobre a variável dependente principal (PROD) Lages-SC, 2019	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	11
2. HIPÓTESES	14
3. OBJETIVO GERAL	14
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4.1 IMPORTÂNCIA E CULTIVO	15
4.2 ASPECTOS BOTÂNICOS E FENOLÓGICOS	15
4.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DE FISÁLIS	16
4.4 CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA	17
4.5 INDUÇÕES DE MUTAÇÃO	19
5 CAPÍTULO I: EFEITOS DOS MUTAGÊNICOS ETILMETANOSULFONATO E METILMETANOSULFONATO NA GERAÇÃO M1 DE FISÁLIS.....	22
5.1 INTRODUÇÃO.....	24
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6 CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDA E CORRELAÇÕES FENOTIPICAS ENTRE CARACTERES EM POPULAÇÕES MUTANTES DE FISÁLIS.....	41
6.1 INTRODUÇÃO.....	43
6.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
6.4 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO GERAL

A fisális (*Physalis peruviana* L.) é uma espécie que pertence à família das solanáceas, sua origem é andina. Esta frutífera possui um grande potencial econômico, devido aos seus frutos de notável sabor e aroma. Além disso, apresenta características nutricionais e medicinais importantes, como o conteúdo de vitaminas (A, B e C), ferro, fósforo, compostos bioativos funcionais e substâncias farmacológicas que são benéficas para a saúde humana, por apresentar propriedades anti-oxidantes e anti-cancerígena (FISCHER et al., 2014; DUARTE et al., 2013; PUENTE et al., 2011).

Na Colômbia essa frutífera é conhecida popularmente como “uchuva”, o país é o maior consumidor e exportador de fisális do mundo. A espécie também é de fácil cultivo e se adapta muito bem há várias regiões de clima tropical ou subtropical (FISCHER et al., 2014). No Brasil a introdução da cultura ocorreu em 1999 e a partir de 2008 foi intensificada a exploração em escala comercial. Existem cultivos em Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Porém, a produtividade dessa cultura no país é baixa, estando em torno de 2 a 4 t ha⁻¹ (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018; EPAGRI, 2017; CASTRO, 2008).

Os frutos também são pequenos e não atendem as demandas do mercado, podendo as perdas em pós-colheita chegar a 50% da produção. Devido a essas questões, o país necessita importar o fruto, o qual aumenta os custos de comercialização e desta forma, chega ao consumidor com um preço muito elevado (AGRONET, 2017). Por exemplo, em mercados da região sul, o preço varia entre 50,00 a 80,00 R\$ o kg do fruto (EPAGRI, 2017).

As dificuldades para a expansão e o aumento da produção estão relacionadas principalmente à falta de cultivares melhoradas e registradas no Brasil (MAPA, 2019; FISCHER et al., 2014). Desta forma, a seleção de genótipos com características superiores é de fundamental importância. Porém, estudos iniciais de dissimilaridade genética em populações de *Physalis peruviana* presente na região sul e centro-oeste, vêm demonstrando que possa haver uma base genética restrita para populações cultivadas para as características de interesse agronômico (TREVISANI et al., 2016; MELO et al., 2016).

A falta de diversidade genética nas populações de *physalis* cultivadas no Brasil pode estar relacionada à introdução de genótipos endogâmicos ou aparentados, oriundos de um processo anterior de domesticação e seleção realizada empiricamente pelos agricultores, consequentemente com alta similaridade genética (WILF et al., 2017; TREVISANI et al., 2018).

A variabilidade genética é imprescindível para que seja efetiva a seleção e a obtenção de novas cultivares de fisális (BORÉM et al., 2013; ALLARD et al., 1999). Por isso, o melhorista na impossibilidade de gerar variação através da obtenção de novas constituições genética deve cria-las e o único mecanismo existente é através da mutação. As mutações são consideradas como mudanças permanentes no DNA que podem modificar a sequência de um gene ou suas sequências regulatórias, que não é de origem da recombinação gênica ou de fatores mendelianos (WATSON et al. 2004). No entanto, as mutações naturais ocorrem em baixa frequência (10^{-6} por geração), muitas vezes são neutras ou deletérias as plantas (BORÉM et al., 2013).

A utilização da indução de mutação artificial para acelerar os processos mutacionais é de fundamental importância (VEASEY, 2011; GRIFFITHS, 2009). A indução de mutação é responsável pelo melhoramento genético e a seleção de aproximadamente 3222 cultivares (FAO/IAEA, 2019). Nas espécies frutíferas, foram observadas melhorias em pêra, maçã e banana cultivada no Brasil, o qual foi possível com a utilização de mutagênicos físicos, diminuir o porte e consequentemente evitar o acamamento e aumentar a produção (LATADO, 2001; PREDIERI, 2001).

Para as espécies de fisális apesar de não haver nenhuma cultivar registrada oriunda do processo de mutagênese, foram realizadas induções de mutação em *P. ixocarpa, pubens* e *P. peruviana* através de mutagênicos físicos e químicos (FAO/IAEA, 2019; GUPTA et al., 2018; MAHNA; SINGH, 1982). Desta forma, os resultados demonstraram danos fisiológicos, como redução de vigor e efeito sobre o desenvolvimento de plântulas. Para as características de interesse agronômico Trevisani et al. (2018), obtiveram aumento nos teores de brix e incremento nas dimensões dos frutos avaliados provenientes da indução de mutação física.

Os mutagênicos mais utilizados para aumentar a frequência de mutações são os agentes químicos e físicos. As substâncias químicas que se destacam para gerar mutação são o etilmelanosulfonato (EMS) e o metilmelanosulfonato (MMS) (LEITÃO, 2012; BORÉM et al, 2013). Eles são denominados de agentes alquilantes, porque adicionam grupos alquil (ex.: grupo etil, ou grupo metila) nas bases nitrogenadas de DNA, alterando a capacidade de pareamento, ou mesmo, bloqueando a ação da DNA polimerase, podendo resultar em mutações (ALLARD et al., 1999). A grande vantagem da utilização de substâncias químicas é a capacidade de alterar poucos pares de bases nitrogenadas, sem alterar o restante do fenótipo da planta, resultando em alterações pontuais nos caracteres que o melhorista deseja alterar.

Já entre os agentes físicos, as radiações ionizantes (raios gama), são as mais empregadas em pesquisas com o objetivo de melhoramento genético (BORÉM et al., 2013; FAO/IAEA, 2019). O uso da radiação tendo como fonte o cobalto 60, apesar de seu custo elevado tem a vantagem de ser mais seguro por não apresentar toxicidade após a irradiação, ainda é mais eficiente porque possui maior capacidade de penetração no tecido celular, podendo causar quebras cromossômicas ou alterações pontuais no DNA. De acordo com Borém et al. (2013), todas as partes das plantas podem ser utilizadas, porém as sementes devido a sua facilidade de manuseio, são as mais indicadas.

Os efeitos dos agentes mutagênicos são influenciados por diversos fatores, dentre eles, podem-se citar as condições de armazenamento após a indução, o genótipo dos indivíduos, o modo de exposição do material, a presença de algumas substâncias químicas, a fase do ciclo celular, o grau de ploidia dos cromossomos, o conteúdo de DNA por genoma haploide, o nível de oxigênio e principalmente a dosagem, tempo de exposição e o conteúdo hídrico das sementes (GAUL et al., 1970). Portanto, é necessária a realização de testes de sensibilidade para determinar a dose ideal.

Após a indução de mutação são avaliados os danos fisiológicos em M1 e nas próximas gerações é realizado o *screening*, ou seja, caracterização da variação genética gerada, e por fim são efetuadas as hibridações ou retrocruzamentos e então é possível fazer a seleção para a obtenção de novas populações, uma vez que o melhoramento de uma espécie apenas através da mutação é muito raro (BORÉM et al., 2013).

Para auxiliar o processo de seleção e obtenção de novas cultivares, o melhorista pode utilizar técnicas como as correlações. Dentre as metodologias disponíveis, esta o estudo da correlação de Pearson, e a análise de trilha ou "path analysis", por permitirem avaliar o grau e o sentido das associações entre as variáveis, possibilitando desta forma a seleção indireta para caracteres de difícil mensuração, levando a progressos mais rápidos para o caráter desejado (CRUZ et al., 2012).

Desta forma, podem ser melhoradas as características como: tamanho do fruto, qualidade sensorial e resistência a doenças. Além disso, deve ser selecionado cultivares de fisális que apresentem tolerância a um distúrbio fisiológico conhecido como "rachamento dos frutos", resultando em um produto mais aceitável ao consumidor e consequentemente com maior retorno econômico ao produtor, devido ao seu alto valor agregado.

2. HIPÓTESES

- a) Sementes de *Physalis peruviana* pré-embebidas em água antes da ação dos agentes mutagênicos são mais sensíveis e apresentaram maiores danos fisiológicos que as sementes com baixo teor de umidade.
- b) Os agentes mutagênicos causam danos fisiológicos e criam variabilidade genética para os caracteres de interesse agronômico, em populações de *Physalis peruviana* atualmente cultivadas na região sul, permitindo a seleção de genótipos promissores.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a sensibilidade de *Physalis peruviana* L. aos agentes mutagênicos químicos e físicos.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) Avaliar os efeitos da pré-embebição das sementes de *Physalis peruviana* em água na eficiência de indução de mutação utilizando agentes químicos alquilantes.
- ii) Determinar a melhor relação entre dose e resposta, que cause as menores taxas de mortalidade e os maiores danos fisiológicos na geração M1, para utilização no melhoramento genético de *Physalis peruviana*.
- iii) Caracterizar a variabilidade genética e identificar as correlações existentes entre variáveis de importância agronômica em populações mutantes de *Physalis peruviana*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 IMPORTÂNCIA E CULTIVO

A fisális (*Physalis peruviana* L.) é uma espécie de origem andina, sendo este seu centro de origem e diversidade (MEDINA, 1991; IPGRI, 2000). Seus frutos apresentam algumas características interessantes, como por exemplo, alto conteúdo de vitaminas A, C, ferro, fósforo e compostos bioativos funcionais. Além disso, a planta possui substâncias farmacológicas importantes, como antioxidantes e anticancerígenas (MUNIZ et al., 2014; PUENTE et al., 2011; ANDRADE; CASTRO, 2008). De acordo com Fischer et al. (2014), os frutos podem ser consumidos *in natura*, em sucos, sorvetes, licores ou utilizado na indústria de confeitoria, na forma de doces, geleias, e como decorativos em bolos e sobremesas.

A espécie é de fácil cultivo e rústica, podendo ser explorada economicamente em várias regiões de clima tropical ou subtropical. Atualmente, o seu cultivo se destaca em países como Peru, Equador e a Colômbia. Sendo que, os colombianos são os maiores produtores e consumidores de fisális, com produtividade média de 7 a 12 t ha⁻¹, totalizando 11,500 toneladas ao ano, gerando 32 milhões de dólares em lucro (AGRonet, 2017). O principal destinado das exportações são países europeus (AGRonet, 2017; MIRANDA, 2005).

No Brasil a introdução da cultura ocorreu em 1999 e a partir de 2008 foi intensificada a exploração em escala comercial. Atualmente existem cultivos em Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Porém, a produtividade no país é baixa, estando em torno de 2 a 4 t ha⁻¹ (ANDRADE; CASTRO; 2008; EPAGRI, 2017). Além disso, os frutos não atendem os padrões necessários para a comercialização, podendo as perdas em pós-colheita chegar a 50% do montante da produção (FISCHER, 2014; CODEX STAN, 2005).

Devido ao grande número de limitação, o país não é autossuficiente na produção, necessitando assim importar esse produto, o qual aumenta os custos de comercialização e desta forma, chega ao consumidor com um preço muito elevado. Por exemplo, em mercados da região sul, o preço varia entre 50,00 a 80,00 R\$ o kg do fruto (EPAGRI, 2017).

4.2 ASPECTOS BOTÂNICOS E FENOLÓGICOS

A família Solanaceae, possui muitos gêneros que apresentam espécies de importância econômica, dentre eles está o gênero *Physalis* que inclui cerca de 100 espécies, dos quais muitas são produtoras de frutos comestíveis (OLMSTEAD, 2013). As espécies mais

cultivadas que se destacam, são o tomatilho (*P. ixocarpa*) e a fisális (*P. peruviana*).

A fisális foi por muito tempo considerada uma planta daninha, hoje é cultivada em vários lugares do mundo por se adaptar a uma ampla variedade edafoclimática (FISCHER et al., 2014). Esta espécie é conhecida por muitos nomes populares, no Equador sob o nome de uvilla, tepareey makowi na Índia, Groselha do Peru em Portugal, Kapstachelbeere na Alemanha, e no Brasil de physalis ou fisális. Sua origem é andina, sendo que foi aclimatada e domesticada nas terras altas do Peru e do Chile (RODRÍGUEZ et al., 2006; MEDINA, 1991).

A planta é herbácea, podendo apresentar comportamento de uma espécie de dias curtos e outras de dias neutros. O ciclo da cultura pode ser bianual ou anual, dependo da região de cultivo (TREVISANI et al., 2016; FISCHER, 2014; DUARTE et al., 2013). O hábito de crescimento da espécie é indeterminado, porém seu tamanho comumente não ultrapassa 2 m de altura, muito ramificada, suas folhas são aveludadas, com a presença de tricomas, suas raízes são fibrosas, pivotantes, podendo chegar a 80 cm. A planta não tolera áreas encharcadas (FISCHER et al., 2014).

As flores de fisális são hermafroditas, de coloração alaranjada que facilmente podem ser polinizadas por insetos, ocorrendo frequentemente também à autopolinização, dependo das condições climáticas e dos insetos polinizadores (PUENTE et al., 2011). Desta forma, os estudos afirmam que a polinização é mista (LAGOS et al., 2008). A propagação vegetativa também é comum nesta espécie (FISCHER et al., 2005). O fruto é uma baga carnosa de coloração amarela, de 1,25 a 2,5 cm de diâmetro e peso de 4 a 10 g de formato esférico e com a presença de um grande número de sementes.

4.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DE FISÁLIS

Apesar de seu grande potencial econômico, a fisális cultivada segue sendo propagada por sementes, com constituição genética desconhecida, e a maior parte do melhoramento genético foi realizado empiricamente ao longo dos anos pelos próprios agricultores (LAGOS et al., 2008).

Atualmente com alto investimento do governo colombiano, este país tem o programa de melhoramento genético de fisális mais avançado do mundo (CHACÓN; SÁNCHEZ, 2016). No entanto, mesmo com biotecnologia e engenharia genética disponível, apenas a Corpoica Dourada, e a Corpoica Andina foram lançadas como cultivares, as quais foram selecionadas para as condições agroclimáticas da Antioquia, Boyacá, Nariño e Cundinamarca (SÁNCHEZ et al., 2018). A primeira é um híbrido obtido através da cultura de anteras e

posterior cruzamento entre os indivíduos contrastantes e a segunda não há na literatura informações a respeito de sua constituição genética.

De acordo com Sánchez et al. (2018), essas novas cultivares são mais produtivas, com frutos de maior diâmetro, peso superior, podendo incrementar a produção em até cerca de 30% para os frutos do tipo exportação. Além disso, também demonstraram redução do distúrbio fisiológico conhecido como “rachamento de frutos”.

No Brasil e em outros países os programas de melhoramento genético de fisális são escassos e não existem cultivares melhoradas registradas. De acordo com Trevisani et al. (2018), os estudos concentram-se em questões básicas, dentre as quais se relacionam ao conhecimento da variabilidade genética disponível e do modo de reprodução. No entanto, as pesquisas vêm demonstrando que possa haver restrita variabilidade entre as populações para os caracteres de interesse agronômico (TREVISANI et al., 2016).

De acordo com Allard (1999), o melhoramento genético depende intrinsecamente da variação genética existente, sendo a matéria prima para a seleção e o desenvolvimento de novas cultivares ou híbridos. A variabilidade genética pode ser obtida de diversas formas: a) introdução de novos alelos oriundos de outras regiões ou países. b) hibridações controladas entre genitores contrastantes, c) indução de mutação, que é o método mais utilizado para criar novos alelos.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA

De acordo com a literatura, existem poucos bancos de germoplasma de fisális (*Physalis peruviana*) no mundo e a maioria está localizada na Colômbia (DUARTE et al., 2013). A coleção mais expressiva é da Universidade Nacional da Colômbia em Palmira com a conservação de 222 acessos. Nos bancos ativos de germoplasma de CORPOICA (Corporação Colombiana de Pesquisa Agrícola) encontram-se 98 acessos (LIGARRETO et al., 2005). A Universidade de Nariño conta com uma coleção de 50 acessos (HEJEILE; IBARRA, 2001).

Para avaliar a variabilidade genética, os pesquisadores utilizaram marcadores moleculares associados aos caracteres morfológicos. Como por exemplo, tem-se os ensaios de Lagos et al. (2007), Simbaqueba et al. (2011); Cely et al. (2015); Chacón et al. (2016), Garzón-martínez et al. (2015); Osorio-Guarínet et al. (2016), utilizando marcadores moleculares baseados em microssatélites e García-arias et al. (2018), com os SNPs (single nucleotide polymorphism). Os autores avaliaram acessos de várias regiões presentes nos

bancos de germoplasma. Desta forma, foi encontrado um índice de heterozigose entre 0,30 a 0,67, indicando que existe variabilidade genética entre as populações.

Os estudos vêm demonstrando que há formação predominante de alguns grupos de *P. peruviana* que se separam em cultivados e silvestres, de acordo com o local de origem e pelo nível de ploidia. Por isso, também podem ser classificados em três ecótipos em função de sua dotação cromossômica: As selvagens apresentam $2n = 2x = 24$, o ecótipo Colômbia $2n = 3x = 32$ e o ecótipo do Quênia ou da África $2n = 4x = 48$, sendo que o número básico de cromossomos de $x = 12$ (LAGOS et al., 2008; TREVISANI et al., 2018).

Em contraste com as pesquisas que demonstram variabilidade, outros trabalhos também em relação às populações cultivadas e silvestres, na Colômbia, apresentaram baixa variabilidade genética. Chacón et al. (2016), avaliaram a estrutura genética de 85 acessos nativos e cultivados de fisális procedentes das cordilheiras central, ocidental e oriental dos andes encontrando similaridade genética entre os acessos. Resultados similares foram encontrados por Morillo-coronado et al. (2018), que através de marcadores microssatélites verificaram baixa heterozigose em genótipos cultivados e silvestres em Boyacá na Colômbia. As diferenças existentes entre os trabalhos se devem a dificuldade de avaliação da variação genética inerente à espécie, como limitação no levantamento fitossociológico, falta de parâmetros para a definição de área e a escolha das populações para compor os estudos.

Apesar de as pesquisas apontarem que possa existir variação na composição genética das populações de fisális, esses resultados são incipientes, necessitando ainda de informações conclusivas e completas a respeito do patrimônio genético disponível nos bancos de germoplasma e no centro de origem da espécie (CHACÓN et al., 2016). Além disso, a variabilidade existente pode não apresentar características de interesse agronômico desejável, uma vez que as populações que são cultivadas podem ter sido selecionadas ao longo do tempo pelos agricultores aliado ao processo de disseminação e multiplicação dos genótipos de um único *pool* gênico, resultando no estreitamento da base genética (GUPTA; ROY, 1981; WILF et al., 2017; TREVISANI et al., 2018).

A base genética restrita em fisális pode ocorrer também devido aos mecanismos evolutivos, como o sistema reprodutivo, de reparo celular do genoma que os genótipos poliploides possam apresentar (VEASEY et al., 2011). A poliploidização apesar de ser reconhecida como um processo evolutivo pode ocasionar redução da variabilidade genética, em decorrência ao número limitado de genótipos parentais, devido ao isolamento reprodutivo quando ocorre a duplicação do número de cromossomos nas espécies (PELÉ et al., 2018).

De acordo com análises realizadas por meio das técnicas de citometria de fluxo e de citogenética, os genótipos utilizados no programa de melhoramento da cultura do IMEGEM (CAV-UDESC) são tetraploides e apresenta 48 cromossomos (TREVISANI et al., 2018). Fischer et al. (2005), faz menção da obtenção das primeiras populações tetraploides oriundos de duplicações cromossômicas naturais ocorridas na África do Sul. A introdução dessas populações na Colômbia foi realizada pelos pesquisadores e disseminada pelos agricultores desde 1980.

Embora a espécie apresente reprodução mista, a autogamia pode ocorrer principalmente em indivíduos mais adaptados (MORILLO-CORONADO et al., 2018). A autogamia em fisális deve-se à grande quantidade de pólen produzido, reduzindo desta forma a possibilidade para ocorrer recombinação gênica, mutações e contribuindo para que ocorra um estreitamento da base genética (DE OLIVEIRA et al., 1998).

4.5 INDUÇÕES DE MUTAÇÃO

A mutação é o único mecanismo que gera novos alelos. As mutações são definidas, como qualquer alteração nos caracteres hereditários, ou seja, nas bases nitrogenadas purinas e pirimidinas que podem resultar em rearranjos nas sequências do DNA, podendo modificar a expressão fenotípica (ALLARD, 1971).

As mutações podem ser gênicas ou de ponto, cromossômicas e extras nucleares (mutações que ocorrem no material genético de mitocôndrias e plastídios no citoplasma). As mutações naturais podem ser resultantes de variações somaclonais, gametoclonais ou reprodutivas, de elementos de transposição ou da interação genótipo ambiente. No entanto, de acordo com Borém et al. (2013), as mutações naturais ocorrem em uma taxa muita baixa (10^{-6} por geração), seu efeito muitas vezes é deletério para as plantas e é difícil sua observação naturalmente. Por isso, torna-se necessário a utilização da mutação induzida para aumentar a frequência de alelos favoráveis.

Os agentes mutagênicos são responsáveis pelo melhoramento genético e a seleção de aproximadamente 3222 cultivares (FAO/IAEA, 2019). Nas espécies frutíferas, foram observadas melhorias em banana cultivada no Brasil, o qual foi possível com a utilização de mutagênicos físicos, diminuir o porte e consequentemente evitar o acamamento e aumentar a produção (LATADO, 2001; PREDIERI, 2001).

Para as espécies do gênero *Physalis*, apesar de não existir nenhuma cultivar registrada oriunda do processo de mutação, foi realizada a indução de mutação em *P. ixocarpa*, *P.*

pubens e *P. peruviana* para os mutagênicos físicos e químicos (GUPTA et al., 2018; MAHNA; SINGH, 1982). Desta forma, foram observados danos fisiológicos, como redução de vigor e efeito sobre o desenvolvimento de plântulas. Para caracteres de interesse agronômico Trevisani et al. (2018), encontraram incremento para algumas características.

Para a comprovação e avaliação da eficiência da indução para ambos os agentes, são observados inicialmente os danos fisiológicos nas gerações M1, e realizado um *screening* em M2 e M3 (BORÉM et al., 2013). Os principais efeitos que as plântulas apresentam são a redução linear na taxa de germinação, vigor e da sobrevivência, de acordo com o incremento da dose utilizada e do tempo de exposição à mutagênese.

Entre os principais métodos de indução de mutações, destacam-se os agentes químicos e físicos. Os agentes químicos mais utilizados para gerar mutação são o etilmelanosulfonato (EMS) e o metilmelanosulfonato (MMS). Eles são denominados de agentes alquilantes, porque adicionam grupos alquil (ex.: grupo etil, ou grupo metila) nas bases nitrogenadas de DNA, alterando a capacidade de pareamento, ou mesmo, bloqueando a ação da DNA polimerase, podendo resultar em mutações (BORÉM et al., 2013; ALLARD et al., 1971).

Em fisális foram poucos os trabalhos utilizando agentes químicos. Existem inferência sobre o uso dessas substâncias, que resultaram em criação de variabilidade genética no trabalho de Gupta et al. (2018), através de um ensaio com a imersão de sementes de fisális em diferentes concentrações de EMS. A taxa de mutação obtida foi de 1,09 a 4,55 % em mutação.

Os estudos com agentes físicos no melhoramento de fisális iniciaram em 1970. Dentre os agentes, as radiações ionizantes (raios gama), foram as mais utilizadas por vários melhorista nas pesquisas com o objetivo de criar variabilidade genética para a cultura (IAEA, 2019). A maioria dos estudos avaliaram a radiação, tendo como fonte o Cobalto (^{60}Co) aplicados em sementes, isso ocorre pela facilidade de manuseio e armazenamento das mesmas (GUPTA et al., 2018; ALLARD et al., 1971).

Apesar do grande número de pesquisas utilizando a indução de mutação em fisális, ainda há necessidade de dados sobre as populações segregantes resultantes a campo e de sua adaptabilidade e estabilidade fenotípica. O único ensaio com essa natureza encontrada na literatura foi o de Trevisani et al. (2018), sendo observado o incremento de 2,99 mm no diâmetro equatorial e de 4,90 mm no diâmetro para os frutos de populações, o acréscimo de 1,81 no °Brix de frutos que receberam 200 Gys de irradiação aplicadas em sementes e avaliados na geração M2.

Desta forma, apesar da taxa de mutação ser baixa para fisális mesmo com o uso de técnicas artificiais (10^{-3} por geração), justifica-se a sua utilização. Isso ocorre porque além dos

resultados promissores como o aumento no tamanho e melhorias na qualidade de frutos, através de mutação pode-se selecionar genótipos tolerantes a algumas doenças, como por exemplo, ao *Fusarium oxysporum* (ENCISO-RODRÍGUEZ et al., 2013).

No entanto, com altas concentrações e exposição ao mutagênico pode resultar na redução de viabilidade polínica, que pode prejudicar a fecundação ou causar aborto do zigoto. Essas limitações podem ser superadas com a adequação das doses e tempos de exposição aos agentes mutagênicos e a indução de um grande número de indivíduos (BORÉM, 2013).

5 CAPÍTULO I: EFEITOS DOS MUTAGÊNICOS ETILMETANOSULFONATO E METILMETANOSULFONATO NA GERAÇÃO M1 DE FISÁLIS

RESUMO

A principal dificuldade para o melhoramento genético de fisális (*Physalis peruviana* L.) está relacionada à base genética restrita para caracteres de importância econômica. Desta forma, a indução de mutação com agentes mutagênicos químicos pode ser uma importante ferramenta na impossibilidade da recombinação gênica para a geração de novos alelos para a espécie. Por isso, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da exposição de sementes de fisális a diferentes doses de etilmetonosulfonato (EMS) e metilmetonosulfonato (MMS) com ou sem pré-embebição em água. Para isso, sementes foram submetidas ao tratamento de pré-embebição (com e sem) e expostas a diferentes soluções dos agentes mutagênicos por 2 horas, utilizando-se as doses de 0; 0,75; 1,5; 3 e 6 % (v/v) do produto ativo. Avaliou-se a germinação de sementes (%), número de plântulas anormais, estatura (cm), comprimento de raiz (cm), diâmetro do colo da plântula (mm) e a sobrevivência das plântulas (%). Os resultados demonstraram que a pré-embebição das sementes em água potencializa os danos fisiológicos causados pelos mutagênicos alquilantes para a maioria das variáveis avaliadas, exceto para germinação para o EMS. Em relação às doses avaliadas, as variáveis: germinação, estatura e sobrevivência de plântulas apresentaram comportamento diferenciado à exposição aos mutagênicos quando comparado ao grupo controle, sendo recomendadas concentrações de 3% a 6% (DL₂₀₋₅₀ Dose letal entre 20 e 50%) para ambos. Assim, os agentes químicos utilizados afetaram consideravelmente as variáveis avaliadas, podendo contribuir para a criação de variantes genéticos em fisális.

Palavras-chave: Doses, Mutação, Melhoramento genético.

ABSTRACT

The main difficulty for the genetic improvement of physalis (*Physalis peruviana* L.) is related to the restricted genetic base for characters of economic importance. Thus, mutation induction with chemical mutagenic agents may be an important tool in the impossibility of gene recombination for the generation of new alleles for the species. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of exposure of physalis seeds to different doses of ethyl methanesulfonate (EMS) and methyl methanesulfonate (MMS) with or without pre-soaking in water. For this, seeds were subjected to pre-imbibition treatment (with and without) and exposed to different solutions of mutagenic agents for 2 hours, using concentrations of 0; 0,75; 1,5; 3 and 6% (v / v) of the active product. Seed germination (%), number of abnormal seedlings, height (cm), root length (cm), seedling neck diameter (mm) and seedling survival (%) were evaluated. The results showed that seed pre-soaking in water potentiates the physiological damage caused by alkylating mutagens for most of the evaluated variables, except for germination for EMS. Regarding the evaluated doses, the variables: germination, height and seedling survival showed different behavior to mutagenic exposure when compared to the control group, being recommended concentrations of 3% to 6% (DL₂₀₋₅₀: Lethal dose between 20 and 50%) for both. Thus, the chemical agents used considerably affected the evaluated variables and may contribute to the creation of genetic variants in fisális.

Keywords: Concentrations, Mutation, Genetic improvement.

5.1 INTRODUÇÃO

A fisális (*Physalis peruviana* L.) é uma espécie de origem andina, facilmente reconhecida pelo seu fruto, devido ao seu aspecto visual, sabor e excelentes propriedades nutricionais. Por isso, existe um grande interesse da sociedade pelo seu consumo, seja *in natura* ou para a confecção de doces, iogurtes e sobremesas (FISCHER, 2014).

No entanto, apesar de seu potencial econômico a produção e a produtividade (2 a 3 t.ha⁻¹) de fisális são baixas no Brasil (MUNIZ et al., 2015; EPAGRI, 2017). Desta forma, o país necessita importar o fruto, assim chega ao consumidor com um preço muito elevado, cerca de 50 reais o quilo (MUNIZ et al., 2015; TREVISANI, 2016).

O manejo inadequado e a falta de genótipos melhorados e adaptados às condições climáticas da região são fatores que dificultam o aumento de produção e autossuficiência de fisális do país (TREVISANI et al., 2018). Isso ocorre porque os programas de melhoramento da espécie no Brasil são incipientes e os estudos iniciais indicam que os genótipos cultivados nas principais regiões do país são de origem de um único *pool* gênico e consequentemente possa haver um estreitamento na base genética para os caracteres de interesse comercial (FISCHER et al., 2005; TREVISANI et al., 2016; TREVISANI et al., 2018).

De acordo com Allard (1971), o melhoramento genético depende intrinsecamente da variação genética existente e somente as mutações são responsáveis pela criação de variabilidade. Como a taxa de mutação espontânea é muito baixa, é necessário utilizar ferramentas ou meios para aumentar a sua frequência, favorecendo a geração de novos alelos (OLADOSU et al., 2016; KE et al., 2019).

Dentre os métodos para induzir a mutação, as substâncias químicas como o metilmetanosulfonato (MMS) e o etilmetanosulfonato (EMS) se destacam devido à facilidade de manipulação, baixo custo e sua alta eficiência, sendo responsável por 64% das variedades registradas desenvolvidas via mutagênese química (FAO/IAEA, 2019; HENRY et al., 2014; UAUY et al., 2009) De acordo com Borém et al. (2013), a principal vantagem da criação de mutações por substâncias químicas é a possibilidade de melhorar um ou mais caracteres de uma variedade sem alterar o seu *background* genético.

Por serem agentes alquilantes, o mecanismo de ação do MMS e EMS resulta na formação de radicais livres, que vão danificar o DNA, causando erros no pareamento, substituições nas bases nitrogenadas ou quebras de fita simples (SSB) (OLADOSU et al., 2016; BORÉM et al. 2013). Assim, esses mutagênicos podem provocar polimorfismos de nucleotídeo único em genomas e também em menor frequência aberrações cromossômicas ou

trocas de segmentos entre cromátides irmãs, podendo causar alterações fenotípicas permanentes (JIANG et al., 2010).

De acordo com Borém et al. (2013), cada espécie vegetal responde de forma diferenciada à indução de mutação e a capacidade para a obtenção de variantes é influenciada pela dose ou concentração da substância, tempo de exposição, idade da planta, nível de ploidia, conteúdo de DNA, ciclo celular, tipo de tecido vegetal a ser exposto a indução e principalmente ao seu teor de umidade.

No entanto, apesar de comprovado seu efeito fisiológico benéfico da pré-embebição de sementes em água para varias culturas, ainda existem controvérsias, como a inconsistência dos relatos sobre a comprovação para aumentar a frequência de mutações causadas por agentes alquilantes, as quais apontam para a necessidade de novas investigações para espécies como a fisális.

Além disso, é importante determinar a melhor dose-resposta que cause a menor mortalidade e efeitos deletérios para as plantas, com alto índice de mutações. Para isso, são utilizados indiretamente dados a respeito dos danos fisiológicos durante o crescimento e desenvolvimento de plântulas, como a redução da germinação, na estatura das plantas, nas raízes, nas folhas e a sobrevivência (BORÉM et al. 2013).

Em espécies frutíferas existem trabalhos com mutagênese induzida em banana, maçã, pera e pepino que resultaram em variedades com maior produtividade, resistentes a praga e doenças e com melhor qualidade de frutos (XUE et al., 2016; TULMANN NETO, 2011). No gênero *Physalis*, existe inferência sobre o uso de mutação em *P. pubescens*, *P. floridana*, *P. ixocarpa* e *P. peruviana*. No entanto, não há relatos de novas cultivares registradas com a utilização desse método (FAO/IAEA, 2019).

Diante deste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação ou da sensibilidade de diferentes concentrações de etilmetasulfonato (EMS) metilmetasulfonato (MMS), aplicados em sementes de fisális, visando à criação de variabilidade genética.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos na Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), localizada em Lages-SC ($27^{\circ} 48' S$, $50^{\circ} 19' W$), com altitude média de 930 m, no ano de 2018/2019. O clima da região é classificado como Cfb (clima temperado com verão ameno) e temperatura média anual de $15^{\circ} C$, com precipitação média de 1.500 mm.

As sementes obtidas de frutos em maturação fisiológica, oriundos de uma população cultivada em Lages-SC, foram submetidas à assepsia com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 1 minuto. Seguidamente foram colocadas para secar a sombra, até entrar em equilíbrio higroscópico com o ambiente em 12% de umidade e acondicionadas em saco de tule para compor os tratamentos.

A pré-embebição das sementes em água destilada para ambos os experimentos, foi determinado em um ensaio preliminar. Para isso as amostras de 100 sementes em três repetições foram submetidas ao pré-embebimento durante 24 horas, pesando-se as sementes, de hora em hora, até seu peso se estabilizar, com o intuito de padronizar o conteúdo de água nas mesmas, após ter sido atingido o ponto de saturação. Os resultados demonstraram que em 12 horas as sementes atingem o ponto máximo de saturação. Desta forma, foram ajustadas 10 horas de pré-embebimento e mais 2 horas de exposição aos mutagênicos.

O primeiro experimento foi realizado com etilmetasulfonato (EMS), sendo constituído pela combinação de sementes com e sem pré-embebição em água destilada, e expostas por 2 horas a diferentes concentrações do agente mutagênico: 0; 1,5; 3 e 6 % (v/v) do produto ativo. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2×5 , com quatro repetições e 30 sementes por unidade amostral.

Para o segundo ensaio, as sementes foram submetidas aos tratamentos de pré-embebição (com e sem) em água destilada e expostas a uma solução do agente mutagênico metilmetasulfonato (MMS) por 2 horas, utilizando-se as concentrações de 0; 0,75; 1,5; 3 e 6 % (v/v) do produto ativo. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2×4 , com quatro repetições e 30 sementes por tratamento.

Logo após a exposição aos mutagênicos, as sementes foram lavadas em água corrente e em baixo fluxo por duas horas. Em seguida, semeadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial Carolina Soil[®] e acondicionadas em casa de vegetação. Foram avaliadas na geração M1 aos 60 dias de cultivo as seguintes variáveis: índice de germinação (IVG) (através da contagem a cada 2 dias a partir do início da germinação), porcentagem de germinação (GER em %), número de plântulas anormais (ANOR) (plântulas com cotilédones

fundidos e sem meristema apical, tri-cotiledonar, com dois cotilédones fundidos e um normal, folhas albinas e plântulas com quimerismo unilateral), estatura plântula (EST em cm), número de folhas (NFL), comprimento radicular (COR em cm) e o diâmetro na altura do colo da plântula (DIC em mm) e a sobrevivência (SOB em %). Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam protrusão da radícula.

A normalidade dos erros foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene antes do início dos trabalhos e quando observado a violação desses pressupostos foi realizada a transformação de $\sqrt{2+X}$. Os dados foram submetidos à análise de variância, através do modelo estatístico: $Y_{ij} = m + embj + dosek + embj*dosejk + eijk$, em que: Y_{ij} é o valor da característica para a i ésima no j ; m é o efeito da média geral do experimento; $embj$ é o efeito do i ésimo nível de embebição; $dosek$ = efeito da i ésimadose; $eijk$ é o erro.

Para as variáveis que apresentaram interação entre os fatores, foram avaliados os efeitos simples pelo desdobramento. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de t ao nível de 5 % de probabilidade e para os dados quantitativos foram realizados a análise de regressão e o melhor ajuste verificado por meio de contrastes polinomiais. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software estatístico SAS, versão acadêmica (SAS University), utilizando modelos lineares gerais (procedimento GLM).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3. 1 Danos fisiológicos para o etilmelanossulfonato (EMS)

De acordo com a análise de variância, houve interação para o fator pré-embebição e dose para a variável estatura de plântulas, diâmetro do colo da plântula, índice de velocidade de germinação e sobrevivência (Tabela 1). Desta forma, foi realizado o desdobramento dos efeitos simples, assim os resultados demonstraram diferenças para a pré-embebição nas sementes com elevado teor de umidade para ambas as variáveis avaliadas, exceto para a germinação de sementes.

Tabela 1 — Resumo da análise de variância (Quadrado médio) e desdobramento dos efeitos simples da interação pré-embebição*dose para fisális na geração M1 para as variáveis: Porcentagem de germinação das sementes (GER), índice de germinação (IVG), Estatura (EST), Número de folhas (NFL), diâmetro do colo da plântula (DIC), Comprimento radicular (COR), Anormalidade de plântulas (ANOR) e Sobrevivência de plântulas (SOB).

FV	GL	GER (%)	IVG (Dias)	EST (cm)	NFL (un)	DIC (mm)	COR (cm)	ANOR (%)	SOB (%)
Pré-bem	1	22,65	4,12	14,42*	0,49	0,22	0,03	2,02*	75,62
Dos	4	183,21	10,50*	25,48*	6,96*	0,65*	9,52*	3,71*	421,56
Dos*Bem	4	69,99	1,59	10,35*	1,17	0,62*	0,83	1,70*	516,47*
Dos (pré-emb 1)	4	156,72	3,16*	5,07	2,33*	0,19	4,85*	1,89	128,56
Dos (pré-emb 2)	4	96,47	8,94*	30,43*	5,65*	1,08*	5,58*	3,59*	809,47*
Erro	16	2219,58	1,39	21,37	0,93	0,10	2,43	0,46	92,99
CV (%)		11,85	18,49	47,1	27,59	20,09	22,05	26,66	32,99
Média geral		72,58	6,38	3,1	3,5	1,62	7,08	5,45	78,30

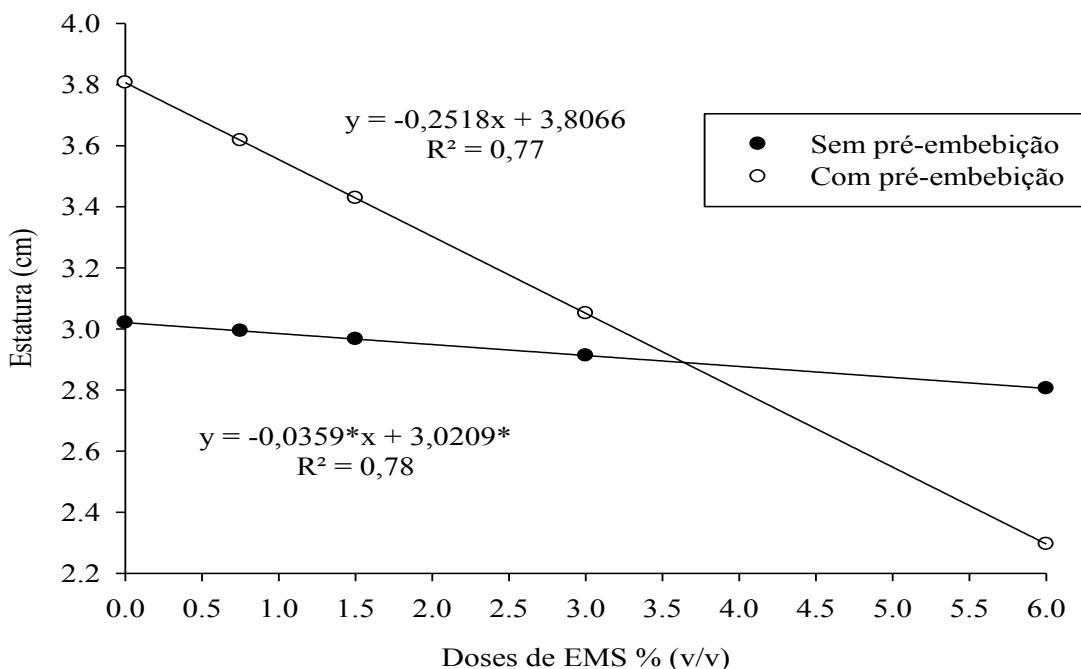
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

FV= fontes de variação; GL: graus de liberdade; Pré-emb: efeito da pré-embebição; Dos: efeito da dose; Dos (pré-emb 1): Efeito simples do desdobramento para os tratamentos sem as sementes pré-embebidas em água; Dos (pré-emb 2): Efeito simples do desdobramento para os tratamentos com o pré-embebiamento das sementes em água; *: significativo segundo o teste F ($p \leq 0,05$); CV: coeficiente de variação; un: unidade.

Os coeficientes de variação oscilaram de 11,85 a 32,99 %, demonstrando boa precisão do ensaio realizado. De acordo com os resultados, o aumento da dose resposta para as sementes pré-embebidas ocorre porque a água ativa o seu metabolismo fisiológicos e de divisão celular, remobiliza reservas, potencializa o processo de difusão e atua também como um agente oxidante (GUIMARÃES et al., 2013; MARCOS FILHO, 2005). Desta forma, ocorre incremento na frequência de formação de radicais livres que vão causar danos ao DNA, devido ao aumento da vulnerabilidade das sementes (BORÉM et al., 2013). Resultados similares foram encontrados nos trabalhos de Gupta et al. (2018), em fisális (*Physalis peruviana*); Arisha et al. (2015), para pimenta (*Piper nigrum*) ; Wang et al. (2014), em pimentão (*Capsicum annuum*), com o tempo de embebição e algumas concentrações em comum.

A germinação de sementes não demonstrou resultados significativos para a pré-embebição e nem para as doses. Para o caráter estatura de plântulas o melhor ajuste para ambas as regressões ocorreu para o modelo linear (quadrado médio: 2,28 e 94,75 respectivamente), com o coeficiente de determinação de 0,77 para a regressão com as sementes pré-embebidas em água e 0,78 para o fator sem pré-embebição (Figura 1).

Figura 1 — Estatura de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etilmetanosulfonato.



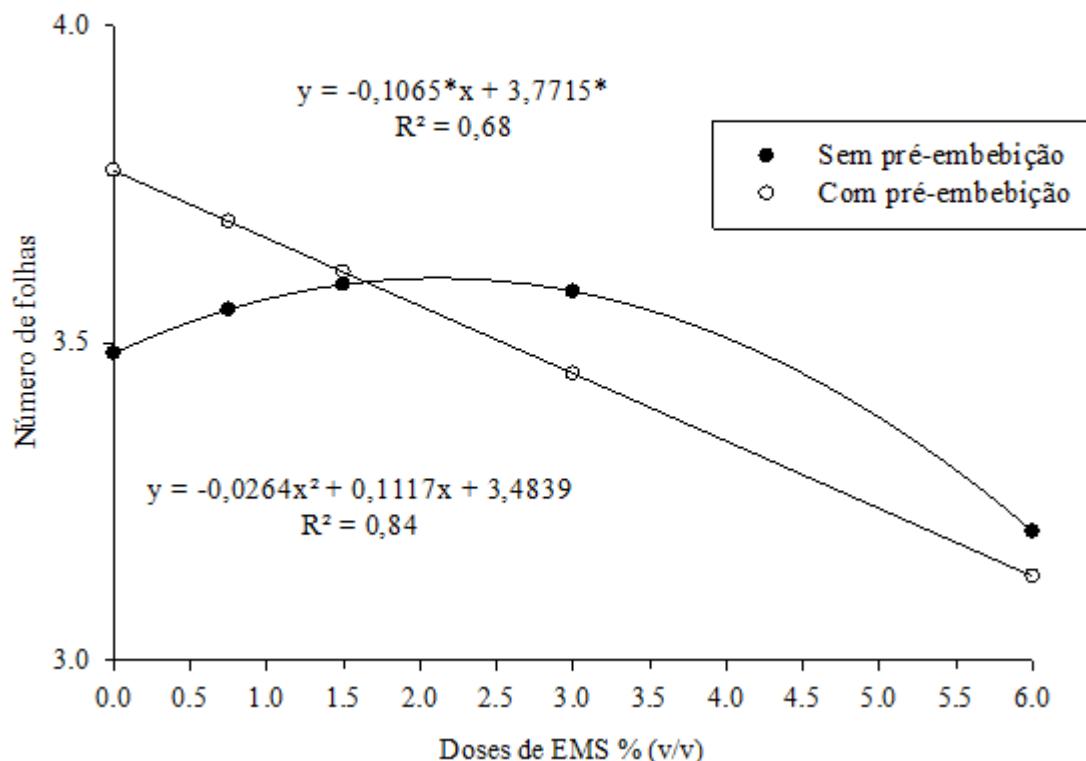
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Contudo, apenas para as sementes pré-embebidas foi observado efeito significativo para as doses ($t=0,01$), com redução em média de -0,24 cm da estatura a cada 1% de acréscimo na concentração do mutagênico avaliado. A estatura de plântulas também foi o caráter morfológico que apresentou maior sensibilidade ao etilmelanosulfonato (quadrados médios de 14,42 para a pré-embebição e 25,48 para as doses).

No entanto, a redução de estatura em média foi de apenas 40,2 % em relação ao tratamento padrão (testemunha), assim não foi possível estabelecer a GR_{50} (redução de crescimento em 50%), que associada a DL_{50} (dose letal mediana) são parâmetros utilizados para avaliar os danos fisiológicos causados pela indução de mutação (BORÉM et al., 2013; PRATAP; KUMAR, 2011; DE BARROS; ARTHUR, 2005). Através desses caracteres é possível estabelecer uma dose ótima para o mutagênico utilizado, que maximize a geração de novos alelos, sem causar efeitos deletérios às plantas. Conforme os resultados demostrados, para a determinação da dose GR_{50} seria necessário o aumento da dosagem ou do tempo de exposição ao produto químico.

Para o número de folhas ocorreu o melhor ajuste para uma regressão linear (quadrado médio: 0,59, sendo cerca de 10 vezes superiores aos demais) para ambos os fatores (sementes pré-embebidas e não embebidas em água destilada).

Figura 2 – Número de folhas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etilmetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.

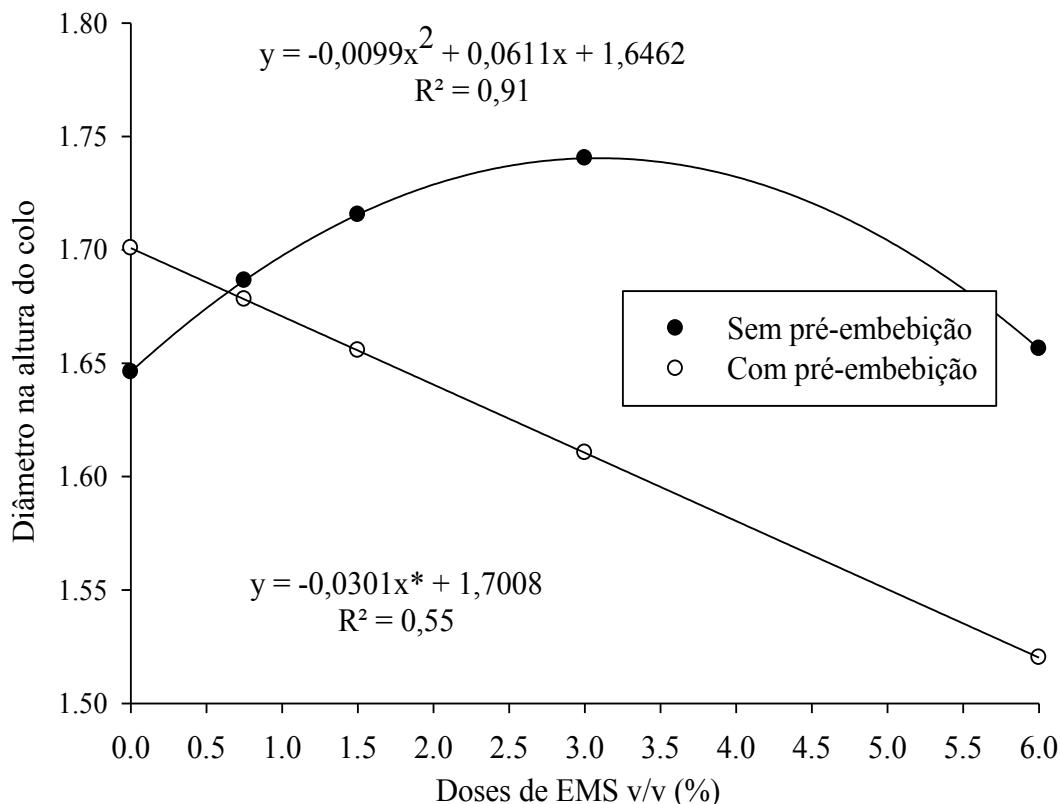


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

O caráter diâmetro na altura do colo da plântula se adequou a uma função quadrática (quadrado médio: 0,42; R^2 : 0,91) para as sementes sem pré-embebição. De acordo com a análise, também não apresentou resposta para a indução de mutação, mesmo assim, as concentrações testadas reduziram os valores absolutos em 5%.

Apesar de apresentar o maior coeficiente de determinação (R^2 : 0,94) para a função quadrática, a curva de dose-resposta das sementes pré-embebidas possuem baixa magnitude para explicar a variação do modelo (quadrado médio: 0,28). Desta forma, foi observado que o modelo linear (quadrado médio: 3,87), capturou maior fonte de variação, outra justificativa para utilizar esse modelo é que o parâmetro b foi significativo ($t: 0,05$).

Figura 3 – Diâmetro na altura colo da plântula em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de etimetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.

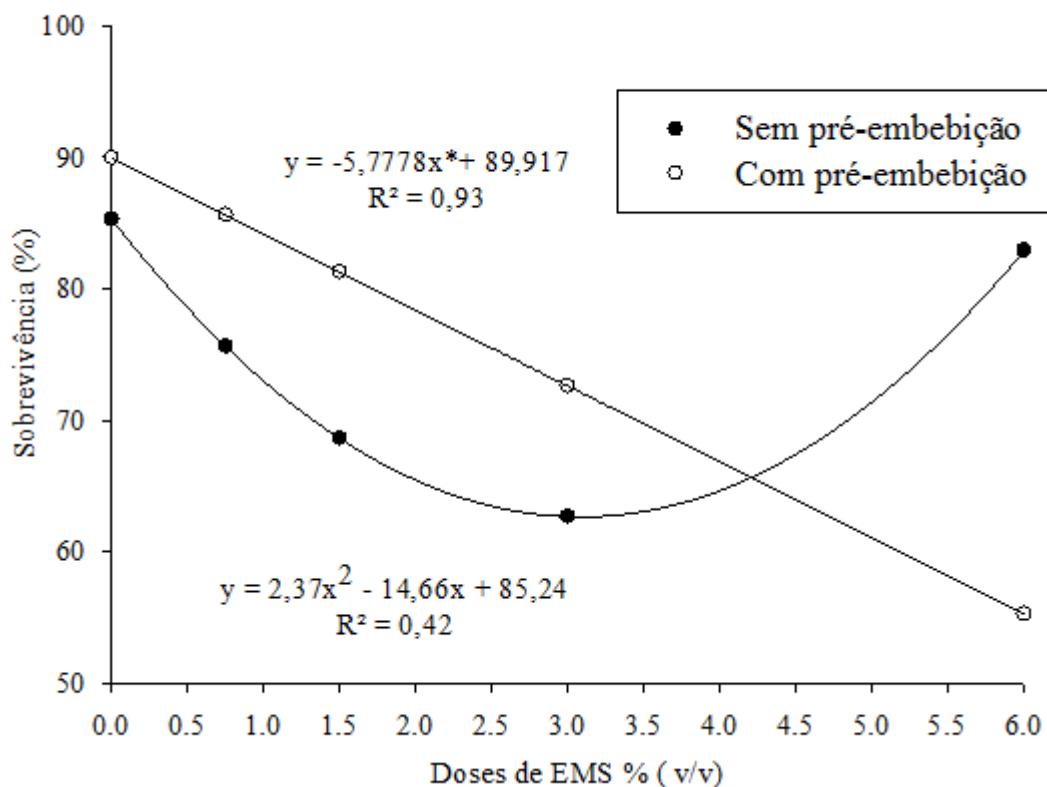


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Diferentemente do esperado, no qual ocorre redução dos valores com o aumento da concentração, o diâmetro na altura do colo das plântulas demonstrou incremento com a aplicação de doses em baixas concentrações do mutagênico para as sementes não pré-embebidas em água. De acordo com Wi et al. (2007), isso pode ocorrer devido a mudanças na sinalização hormonal nas ou pelo aumento da capacidade antioxidante das células, fazendo com que estas adquiram uma maior capacidade em superar fatores de estresse ambiental e consequentemente podendo apresentar valores positivos para determinadas variáveis.

Para a sobrevivência foi observado redução linear ($R^2: 0,92$) com o aumento da dose, somente para as sementes com a pré-embebição (Figura 4). De acordo com análise de regressão, a DL_{50} (Dose letal mediana) ocorreu com 6% do EMS para as sementes pré-embebidas em água.

Figura 4 — Sobrevida de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Etimetanosulfonato (EMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os resultados encontrados na literatura para a dose-resposta do mutagênico EMS para outras espécies da família das solanáceas como o tomate, pimenta pimentão, *physalis spp*, demonstraram que a redução de 50% da sobrevida ocorre com a concentração de 1% da solução (PINO-NUNES et al., 2008; NAHIYAN et al., 2014). Porém, o tempo utilizado de exposição das sementes ao mutagênico foi superior (em torno de 6 horas).

Segundo Rodrigues; Ando. (2002), a diferença de sensibilidade à indução química encontrada para as diferentes espécies pode ser explicada pela estrutura da semente, principalmente relacionada à função protetora que o tegumento exerce sobre o embrião que apresenta variação de acordo com a espécie. Podem também ocorrer diferenças devido ao tipo de armazenamento e ao teor de água presente nas sementes, que como relatado anteriormente, se constitui em um dos fatores que influenciam na tolerância a indução química.

Além disso, apesar da DL_{50} ser o parâmetro mais utilizado para avaliar a dosagem e a frequência de mutações, alguns trabalhos realizados anteriormente demonstram que a DL_{50}

pode não ser eficiente na criação de variabilidade genética para algumas espécies principalmente autógamas ou mistas, porque gera um grande número de mutações deletérias para as plantas avaliadas (PRATAP; KUMAR, 2011; OLADOSU et al., 2016).

De acordo com Boualem et al. (2014), em algumas espécies, mutações desejáveis podem ser perdidas ou negligenciadas, por causa da alta porcentagem de mortalidade das plantas ou ao desempenho agronômico ruim nas gerações após a mutagênese (MAHNA; SINGH., 1982). Portanto, uma taxa de mutação que visa uma Dose letal inferior (por exemplo, DL_{20}), com uma taxa de sobrevivência de 80% parece ser mais adequada para a criação de mutantes (LEITÃO, 2012).

Observou-se baixa frequência de 5% para o caráter número de plântulas anormais. Em outros trabalhos com essa natureza em *Physalis peruviana*, como por exemplo, de Gupta et al. (2018), obtiveram baixa taxa de macromutações (2,65%), utilizando sementes como fonte de propágulos para a indução de mutação. Por isso, devem-se avaliar também outras estruturas para a indução de mutação, assim como a exemplo das gemas caulinares, porque são compostas de tecidos meristemáticos e com teor de água geralmente maior que as sementes (OLADOSU et al., 2016; FLORES; BRUCKNER, 2015).

Para os caracteres que não apresentaram resposta, como a germinação de sementes, possivelmente pode ter ocorrido à recuperação dos danos fisiológicos ou de lesões no DNA com o avanço dos estádios fenológicos (HUNG; JOHNSON, 2008). Esses resultados podem estar relacionados à plasticidade fenotípica, que se deve a grande quantidade de genes que regulam esse processo e ao nível de ploidia da espécie. De acordo com Trevisani et al. (2018), os genótipos avaliados no presente estudo são tetraploides. A espécie, assim como os demais poliploides são mais rústicos e possuem maior tolerância as condições adversas e desta forma dificultam o processo de indução de mutação, podendo apresentar um efeito de tamponamento dos genes mutados (BORÉM et al., 2013; RANGASAMY; RAMULU, 1970).

Outra hipótese é que as células de fisális possuem um sistema de defesa e reparo celular eficiente aos danos celulares ou no DNA. Esse sistema é formado por complexos enzimático, conhecidos como antioxidantes. O agente mais comum é o superóxido dismutase, que catalisa a desintoxicação de O_2^- a H_2O_2 e O_2 , evitando assim a formação do radical OH^- , que possivelmente poderia causar danos ao DNA (GRATÃO et al., 2005).

5.3.2 Danos fisiológicos para o metilmetanosulfonato (MMS)

Através da análise de variância foram observadas diferenças significativas para as variáveis: germinação de sementes, estatura de planta, número de folhas, comprimento radicular e sobrevivência para o fator pré-embebição e para as doses os resultados demonstraram diferenças significativas para todas as variáveis avaliadas

Tabela 2 — Resumo da análise de variância (Quadrados médios) e desdobramento dos efeitos simples da interação pré-embebição*dose para physalis na geração M1 para as variáveis: Porcentagem de germinação das sementes (GER), Estatura (EST), Número de folhas (NFL), diâmetro do colo da plântula (DIC), Anormalidade de plântulas (ANOR) Comprimento radicular (COR).

FV	GL	GER (%)	EST (cm)	NFL	COR (cm)	ANOR (%)	SOB (%)
Pré-emb	1	2722,50	2,68*	2,87*	53,37*	0,56*	2107,50*
Dos	4	3641,56*	4,43*	3,24*	63,48*	0,21*	6121,06*
Dos*Pré-emb	4	2727,18*	3,08*	1,20	14,20	0,07	312,30
Dos (pré-bem 1)	4	92,50*	0,47	1,40*	58,15*	0,06	4441,51*
Dos (pré-emb 2)	4	6276,25*	6,40*	3,20*	23,23*	0,25*	1991,84*
Erro	16	31,66	0,51	1,10	7,87	0,06	212,82
CV (%)		6,63	29,04	27,91	63,19	14,57	25,11
Media geral		84,75	2,46	3,77	4,44	4,54	58,09

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; Pré-emb: efeito da pré-embebição; Dos: efeito da dose; Dos (pré-emb 1): Efeito simples do desdobramento para os tratamentos com as sementes pré-embebidas em água; Dos (pré-emb 2): Efeito simples do desdobramento para os tratamentos sem o pré-embebimento das sementes em água; *: significativo segundo o teste F ($p \leq 0,05$); CV: coeficiente de variação.

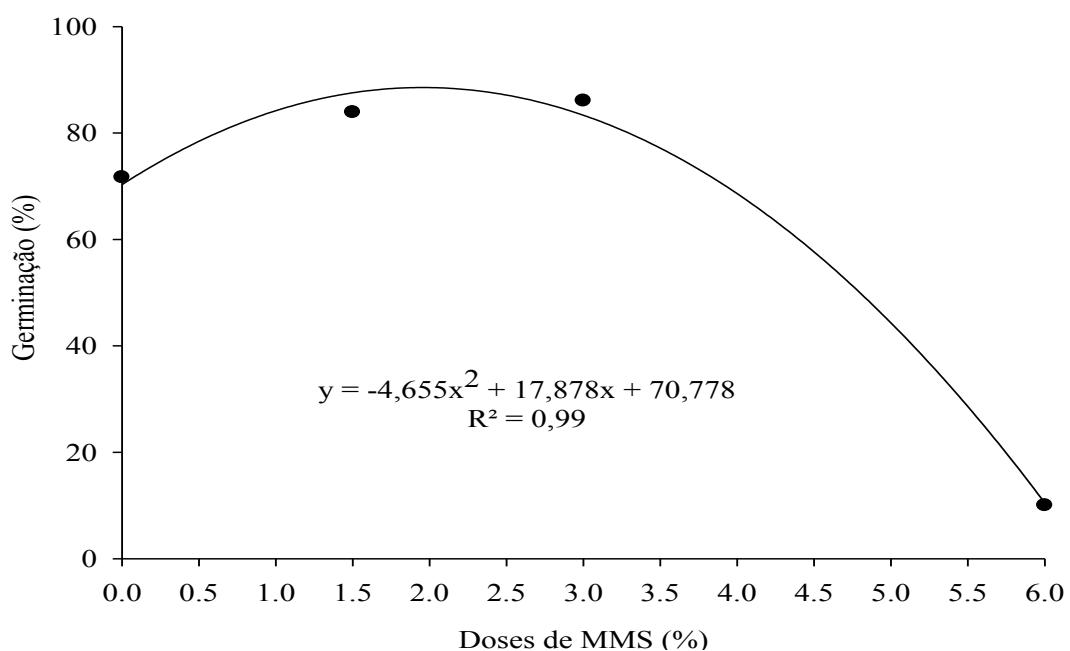
Os coeficientes de variação oscilaram de 6,64 a 63,19% (Tabela 2). No entanto, apesar dos altos valores obtidos, a precisão dos resultados está dentro do esperado. De acordo com Gaul. (1997), isto ocorre porque a metodologia para a determinação dos efeitos fisiológicos dos agentes mutagênicos no tratamento de sementes é uma técnica que pode inferir diretamente na normalidade dos dados e nos caracteres germinação de sementes e sobrevivência de plantas, resultando no coeficiente de variação alto, uma vez que esse processo não é encontrado naturalmente em alta frequência.

Pesquisas realizadas em arroz (*Oryza sativa* L.) milho (*Zea mays*) e lentilha (*Lens culinaris* Medik) corroboram com os resultados obtidos no presente trabalho. No qual os autores também encontraram maiores danos fisiológicos nas plântulas quando as sementes

expostas ao mutagênico apresentaram maiores teores de água (KHURSHEED; KHAN, 2014; VICCINI et al., 1999). Esses resultados indicam que sementes pré-embebidas podem revelar maiores chances de obtenção de resultados satisfatórios, no que diz respeito ao incremento da variabilidade genética, para as necessidades do melhorista de fisális.

Para a germinação, houve comportamento diferenciado para ambos os fatores, sendo que a maior concentração utilizada reduziu a germinação de sementes em 90,6%, em relação à dose padrão (testemunha), para as sementes submetidas ao tratamento de pré-embebimento (Figura 5).

Figura 5 – Porcentagem de germinação de sementes em função da exposição de sementes de physalis em diferentes doses do mutagênico de Metilmetanosulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste T.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Desta forma, como não foi observada interação entre pré-embebição e dose foi realizada apenas uma equação, no qual o modelo que apresentou o melhor ajuste e teve o maior coeficiente de determinação ($R^2: 0,90$) foi ao quadrático (Figura 5). De acordo com Hussin et al. (2001), o estudo do efeito de doses sobre a germinação é importante para determinar qual é o limite máximo que o material vegetal em estudo suporta, bem como avaliar aquelas doses que não causam perdas do poder germinativo.

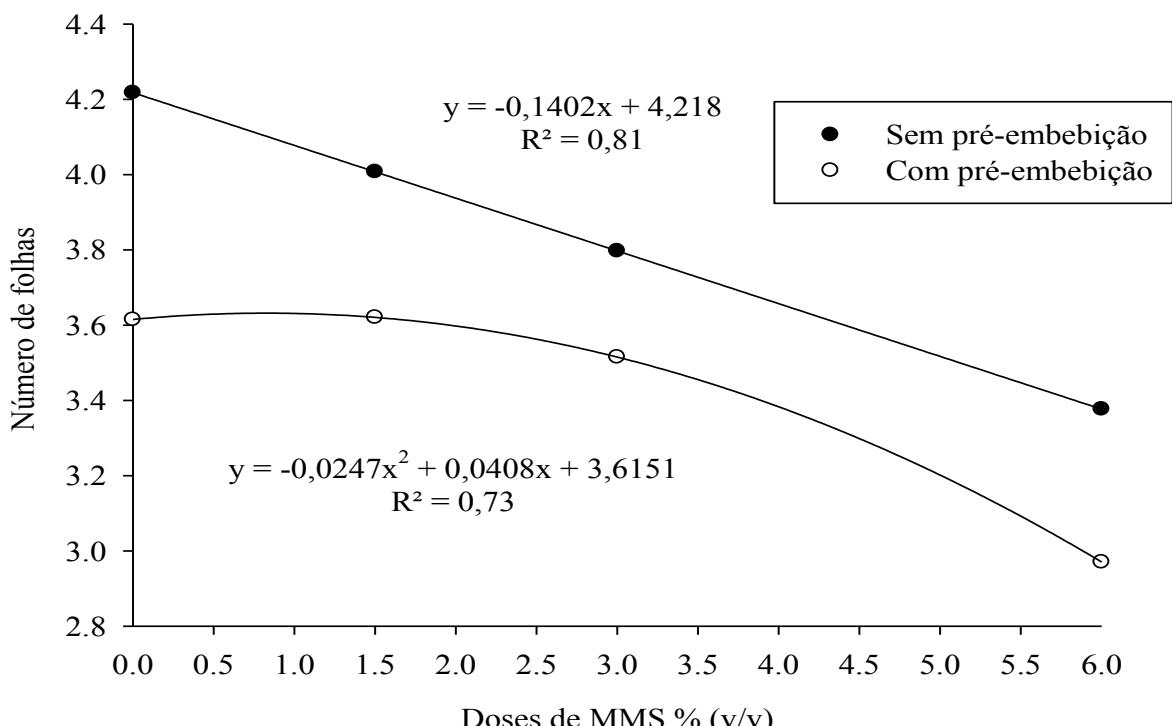
A variável normalidade de plântulas apresentou diferenças significativas para as doses

e para a pré-embebição. Foram observados 4,46 % de danos fisiológicos na dose 3 % de metilmetanosulfonato para sementes pré-embebidas em água. Esses valores são similares aos encontrados por Gupta et al. 2018, o qual obteve 2,65 % de plantas de *physalis* com danos na primeira geração de mutantes (M1), utilizando etilmetonosulfonato.

Corroborando com os trabalhos, Mahna; Singh (1982), também encontraram plântulas anormais, como por exemplo, plantas albinas, com acumulo de antocianinas, folhas irregulares. Assim, foram observados valores de até 8% para essa variável em *Physalis ixocarpa*, esses resultados mais elevados podem ser em função do nível de ploidia da espécie, na qual se trata de uma diploide, enquanto que a *P. peruviana* é tetraploide.

Para o caráter número de folhas a regressão se ajustou ao modelo linear para as sementes com pré-embebidas em água, e quadrática para as sementes não embebidas e de acordo com a análise, ambas foram significativas, sendo observada uma de redução de 0,80 e 0,60 cm respectivamente ao comparar com a testemunha.

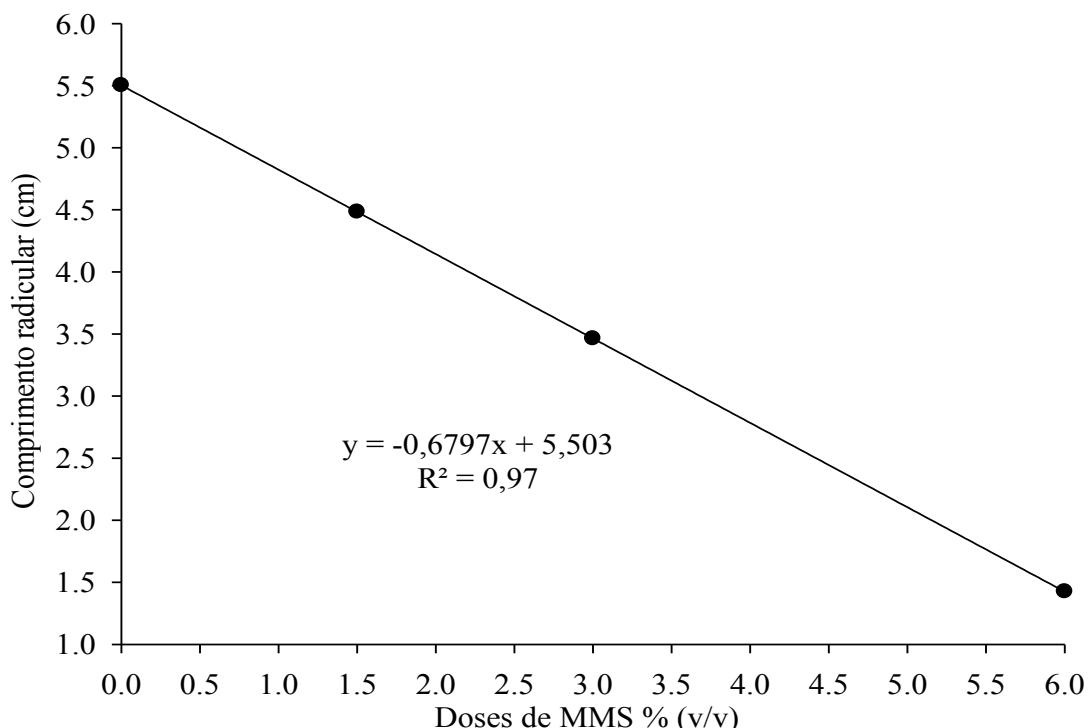
Figura 6 — Número de folhas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metilmetanosulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Já para o caráter comprimento radicular foi observado efeito significativo para a pré-embebição em água e para as diferentes concentrações aplicadas do mutagênico (Figura 6). Desta forma, foi ajustada apenas uma regressão linear para as doses (Quadrado médio = 44,17), pois ambas as regressões apresentaram a mesma tendência.

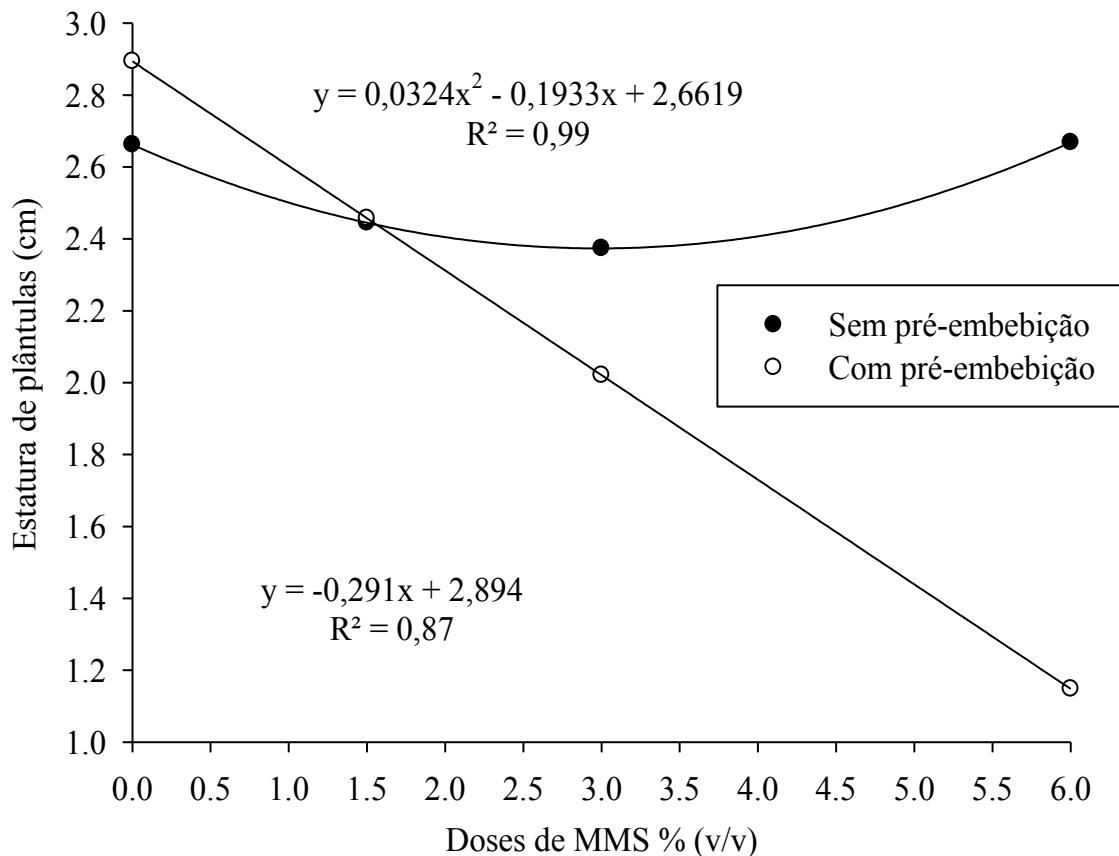
Figura 7 – Comprimento radicular em função da exposição de sementes de physalis em diferentes doses do mutagênico Metilmelanossulfonato (MMS). *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste T.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

O efeito da interação entre os fatores avaliados foi significativo para a estatura de plântulas, dessa forma também foram ajustadas regressões para cada nível da pré-embebição (Com e sem), em função das doses de metilmelanossulfonato (Figura 8). No entanto, houve diferenças significativas para essa variável apenas para sementes pré-embebidas em água antes da aplicação do agente mutagênico, e o modelo se ajustou ao polinômio linear (quadrado médio: 5,45 R^2 ; 0,97).

Figura 8 – Estatura de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metilmetasulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.

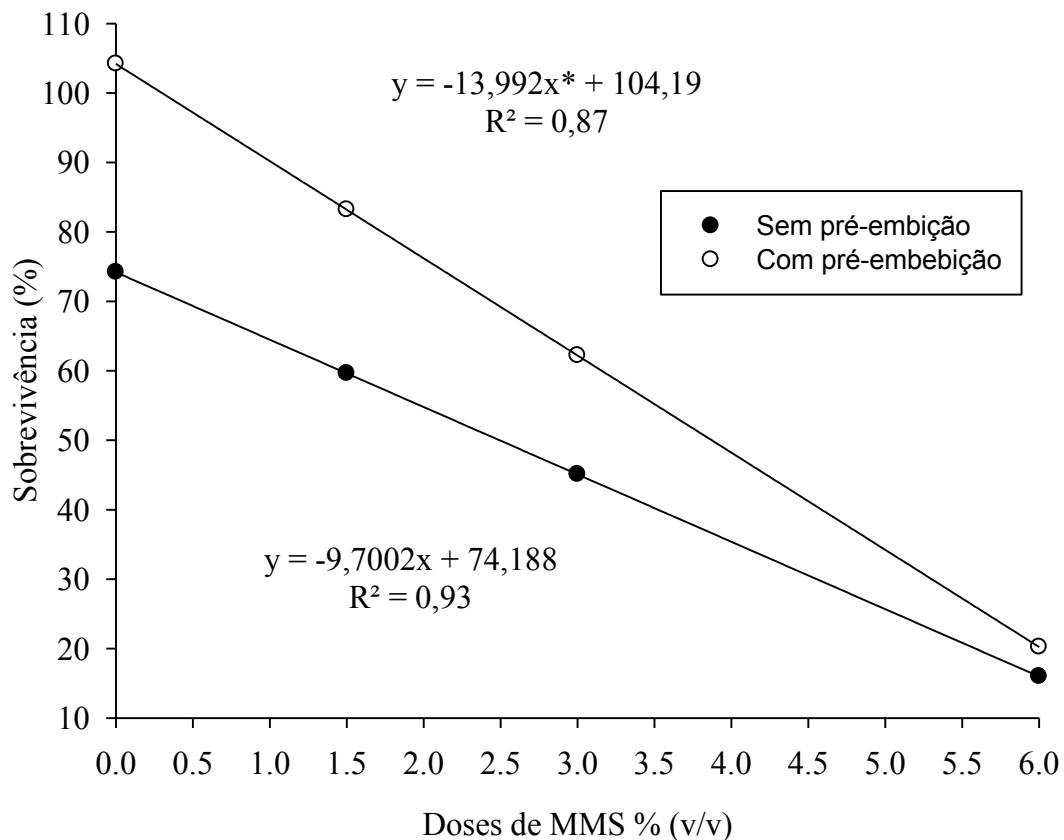


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Para a sobrevivência foi observado comportamento diferenciado para as doses, a qual também a análise apresentou ajuste linear para ambas as regressões (quadrado médio: 11561,54 e 4435,59), sendo que ambas apresentaram a mesma tendência de decréscimo com o aumento da dose (Figura 8).

A sobrevivência média de plântulas foi de 42 %. A partir dos dados obtidos em relação às doses aplicadas foi possível estabelecer uma faixa entre 3 a 6 % de concentração de metilmetasulfonato para indução de mutação. Esta faixa corresponde aquela que cause a maior incidência de danos fenótipos, sem causar a morte da planta ou também denominada de dose letal ou DL_{20-50} (DE BARROS; ARTHUR, 2005). Assim essas concentrações podem ser utilizadas como referência nos programas de melhoramento da espécie para indução de mutação.

Figura 9 – Sobrevida de plântulas em função da exposição ao tratamento de pré-embebição (Com e sem) de sementes de *Physalis peruviana* em água e a diferentes concentrações de Metimetanosulfonato. *: significativo ($p \leq 0,05$) pelo teste t.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Resultados similares foram encontrados por Gupta et al. (2018), no qual observaram em ensaios com essa natureza, 40 a 80% de mortalidade entre as sementes germinadas. Segundo Sato; Gaul. (1967), a redução na sobrevida das plântulas ocorre devido a danos citogenéticos e distúrbios fisiológicos, resultantes de efeitos pleiotrópicos de genes mutados ou aberrações cromossômicas.

Para as diferentes concentrações do mutagênico aplicado, os resultados apontaram valores decrescentes para a maioria das variáveis avaliadas, com aumento da dose do mutagênico testada. No entanto, estudos realizados têm demonstrado que o efeito indução depende do estádio de desenvolvimento das plantas e das variáveis analisadas, pode ocorrer inclusive recuperação de algumas características que inicialmente apresentavam redução. Portanto, doses diferenciadas das testadas, deverão ser analisadas nos próximos trabalhos para a indução de mutação em fisális com a utilização do agente mutagênico MMS.

5.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido este trabalho a pré-embebição de sementes em água potencializa os danos fisiológicos na geração M1, causados por agentes alquilantes. As concentrações utilizadas apresentaram decréscimo para a maioria dos caracteres avaliados. Assim, foi possível estabelecer uma faixa entre 3% a 6% do produto ativo para o etilmetanosulfonato e metilmetanosulfonato que corresponde a DL_{50-70} (Dose letal de 50 a 70%) para a indução de mutação de fisális.

6 CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDA E CORRELAÇÕES FENOTIPÍCAS ENTRE CARACTERES EM POPULAÇÕES MUTANTES DE FISÁLIS

RESUMO

A fisális cultivada no Brasil apresenta uma base genética restrita, o que dificulta o processo de melhoramento genético e a obtenção de novas cultivares. A ferramenta mais utilizada para obter novas constituições genéticas, na impossibilidade da recombinação gênica, é a mutação. Após a indução de mutação é necessária à caracterização ou realizar um *screening* das plantas mutantes e o estudo das correlações entre os caracteres, para a seleção e obtenção de população com constituição genética superior em curto espaço de tempo. Conforme o exposto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade e obter estimativas de correlações fenotípicas existentes entre caracteres de importância agronômica em populações mutantes ou não de fisális. Para compor os tratamentos foram utilizadas três populações de *Physalis peruviana* L. (Colômbia, Lages e Fraiburgo), que foram submetidas à irradiação gama (Co^{60}) em sementes e três tempos de exposição em M_0 (doses totais absorvidas: 0, 250 e 500 Grays-Gy). Em seguida, foi utilizado avanço de geração para obter planta no ciclo M_2 . O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com três repetições. Foram avaliados o pH, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST, em °Brix), índice de maturação (IM, razão SST/ATT), número de flores (NDF) e de frutos (NFR), peso de frutos sem capulho (PDF, em g) e produtividade total quantificada ao longo do tempo (PROD em kg ha⁻¹). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelos modelos lineares gerais (procedimento GLM) e as correlações estimadas e aferidas por meio dos coeficientes de correlação de Pearson a 5 % de probabilidade e desdobradas através da análise de trilha. Os resultados demonstraram que existem variação para a acidez titulável total, e sólidos solúveis em pelos menos um tratamento, sendo assim é possível selecionar frutos com maior qualidade e sabor equilibrado, sem perdas em produtividade.

Palavras chaves: Mutação, Cultivares, Variabilidade genética.

ABSTRACT

The fisális cultivated in Brazil has a restricted genetic base, which hinders the process of genetic improvement and obtaining new cultivars. The most used tool to obtain new genetic constitutions, in the impossibility of gene recombination, is mutation. After mutation induction, it is necessary to characterize or screen mutant plants and study the correlations between the characters to select and obtain a population with a higher genetic constitution in a short time. As stated above, the objective of this work was to characterize the variability and to obtain estimates of phenotypic correlations between characters of agronomic importance in mutant or non-physalis populations. The treatments were composed of three populations of *Physalis peruviana* L. (Colombia, Lages and Fraiburgo), which were submitted to gamma irradiation (Co^{60}) in seeds and three exposure times in M_0 (total absorbed doses: 0, 250 and 500 Grays - Gy). Next, generation advance was used to obtain plant in cycle M_2 . The experimental design was randomized blocks with three replications. The pH, total titratable acidity (TTA), total soluble solids (TSS, in ° Brix), maturity index (MI, TSS / TTA ratio), number of flowers (NDF) and fruits (NFR), weight of fruits without hull (PDF, in g) and total yield quantified over time (PROD in kg. ha⁻¹). The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), by the general linear models (GLM procedure) and the correlations estimated and measured by Pearson correlation coefficients at 5% probability and unfolded through the trail analysis. The results showed that there is variation for total titratable acidity and soluble solids in at least one treatment, so it is possible to select fruits with higher quality and balanced taste, without losses in productivity.

Keywords: Mutation, Cultivars, Genetic variability.

6.1 INTRODUÇÃO

A fisális (*Physalis peruviana* L.) é uma frutífera de origem andina, pertencente à família das solanáceas. De acordo com Fischer et al. (2014), esta frutífera apresenta um grande potencial econômico, principalmente para a agricultura familiar, por ser de fácil cultivo, possuir frutos de ótimo sabor e aroma e consequentemente um bom retorno econômico.

Devido à sua composição química, existem também vários estudos demonstrando propriedades nutricionais importantes, como altos teores de vitaminas e minerais. Por isso, há grande demanda da sociedade, seja pela fruta *in natura* ou industrializada (FISCHER et al., 2014; RAMADAN, 2011). A exploração para fins comerciais da espécie se iniciou em 1970 e atualmente a maior produtora de fisális é a Colômbia, com uma área de 1500 ha e produtividade em média de 15 t. ha⁻¹ (AGRONET, 2017).

No Brasil a produção de fisális não atende as exigências do consumidor e é insuficiente para suprir a demanda do mercado interno, devido a práticas de manejo inadequadas e a falta de cultivares melhoradas (EPAGRI, 2018; TREVISANI et al. 2016; INCONTEN, 1999). A principal dificuldade na obtenção de populações com constituição genética superior está relacionada à base genética restrita encontrada nas populações cultivadas no Brasil para alguns caracteres de importância agronômica (TREVISANI et al., 2018). De acordo com Ahloowalia et al., (2001); Allard. 1999, a ferramenta mais utilizada no melhoramento de plantas para superar a falta de recursos genéticos e que vem apresentando bons resultados em frutíferas é a indução de mutação por agentes químicos ou físicos.

As vantagens dos agentes físicos, como a radiação ionizante, tendo como fonte cobalto⁶⁰, é de não deixar resíduo e a sua maior capacidade de penetração no tecido vegetal. Desta forma, chega com maior precisão o alvo principal que é o DNA, resultando em maiores índices de aberrações cromossômicas, cromatínicas e mutações gênicas (AHLOOWALIA et al., 2001; PREDIERI, 2001).

Através da criação de novas formas alélicas por mutação artificial, devem-se selecionar plantas com melhores propriedades organolépticas dos frutos. Procura-se também a reduzir das principais perdas em pós-colheita, como por exemplo, o distúrbio fisiológico de origem genética conhecido “rachamento de frutos”, bem como o aumento de rendimento produtivo (FISCHER et al. 2014; DUARTE et al., 2013). No entanto, muitos desses caracteres possuem alta complexidade para o processo de seleção, principalmente, porque são de origem

quantitativa e governados por genes pleiotrópicos, que apresentam alta influência do ambiente (BORÉM et al., 2013; CARVALHO et., 2004).

Nesse contexto, o melhorista deve lançar mão de técnicas que o auxiliem no momento da seleção para a obtenção de novas cultivares, como por exemplo, a correlação de Pearson, e a análise de trilha ou "path analysis". A técnica multivariada permite o desdobramento dos coeficientes de correlações de caracteres (variáveis explicativas) sobre a expressão de uma variável principal (básica), em efeitos diretos e indiretos (coeficiente de trilha).

De acordo com Coimbra et al. (2005), como a análise de trilha constitui-se em regressões múltiplas, para assegurar as estimativas de forma correta e resultados biologicamente apropriados, é necessário avaliar e quantificar o grau de multicolinearidade. Existem muitas metodologias para testar a magnitude das relações lineares, dentre elas as mais utilizadas na área são o número de condições e o índice de inflação da variância (VIF). Apesar das peculiaridades, a análise de trilha fornece estimativas mais acuradas de causa e efeito, sendo extremamente importante para avaliar quantitativamente a relevância de um caráter em relação a outro (FERREIRA et al., 2012).

Assim, estudos com a finalidade de estudar as correções e à indução de mutação podem acelerar o processo de obtenção de novas cultivares por permitir a realização da seleção indireta para caracteres de difícil mensuração (CRUZ, CARNEIRO, 1993). No entanto, ainda são poucos os trabalhos com essa natureza envolvendo a fisális. Diante do que foi exposto, este trabalho teve por objetivo caracterizar a variabilidade e obter estimativas de correlações fenotípicas existentes entre caracteres de importância agronômica em populações dessa cultura.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), situada na cidade de Lages-SC (27° 48' S e 50° 19' O), com altitude média de 930 m. O município apresenta clima do tipo Cfb (clima temperado com verão fresco) e temperatura média anual de 14,3°C, com uma precipitação média anual de 1500 mm.

O solo no local do estudo é classificado como Cambissolo Húmico Alumínico Léptico, com um horizonte A moderado, textura argilosa e relevo ondulado, e que apresentou as seguintes propriedades: 34% de argila; pH da água 5,93; potencial de acidez pelo método

PMS 5,21; P: 10,06 mg dm³; K: 80 mg dm³, OM: 2,61%; Ca: 5,42 cmol dm³; e Mg: 2,10 cmolc dm³.

Para obter as populações mutantes, foram selecionadas três populações cultivadas de fisális em função de sua origem (Colômbia, Lages e Fraiburgo). Seguidamente, foram submetidas à irradiação gama (método físico) com o agente mutagênico Cobalto⁶⁰ nas doses de 0, 250 e 500 Grays (Gy) (com taxa de 15,24 Gy por minuto), o que resultou em nove populações ou tratamentos. A determinação das doses de irradiação para a cultura é baseada nos trabalhos realizados por Caro-Melgarejo et al. (2012); Trevisani et al (2018). A irradiação gama deu origem às populações da geração M1. Em seguida, foi avançado a geração para se obter as populações em geração M2, nas quais as características agronômicas foram avaliadas.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com três repetições. A unidade experimental foi composta por 10 plantas, sendo 3 plantas por metro, espaçadas 3 m na entrelinha. A semeadura para a obtenção das mudas foi realizada em bandejas de isopor e acondicionada em casa de vegetação, e então transplantadas para o campo aos 50 dias de cultivo, ou seja, quando atingiram 15 a 20 cm de altura. Os tratos culturais seguiram as recomendações técnicas para a cultura. A colheita dos frutos foi realizada manualmente, quando apresentavam maturação fisiológica nos estádios 4 e 5, segundo a escala fenológica de Lima et al. (2009).

As variáveis avaliadas foram o pH, acidez total titulável (% de ácido cítrico), por titulação com NaOH 0,1 M (ATT), sólidos solúveis totais (SST, em °Brix), com auxílio de um refratômetro manual, índice de maturação (IM, razão SST/ATT), número de flores (NDF) e de frutos (NFR), peso de frutos sem capúlio (PDF, em g) e produtividade total (PROD em kg. Há⁻¹).

A normalidade dos erros foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene, antes do início das análises estatísticas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelos modelos lineares gerais (procedimento GLM), utilizando software SAS *Universit Edition* 9.4, sob o modelo: $Y_{ijk} = m + b_i + trat_k + e_{ik}$. Em que: Y_{ij} é o valor da característica para a i ésima no j ésimo bloco $_{ji}$; m é a média geral do experimento; b_i é o efeito do bloco j i -ésimo, $trat_k$ = efeito do i -ésimo tratamento; e_{ik} é o erro aleatório.

Foram realizados também contrastes univariados não ortogonais, onde, para cada população foi comparada a dose zero versus as respectivas doses de 250 e 500 Gy, de acordo com o seguinte esquema: C1: Colômbia01_0 vs. Colômbia01_250; C2:Colômbia01_0 vs. Colômbia01_500; C3: Lages02_0 vs. Lages 02_250; C4: Lages_0 vs. Lages_500.

A partir dos componentes de variância foram estimadas a herdabilidade no sentido amplo e a razão entre coeficiente de variação genético e ambiental (CVg /CVe). As correlações fenotípicas entre todos os caracteres foram estimadas e aferidas também por meio dos coeficientes de correlação de Pearson a 5 % de probabilidade (STEEL et al., 1997). Para análise de trilha adotou-se um diagrama causal, considerando os efeitos diretos e indiretos, incluindo-se para a variável principal a produtividade total de frutos (PROD).

O grau de multicolinearidade da matriz $X'X$ entre as variáveis independentes do modelo de regressão, foi avaliado segundo os critérios indicados por Montgomery; Peck (1981). Além disso, também foi realizado o diagnóstico dos fatores de inflação das variâncias (VIF), ou seja, o valor de tolerância ou seu inverso. O diagnóstico foi determinado pela equação $VIF = (1 / (1 - R^2j))$, onde R^2j é o coeficiente de determinação. Para contornar os efeitos da multicolinearidade, foi utilizado o método de regressão de crista. As análises estatísticas foram realizadas e processadas usando os recursos computacionais do programa genes

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são apresentados os valores da análise de variância global para as variáveis avaliadas. Foram observadas diferenças significativas para os tratamentos apenas para as variáveis: acidez titulável total e sólidos solúveis. Os demais caracteres não demonstraram comportamento diferenciado em função das populações avaliadas.

Tabela 3 — Resumo da análise de variância global (Quadrados médios) para as variáveis, acidez titulável total (ATT), índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brixº (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NDF), peso do fruto sem capulho (PDF), produtividade total estimada ao longo do ciclo (PROD), Lages-SC, 2019.

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS						
		PH	IM	ATT	SST	NFL	NDR	PRODT
Blocos	2	0,007	0,319	0,069	0,64	689,13	931,44	2398433,33
Tratamentos	8	0,008 ^{ns}	0,722 ^{ns}	0,047*	3,14*	11,73	557,98 ^{ns}	413175,00 ^{ns}
Resíduo	16	0,005	0,439	0,018	10,24	179,15	346,29	365125, 00
CV(%)		2,03	10,71	7,14	8,66	20,89	19,91	29,22
CVg/CVe		0,49	0,46	0,74	0,83	-0,99	0,45	0,21
Herdabilidade (%)	41,74	39,09	61,89	67,43	52,68	37,94	11,63	
Média	3,53	6,19	1,89	11,68	20,26	93,47	2067,78	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

*FV- Fontes de variação; GL – Graus de Liberdade; CV – Coeficiente de variação; CVg/CVe- variação genética/variação ambiental. *Significativo a $P \leq 0,05$ pelo teste F.

Em relação à precisão experimental, a variável acidez titulável total, índice de maturação, sólidos solúveis totais, apresentaram baixo coeficiente de variação (20%); número de flores, peso de frutos e a produtividade total de frutos valores médios de 20 a 30%; e número de frutos, um valor um pouco mais elevado de 33 %. Altos valores de CV para as características número de frutos evidenciam a natureza dessas características, que possui controle genético complexo ou aos efeitos da indução de mutação.

Foi realizada também a decomposição dos tratamentos por contrastes. Os resultados demonstraram que um dos tratamentos (população de Fraiburgo na dose 500 Gys) apresentou valores superiores aos demais tratamentos para as variáveis sólidos solúveis totais (13,23) e acidez titulável total (2,09), a 5% de probabilidade pelo teste t. Desta forma, parte dessa variação é genética (CVg/CVe: 0,74 e 0,83 respectivamente), com alta herdabilidade e possivelmente possa ser utilizada em programas de melhoramento da cultura que tratam da seleção, sendo esses recursos genéticos adicionais de fundamental importância para a seleção de novas cultivares (VENCovsky et al., 1992).

Dentre os caracteres avaliados por meio da matriz de correlação de Pearson, cinco variáveis: pH, sólidos solúveis totais, índice, número de frutos e peso de frutos, evidenciaram coeficientes fenotípicos significativos a 5% de probabilidade de erro. Porém, somente as variáveis, número de frutos (0,41) e peso de frutos (0,40) apresentaram correlação positiva com a produtividade (Tabela 2).

Tabela 4 — Coeficiente de correlação simples de Pearson entre os caracteres acidez titulável total (ATT), Índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brix° (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NFR), produtividade por planta (PDF), produtividade total estimada ao longo do ciclo (PROD).

	pH	ATT	IM	SST	NFL	NDF	PDF	PROD
pH	1	-0,0083	0,3897	0,4390*	0,0197	-0,2491	0,0610	-0,3055
ATT		1	-0,1249	0,4836*	0,0010	-0,2584	0,2791	0,1952
IM			1	0,4560*	0,3010	-0,0668	-0,0672	-0,0320
SST				1	0,2116	-0,2585	0,1372	-0,1952
NFL					1	-0,338	-0,1602	-0,2120
NDF						1	0,4030*	0,4182*
PDF							1	0,4040*
PROD								1

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

*significativo em 5% de probabilidade de erro, pelo teste t.

ns Não significativo.

Valores de 0,75 para número de frutos e 0,59 para o peso de frutos foram encontrados no trabalho de García-arias et al. (2018), essa diferença entre os resultados deve-se a interação genótipo ambiente. Sendo que, o fotoperíodo, o ciclo da espécie e a época de plantio, são os principais fatores que são responsáveis por essas diferenças entre os resultados.

Diferentemente do esperado, o índice de maturação (razão entre sólidos solúveis e acidez titulável total), que é um caráter importante na definição do sabor dos frutos, demonstrou menor correlação com a acidez titulável total (-0,12) do que com sólidos solúveis (0,49). Segundo Cohen (1988), valores para correlações entre 0,10 e 0,29 podem ser considerados pequenos e 0,30 a 0,49 médios. Assim, quanto mais correlacionadas são as variáveis avaliadas, mais difícil é o processo de seleção.

De acordo com os resultados, apesar dos valores negativos e com baixos a médios escores para a acidez titulável total, com as demais variáveis, este caráter deve ser avaliado com cautela. Isso ocorre porque esse caráter está relacionado com a pós-colheita dos frutos, sendo responsável pela prolongação do tempo de prateleira, devido a sua função para evitar a deterioração causada por fungos. Além disso, possibilita a industrialização, flexibilizando a quantidade de açúcar que pode ser adicionado no seu processamento (GILES et al., 2016; MORGADO et al., 2010). Por outro lado, a correlação positiva entre o índice de maturação e sólidos solúveis totais demonstra que podem ser selecionados frutos com maiores teores de açúcares, que é desejável para o consumo do fruto *in natura*.

De acordo com Carvalho et al., (2004), apesar da grande importância do conhecimento das correlações simples para o melhoramento genético, pois fornece o sentido e o grau da associação, alguns cuidados devem ser levados em consideração. Isso ocorre por que uma correlação muito alta entre dois caracteres pode ser resultante do efeito indireto de um terceiro caráter ou de um grupo de caracteres, podendo ocasionar equívocos no processo de seleção. Por isso, também foi realizado a decomposição dos coeficientes de correlação em efeitos diretos e indiretos pela análise de trilha, entre as variáveis pH, acidez titulável total, sólidos solúveis, número de flores e número de frutos, peso de frutos em função variável principal produtividade total.

O número de condições para o diagnóstico do grau de multicolinearidade na análise de trilha entre as variáveis independentes do modelo de regressão apresentou valores acima do recomendado ($NC=5045.82$) para o conjunto de dados. De acordo com Belsley et al. (1980), quando o número de condições ultrapassar 1000, a multicolinearidade é considerada severa.

A verificação através do fator de inflação da variância (VIF), para todas as correlações também superestimaram o coeficiente mínimo, corroborando com os resultados já

encontrados através do número de condições. O ideal é que o VIF não ultrapasse o valor de 5, se não a multicolinearidade será um problema (HAIR, et al. 2005).

Para contornar os efeitos da multicolinearidade, foi utilizada a regressão em crista (análise de trilha sob multicolinearidade), adotando-se um valor de $k=0,11$. Assim, foi possível estabilizar os coeficientes de trilha e manter o valor de inflação da variância dentro do recomendável. Na análise de trilha em crista, foi também observado menor efeito da variável residual (0,43), e maior coeficiente de determinação (R^2 : 0,82).

Tabela 5 – Efeito fenotípico direto e indireto das variáveis independentes explicativas pH, titulável total (ATT), Índice de maturação (IM), quantidade de sólidos solúveis em grau brix⁰ (SST), número de flores por planta (NFL), número de frutos por planta (NFR), peso do fruto (PDF), sobre a variável dependente principal (PROD) Lages-SC, 2019.

VARIÁVEIS	FEITOS	COEFICIENTE DE TRILHA
pH	Efeito direto sobre PROD	-0,073
	Efeito indireto via IM	-0,029
	Efeito indireto via ATT	0,003
	Efeito indireto via SST	0,058
	Efeito indireto via NFL	0,005
	Efeito indireto via NDF	-0,376
	Efeito indireto via PDF	0,094
IM	Total	-0,325
	Efeito direto sobre PROD	-0,058
	Efeito indireto VIA pH	-0,036
	Efeito indireto via ATT	-0,006
	Efeito indireto via SST	0,068
	Efeito indireto via NFL	-0,007
	Efeito indireto via NDF	-0,154
ATT	Efeito indireto via PDF	-0,188
	Total	-0,387
	Efeito direto sobre PROD	0,026
	Efeito indireto via pH	-0,008
	Efeito indireto via IM	0,013
	Efeito indireto via SST	0,056
	Efeito indireto via NFL	0,001
	Efeito indireto via NDF	0,286
	Efeito indireto via PDF	-0,003
	Total	0,374

Continua na próxima página.

Continuação da tabela anterior.

VARIÁVEIS	EFEITOS	COEFICIENTE DE TRILHA
SST	Efeito direto sobre PROD	0,102
	Efeito indireto via pH	-0,042
	Efeito indireto via IM	-0,039
	Efeito indireto via ATT	0,014
	Efeito indireto via NFL	-0,006
	Efeito indireto via NDF	0,050
	Efeito indireto via PDF	-0,141
	Total	-0,051
NFL	Efeito direto sobre PROD	-0,018
	Efeito indireto via pH	0,021
	Efeito indireto via IM	-0,023
	Efeito indireto via ATT	-0,001
	Efeito indireto via SST	0,033
	Efeito indireto via NDF	-0,040
	Efeito indireto via PDF	-0,172
	Total	-0,203
NDF	Efeito direto sobre PROD	0,841
	Efeito indireto via pH	0,032
	Efeito indireto via IM	0,011
	Efeito indireto via ATT	0,009
	Efeito indireto via SST	0,006
	Efeito indireto via NFL	0,001
	Efeito indireto via PDF	-0,347
	Total	0,643
PDF	Efeito direto sobre PROD	0,685
	Efeito indireto via pH	-0,010
	Efeito indireto via IM	0,016
	Efeito indireto via ATT	0,000
	Efeito indireto via SST	-0,021
	Efeito indireto via NFL	0,005
	Efeito indireto via NDF	-0,425
	Total	0,323
R ²		0,82
VALOR DE k USADO NA ANÁLISE		0,11
efeito da variável residual		0,43

Fonte: elaborado pelo autor, 2019.

Para a interpretação de uma análise de causa e efeito, objetivando o melhoramento de uma cultura, devem-se levar em consideração alguns pontos essenciais: se o coeficiente de

correlação fenotípica, entre um fator causal e a variável básica, for igual ou semelhante ao seu efeito direto, em magnitude e sinal, esta correlação explica a verdadeira associação existente (CRUZ et al., 2012).

De acordo com a análise de trilha sob multicolinearidade, o número de frutos e peso de frutos como esperado, foram os descritores que apresentaram os maiores efeitos diretos (0,84 e 0,32) e as maiores correlações (0,64 e 0,84 na Tabela 2), e de mesmo sinal sobre o caráter produtividade total. De acordo com Carvalho et al. (2004), a determinação de quais variáveis apresentam maiores correlações com a variável básica é de fundamental importância. Além disso, devido a sua fácil mensuração, essas variáveis são boas preditoras, podendo assim promover a seleção de populações com maiores números ou peso de frutos e obter ganhos genéticos através da seleção indireta para a produtividade ou para frutos de melhor qualidade.

Soares et al. (2017), encontrou resultados similares em pimenta, onde foram observadas uma correlação principal de 0,98 e valor direto de 0,36. Maga et al. (2013) verificaram efeito direto positivo do número de frutos por planta (0,91) e do peso do fruto (0,28). Lúcio et al. (2013), também relatam que os caracteres número de frutos tiveram maior efeito direto no peso total de frutos de maracujazeiro-azedo, do que sólidos solúveis totais, peso, comprimento e diâmetro do fruto, espessura da casca e rendimento de polpa.

Como observado na análise de trilha, a avaliação dos coeficientes de correlação de Pearson entre número de frutos e peso de frutos caracteres apresentaram correlação significativa. No entanto, a seleção simultânea de ambos levaria ao erro de sua utilização. Isso confirma a limitação do coeficiente de correlação linear, já que a sua decomposição demonstrou efeito indireto negativo alto entre o número de frutos e peso de frutos o que pode ocasionar dificuldade para aumentar a produtividade e obter frutos que atendam as normas de exportação (WRIGHT, 1921; CRUZ et al., 2012). Por outro lado, é possível selecionar frutos com maior peso sem afetar a produtividade.

O número de frutos, que é um componente importante da produção, apresentou correlação negativa (-0,20), mas efeito direto baixo sobre a variável básica. De acordo com Moss (1971) e Pandya et al. (2016), esse resultado pode ser justificado devido à presença de genes dominantes e efeitos pleiotrópicos, conferindo alta plasticidade fenotípica por causa da influência do ambiente sobre este caráter e da baixa herdabilidade de um dos caracteres avaliados.

Segundo Montardo et al. (2003), a razão para a baixa correlação entre o caráter número de frutos e a variável básica também pode ser explicado pela ocorrência da base genética restrita, uma vez que esse tipo de análise procura identificar uma eventual

associação na variação das características em estudo. Uma das razões que conduziram a restrita variabilidade genética para certas culturas, como a fisális, é a origem dos genótipos que apresentam um único *pool* gênico e a poliploidia que pode ter conferido algum tipo de isolamento reprodutivo para a espécie, já que os genótipos cultivados são tetraploides ($2n=4x=48$ cromossomos) e as silvestres são diploides ($2n=2x=24$ cromossomos) (LESSA et al., 2012).

A falta de variação genética nas populações estudadas está possivelmente relacionada à ineficiência para gerar mutações com a utilização da irradiação, para os caracteres quantitativos avaliados no presente estudo, devido aos mecanismos de reparo genômico que a espécie pode apresentar ou ao grande número de genes envolvidos na expressão deste caráter (BORÉM et al., 2013).

O tamanho do fruto talvez esteja mais relacionado com a produtividade do que o número de folhas (GARCÍA-ARIAS et al., 2018). Além disso, o hábito indeterminado também pode contribuir para a produção de um número elevado de flores, sendo que pode haver uma taxa alta de abortamento devido à relação fonte e dreno. Assim, ocorre a translocação de fotoassimilados para os frutos e não para flores, quando há competição é elevada. Não representando dessa forma, efetividade deste caráter sobre a variável básica, conforme já demonstrado em soja, canola, jabuticaba e no mamão (SALLA et al., 2015; FERREIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2010; ARAÚJO et al., 2007).

Foi observado também, que além das associações com peso de frutos e número de frutos, houve outras correlações positivas diretas entre as características avaliadas com o caráter principal. Como por exemplo, sólidos solúveis totais que apresentou efeito direto positivo (0,10). No entanto, a correlação total foi negativa e de baixa magnitude (-0,05). Isto indica que a associação é causada pelos efeitos indiretos.

Por outro lado, foi observado para o efeito direto da acidez titulável total, associação mais alta (0,37), e baixa magnitude (0,03) para os efeitos diretos. Desta forma, os efeitos indiretos também são responsáveis pela falta de correlação. Assim, a melhor estratégia para sólidos solúveis totais e acidez titulável total para proporcionar ganhos satisfatórios na variável principal é a seleção simultânea das variáveis, com ênfase, também, naquelas cujos efeitos indiretos sejam significativos.

Por sua vez, existem correlações positivas de efeito indireto entre sólidos solúveis totais, acidez titulável total e algumas variáveis. Esses valores corroboram a análise de Pearson demonstrando que podem ser selecionados genótipos com maior equilíbrio no sabor do

fruto. Em relação aos efeitos indiretos negativos, sólidos solúveis totais foi o caráter que apresentou os maiores valores para o maior número de variáveis.

Carvalho et al. (2004) e Coimbra et al. (2005), ressaltam que quando um caráter se correlaciona de forma truncada, ou seja, apresenta efeitos indiretos positivos com algumas variáveis e negativas com outras como observado no caso de sólidos solúveis totais, há a indicação de se ter um cuidado adicional, pois, ao selecionar este caráter, pode provocar mudanças indesejáveis em outros caracteres de interesse.

Contudo, a literatura possui muitos estudos demonstrando que geralmente com o aumento da produtividade, há uma tendência em frutíferas a para a redução da qualidade dos frutos, por que é fácil obter incremento em carboidratos do que os outros elementos devido ao menor gasto energético (DE ALMEIDA et al., 2018; TAIZ, L.; ZEIGER, 2017).

Os demais caracteres não apresentaram efeitos diretos e indiretos com magnitudes interessantes, indicando que, em um processo de melhoramento de *physalis*, a seleção deverá ser realizada por caractere, ou seja, independente dos demais caracteres. Este fato, de independência entre os caracteres, também pode ser interessante para o melhorista porque é possível obter ganhos genéticos simultâneos sobre os caracteres produtivos importantes ou obter incremento para um determinado caractere sem alterar os demais.

Apesar de outros autores determinarem a importância da análise para acelerar e facilitar a seleção de genótipos através das características morfológicas de frutos avaliados, deve ser analisado outros caracteres, como por exemplo, as dimensões do fruto, o número de sementes por fruto e a espessura da casca que também são características explicativas para a variável básica (produtividade total).

Essa necessidade ocorre em função da possibilidade da existência de diversos efeitos indiretos negativos desconhecidos que mascaram o efeito de características importantes na expressão da variável básica. Para obter resultados mais confiáveis e fidedignos devem ser realizadas avaliações em outros ambientes, e em vários anos ou ciclos produtivos da espécie.

6.3 CONCLUSÕES

As populações mutantes de fisális apresentam variabilidade para os componentes qualitativos e não para os quantitativos. O caráter número de frutos apresentou a maior importância sobre a variável básica, uma vez que possui maiores efeitos diretos e alta correlação fenotípica com a produtividade, enquanto que o número de flores apresentou

resultados negativos. A seleção simultânea com valores elevados entre acidez e sólidos totais pode auxiliar o melhorista na seleção de genótipos com frutos de sabor mais equilibrado.

REFERÊNCIAS

AGRONET. Intranet do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
Disponível em: <<http://www.agronet.gov.com>> Acesso em: Agosto 2019.

AHLOOWALIA, B.S.; MALUSZINSKY, M. Induced mutations: a new paradigm in plant breeding. **Euphytica**, v.119, n.2, p.67-173, 2001.

ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. 2nd ed. New York: John Wiley, 1999. 264p.

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381p.

ANDRADE; CASTRO, L. Physalis ou uchuva - fruta da Colômbia chega ao Brasil. **Revista Rural**, São Paulo, v.38, p.11-12, 2008.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018.

ARAÚJO, E.C.; DAHER, R.F.; SILVA, R.F.; PIO VIANA, A. Path analysis for physiological traits that influence seed germination of *Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p.148-154, 2007.

ARISHA, M. H., SHAH, S. N., GONG, Z. H., JING, H., LI, C., & ZHANG, H. X. Ethyl methane sulfonate induced mutations in M2 generation and physiological variations in M1 generation of peppers (*Capsicum annuum* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 399, 2015.

BELSLEY, D.A.; KUH, K.; WELSCH R. E. **Regression diagnostics: identifying data and sources of collinearity**. New York: J. Wiley, 1980. 292p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, p. 523. 2013.

BOUALEM, A.; FLEURIER, S.; TROADEC, C.; AUDIGIER, P.; KUMAR, A. P.; CHATTERJEE, M.; BENDAHMANE, A. Development of a *Cucumis sativus* TILLinG platform for forward and reverse genetics. **PLoS One**, v. 9, n. 5, p. e97963, 2014.

CARVALHO, F.I.F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal**. Pelotas: UFPel, 2004. 142p

CASTRO, A.; RODRIGUEZ, L.; VARGAS, E. Dry gooseberry (*Physalis peruviana* L.) with pretreatment of osmotic dehydration. **Vitae – Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, Medellín, v. 15, n. 2, p. 226-231, 2008.

CELY, J. A. B., RODRIGUEZ, F. E., ALMARIO, C. G., MENESES, L. S. B. Genetic variability of parentals and inter and interspecific F1 populations of *Physalis peruviana* L. and *P. floridana* Rydb. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 37(1), p.179-192. 2015.

CHACÓN, M., SÁNCHEZ, Y. and BARRERO, L. Genetic structure of a Colombian Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) collection by means of microsatellite markers. **Agronomía Colombiana**, 34 (1), p. 5-16, 2016.

CODEX STAN. **Norma del códex para La uchuva**. México. 2005.

COHEN, J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Routledge, 1988.

COIMBRA, J. L. M; BENIN, G. V; E. A.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; GUIDOLIN, A. F.; SOARES, A. P. Consequências da multicolinearidade sobre a análise de trilha em canola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 347-352, Apr. 2005.

CRUZ, CD.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1993. V.2, 585 p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. 4. Ed. Viçosa: UFV, 2012, 514p.

DE ALMEIDA, R.S.; DA CUNHA, R. N. V.; LOPES, R., BARCELOS, E.; DA ROCHA, R. N. C.; DE LIMA, W. A. A. Correlation and Path analysis for yield components in Dura oil palm germplasm. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 724-733, 2018.'

DE BARROS, A.; ARTHUR, V. Determinação experimental da dose de redução do crescimento (GR50) e da dose letal (LD50) de soja irradiada por raios gama. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 249–253, 2005.

DE OLIVEIRA, S.; DE MATOS, A. P.; ALVES, É. J. Melhoramento genético da bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 693-703, 1998.

DUARTE, A.; VILLALOBOS, R.; MORENO, D.A.; GIL, Á.; FERRERES, F.; GARCÍA, C.; HEINZEN, H.; CESIO, V.; PÁSSARO, C.; OSORIO, J.; LONDOÑO, J. (Ed.). *Physalis peruviana: fruta andina para el mundo: cultivo, recurso genético, agroindustria, normativa y mercado*. Madrid: Editorial Académica Española, 2013.

ENCISO-RODRÍGUEZ, F. E.; GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ, E. A.; LÓPEZ, C. E.; LANDSMAN, D.; BARRERO, L. S.; MARIÑO-RAMÍREZ, L. Identification of immunity related genes to study the *Physalis peruviana*–*Fusarium oxysporum* pathosystem. *PLoS one*, v. 8, n. 7, p. e68500, 2013.

EPAGRI/CEPA. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2016/2017.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 2017.

FAO/IAEA. **Mutant variety search.** 2019. Disponível em: <<http://mvgs.iaea.org/Search.aspx>>. Acesso em: 18 set. 2019.

FERREIRA, J. P.; SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; PIANTAVINHA, W. C.; CATTANEO, L. F. Correlações entre características morfo-agronômicas de acessos de mamoeiro. *Enciclopédia Biosfera*, v.8, n.14, p. 246-257, 2012.

FISCHER, G.; ALMANZA-MERCHAN, P. J; MIRANDA, D. Importância y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 01-15, Março. 2014.

FISCHER, G.; MIRANDA, D.; PIEDRAHITA. W.; ROMERO, Y J. (Ed.). **Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Colombia.** Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, 2005. p. 55-82.

FLORES, P.: BRUCKNER, C H. Radiossensibilidade de sementes e segmentos caulinares de maracujazeiro-amarelo submetidos à radiação gama. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 12, p. 2131-2136, Dez. 2015.

FU, Y.B. Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, n. 11, p. 2131-2142, 2015.

GARCÍA-ARIAS, F. L.; OSORIO-GUARÍN, J. A.; ZARANTES, N.; VICTOR, M. Association Study Reveals Novel Genes Related to Yield and Quality of Fruit in Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 362, 2018.

GARCÍA-ARIAS, F.; SÁNCHEZ-BETANCOURT, E.; NÚÑEZ, V. Fertility recovery of anther-derived haploid plants in Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **Agronomía Colombiana**, v. 36, n. 3, p. 201-209, 2018.

GARZÓN-MARTÍNEZ, G. A.; OSORIO-GUARÍN, J. A.; DELGADILLO-DURÁN, P.; MAYORGA, F.; ENCISO-RODRÍGUEZ, F. E.; LANDSMAN, D.; BARRERO, L. S. Genetic diversity and population structure in *Physalis peruviana* and related taxa based on InDels and SNPs derived from COSII and IRG markers. **Plant Gene**, v. 4, p. 29-37, 2015.

GAUL, H. Mutagen effects observable in the first generation. In: **Manual Mutation Breeding**, IAEA. Vienna, v. 85, p. 106, 1970.

GAUL, H. Mutations in plant breeding. **Radiation Botany**, Great Britain, v. 4, p.155-232, 1997.

GILES, J. A. D.; OLIARI, L. S. O.; ROCHA, A. C. B.; SCHMILDIT, E. R.; SILVA, W.; FRANÇA, J. M. Correlações entre características físicas, químicas e físico-químicas de frutos de ciriguela. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 10, n. 1, p. 30-35, 2016.

GRATÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, 32:481-494, 2005.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introdução a Genética**. 9 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2009.

GUIMARÃES, M. A.; TELLO, J. P. J.; DAMASCENO, L. A.; VIANA, C. S.; MONTEIRO, L. R. Pré-embebição de sementes e seus efeitos no crescimento e desenvolvimento de plântulas de melancia. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 442-446, Jun. 2013.

GUPTA, A. K.; SINGH, S. P.; SINGH, M.; MARBOH, E. S. Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and EMS on Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 2, p. 3254-3260, 2018.

GUPTA, S.K.; ROY, S.K. The floral biology of cape gooseberry (*Physalis peruviana* Linn; Solanaceae, India). **Indian Journal of Agricultural Science**, New Delhi, v.51, n.5, p. 353-355, 1981.

HAIR, J.J.H.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C.; Adonai S.S.; NETO, A. C. **Análise Multivariada de Dados**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman. 2005.

HEJEILE, H. Y A. IBARRA. **Colección y caracterización de los recursos genéticos de la uvilla (*Physalis peruviana* L.) en algunos municipios del sur del departamento de Nariño.** Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, Pasto. 123 p. 2001.

HENRY, I. M.; NAGALAKSHMI, U.; LIEBERMAN, M. C.; NGO, K. J.; KRASILEVA, K. V.; VASQUEZ-GROSS, H. Efficient genome-wide detection and cataloging of EMS-induced mutations using exome capture and next-generation sequencing. **The Plant Cell**, v. 26, n. 4, p. 1382-1397, 2014.

HUNG, D. C.; JOHNSON, K. Effects of ionizing radiation on the growth and allyl isothiocyanate accumulation of *Wasabia japonica* *in vitro* and *ex vitro*. **In Vitro Cellular Developmental Biology -Plant** v. 44, p.51-58, 2008.

HUSSIN, G.; HARUN, A. R.; SHAMSUDIN, S. Study on mutagenesis of signal grass (*Brachiaria decumbens*) by gamma irradiation. Institute Haiwan Kluang; Malaysian Institute for Nuclear Technology Research (MINT). Disponível em: <https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/32/017/32017978.pdf?r=1&r=1> Acesso em: 05 de Setembro de 2019.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS -ICONTEC FRUTAS FRESCAS: Uchuva. Especificaciones. **Norma Técnica Colombiana NTC 4580**. Bogotá, 1999.

IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). Knudsen, H. **Directorio de colecciones de Germoplasma en America Latina y el Caribe**. Roma, 2000. 350 p.

JIANG, S. Y.; RAMACHANDRAN, S. Natural and artificial mutants as valuable resources for functional genomics and molecular breeding. **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 3, p. 228–251, 2010.

LAGOS, T. C.; VALLEJO, F.; CRIOLLO, H. Combining ability analysis of some fruit traits of *Physalis peruviana* L. **Agronomía Colombiana**, 25(1), p. 36-46. 2007.

LAGOS, T. C.; VALLEJO, F. A.; CRIOLLO, H.; MUÑOZ, J. E. (2008). Biología reproductiva de la uchuva. **Acta Agronómica**, 57, p. 81 – 88. 2008.

LATADO, R.R.; TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; IEMMA, A.F.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; PIO, R.M.; MACHADO, M.A.; NAMEKATA, T.; CERAVOLO, L.; ROSSI, A.C. Mutantes de laranja „Pêra“ com número reduzido de sementes, obtidos através de mutações induzidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, p.339-344, 2001.

LEITÃO, JM. **Chemical mutagenesis**. In Plant Mutation Breeding and Biotechnology, ed. Shu Q.Y., Forster B.P., and Nakagawa H., Gutenberg Press, Malta. p.135–158, , 2012.

LESSA, L.S.; LEDO, C.A.da S.; AMORIN, E.P.; SILVA, S. Correlação fenológica entre caracteres de híbridos diploides (AA) de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.4, p.1129-1134, 2012.

LIGARRETO, G.; M. LOBO, A. CORREA. Recursos genéticos del género *Physalis* en Colombia. pp. 9-27. In: FISCHER, G. D.; MIRANDA, W. P.; J. ROMERO (Ed.). **Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en Colombia**. Bogotá: Unibiblos, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, 2005. 222 p.

LIMA, C.S.M.; SEVERO, J.; MANICA-BERTO, R.; SILVA, J.A.; RUFATO, L; RUFATO, A.R. Características físico-químicas de *physalis* em diferentes colorações do cálice e sistemas de condução. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.4, p.1061-1068, 2009.

LÚCIO, A.D.C.; STORCK, L.; KRAUSE, W.; GONÇALVES, R.Q.; NIED, A.H. Relações entre os caracteres de maracujazeiro-azedo. **Ciência Rural**, v.43, p.225-232, 2013.

KE, C.; GUAN, W.; BU, S.; LI, X.; DENG, Y.; WEI, Z.; ZHENG, Y. Determination of absorption dose in chemical mutagenesis in plants. **PloS one**, v. 14, n. 1, p. e0210596, 2019.

KHURSHEED, S.; KHAN, S. Mutagenic effects of methyl methanesulphonate on the growth and yield characteristic in lentil (*Lens culinaris* Medik.) var. DPL-15. **Scholars Academic Journal of Biosciences**, v. 2, p. 943-7, 2014.

MAGA, TERKULA J.; UGURU, MICHAEL I.; OGBONNA, PETER E. Variability and Association Studies on Yield and Yield Characters in Aromatic Nsukka Yellow Pepper (*Capsicum annuum* L.). **International Journal of Plant Breeding**, v. 7, n. 2, p. 90-95, 2013.

MAHNA, S. K.; SINGH, D. Induced mutation in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). **Biologia Plantarum**, v. 24, n. 4, p. 307-310, 1982.

MARCOS FILHO J. **Dormência de sementes**. In: Marcos Filho J (Ed.). **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba, FEALQ. p.253-289, 2005.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. (2019). **Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC**. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_protégidas.php. Acesso: 15 agosto 2019.

MIRANDA, D. Criterios para el establecimiento, los sistemas de cultivo, el tutorado y la poda de la uchuva. In: . **Avances en cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L.** en Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, 2005. p. 29-54.

MEDINA, M. El cultivo de la uchuva tipo exportación. **Revista Agricultura Tropical**. Palmira, v.28, n.2, p.55-58, 1991.

MELO, R. D. C.; BOTREL, N.; MADEIRA, N.; AMARO, G.; AZEVEDO, U. D. S. Avaliação de acessos de fisális sob duas formas de condução de plantas em sistema agroecológico nas condições do Cerrado. **Embrapa Hortaliças-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2016.

MONTARDO, D. P.; AGNOL, M. D.; CRUSIUS, A. F.; PAIM, E. N. R. Análise de trilha para rendimento de sementes de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1076-1082, 2003.

MORGADO, M. A. D.; SANTOS, C. E. M.; HELOISA, L.; BRUCKNER, C. H. Correlações fenotípicas em características físico-químicas do maracujazeiro-azedo. **Acta Agronômica**, v. 59, n. 4, p. 457-461, 2010.

MORILLO-CORONADO, A. C.; GONZALEZ-CASTILLO, J. A.; MORILLO-CORONADO, Y. Caracterización de la diversidad genética de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en boyacá. **Rev.Bio.Agro, Popayán**, v. 16, n. 1, p. 26-33, June 2018.

MOSS, G. I. Effect of fruit on flowering in relation to biennial bearing in sweet orange (*Citrus sinensis*). **Journal of Horticultural Science**, v. 46, n. 2, p. 177-184, 1971.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. P.; T. R.; RUFATO, D ..; MACEDO, T. A. General aspects of physalis cultivation. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 6, p. 964-970, Jun. 2014.

MUNIZ, J.; MOLINA, A. R.; MUNIZ, J.. Physalis: Panorama produtivo e econômico no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 33, n. 2, p. 00, Jun. 2015.

NAHIYAN, A. S. M., RAHMAN, L., RAIYAN, S., MEHRAJ, H.; UDDIN, A. J. Selection of EMS Induced Tomato Variants Through Tilling for Point Mutation. **Bangladesh Research Publications Journal**, v. 10, n. 2, p. 214-222, 2014.

OLADOSU, Y.; RAFII, M. Y.; ABDULLAH, N.; HUSSIN, G.; RAMLI, A.; RAHIM, H. A.; USMAN, M. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 30, n. 1, p. 1-16, 2016.

OLIVEIRA, E. J D.; LIMA, D. S.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; DANTAS, J. L. L. Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 45, n. 8, p. 855-862, Aug. 2010.

OLMSTEAD, R.G. Phylogeny and biogeography in Solanaceae, Verbenaceae and Bignoniaceae: A comparison of continental and intercontinental diversification patterns. **Jornal de Botanica**. 80-102, 2013.

OSORIO-GUARÍN, J. A.; ENCISO-RODRÍGUEZ, F. E.; GONZÁLEZ, C.; FERNÁNDEZ-POZO, N.; MUELLER, L. A.; BARRERO, L. S. Association analysis for disease resistance to *Fusarium oxysporum* in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). **BMC genomics**, v. 17, n. 1, p. 248, 2016.

PANDYA, M. M.; PATEL, P. B.; NARWADE, A. V. A study on correlation and path analysis for seed yield and yield components in Sun flower (*Helianthus annuus* L.). **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 7, n. 1, p. 177-183, 2016.

PELÉ, A.: ROUSSEAU-GUEUTIN, M.; CHÈVRE, A. Speciation success of polyploid plants closely relates to the regulation of meiotic recombination. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 907, 2018.

PRATAP A.; KUMAR J. **Biology and breeding of food legumes**. CABI International, Hyderabad, 2011. p. 405.

PINO-NUNES, L. E.; DE O. FIGUEIRA, A. V.; TULMANN NETO, A.; ZSÖGÖN, A.; PIOTTO, F. A.; SILVA, J. A.; PERES, L. E. P. Induced mutagenesis and natural genetic variation in tomato'Micro-Tom'. In: **International Symposium on Tomato in the Tropics** 821. 2008. p. 63-72.

PREDIERI, S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.64, n.2-3, p.185-210, 2001.

PUENTE, L. A.; PINTO-MUÑOZ, C. A.; CASTRO, E. S.; CORTÉS, M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1733-1740, 2011.

RAMADAN, M. F. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1830-1836, 2011.

RANGASAMY, S. R. S.; RAMULU K S. A comparison of mutation induction in diploid and tetraploid rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Índia, v. 40, p. 312-315, 1970.

RODRIGUES, L. R. F.; ANDO, A. Caracterização e avaliação de três grupos de arroz-desequeiro de diferentes procedências por meio da sensitividade à radiação gama. **Bragantia**, Campinas, v.61, n.1, p.17-23, 2002

RODRÍGUEZ, N.C.; BUENO, M.L. Estudio de la diversidad citogenética de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae). **Acta Biologica Colombiana**, Bogotá, v.11, n.2, p.75-85, 2006.

SALLA, V.P.; DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; DONAZZOLO, J.; GIL, B.V. Análise de trilha em caracteres de frutos de jabuticabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.50, n.3, p.219-223, 2015.

SÁNCHEZ BETANCOURT, E. P.; MAYORGA CUBILLOS, F. G.; NAVAS ARBOLEDA, A. A.; GÓMEZ GIL, L. F.; ZARANTES, N.;MANUEL, V. **Corpoica Dorada: variedad de uchuva para Boyacá, Cundinamarca y Antioquia**. 2018.

SÁNCHEZ BETANCOURT, E. P., MAYORGA CUBILLOS, F. G., NAVAS ARBOLEDA, A. A., GÓMEZ GIL, L. F., ZARANTES, N., & MANUEL, V. **Corpoica andina: variedad de uchuva para Boyacá, Cundinamarca y Antioquia**. 2018.

SATO, M.; GAUL, H. Effect of ethyl methanesulfonate on the fertility of barley. **Radiation Botany**, v. 7, n. 1, p. 7-15, 1967.

SIMBAQUEBA, J.;SANCHEZ, P.; SANCHEZ, E.; ZARANTES, V. M. N.; CHACON, M. I.; BARRERO, L. S.; MARIÑO-RAMÍREZ, L. Development and characterization of microsatellite markers for the Cape gooseberry *Physalis peruviana*. **PloS one**, v. 6, n. 10, p. e26719, 2011.

SOARES, R. S.; DA SILVA, H. W.; DOS SANTOS CANDIDO, W.; VALE, L. S. R. Correlations and path analysis for fruit yield in pepper lines (*Capsicum chinense* L.). **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 2, p. 247-255, 2017.

TREVISANI, N.; MELO, R. C. D.; PIERRE, P. M. O.; COLLI, M. P.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F. Ploidy and DNA content of cape gooseberry populations grown in southern Brazil. **Caryologia**, v. 71, n. 4, p. 414-419, 2018.

TREVISANI, N.; MELO, R. C.; BERNARDY, J. P. F.; PIERRE, P. M. O.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F. Mutation induction as a strategy to overcome the restricted genetic base in Physalis. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 40, n. 3, e-029, 2018.

TREVISANI, N.; SCHMIT, R.; BECK, M.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J.L.M. Selection of fisális populations for hybridizations, based on fruit traits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.38, n.2, 2016.

TREVISANI, N.; SCHMIT, R; DE MELO, R. C.; MEIRELLES COIMBRA, J. L.; GUIDOLIN, A. F. GROWTH VARIATION IN REPRODUCTIVE STRUCTURES OF PHYSALIS POPULATIONS. **Interciencia**, v. 41, n. 7, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TULMANN NETO, A. **Genetic improvement of crops by mutation techniques in Brazil**. **Plant Mutation Reports**, v.2, n.3, p.24-37, 2011. Disponível em: Acesso em: 25 nov. 2012. ISSN 1011-2650.

UAUY C.; PARAISO F.; COLASUONNO P.; TRAN R.K., TSAI H., BERARDI S. A modified TILLING approach to detect induced mutations in tetraploid and hexaploid wheat. **BMC plant Biology**, v. 9, n. 1, p. 115, 2009.

VEASEY, E. ANN.; PIOTTO, F. A.; NASCIMENTO, W. F.; RODRIGUES, J. F.; MEZETTE, T. F.; BORGES, A.; BIGUZZI, F. A, DOS SANTOS.; F. R.L C.; SOBIERAJSKI, G. R.; RECCHIA, G. H.; MISTRO, J. C. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1218-1228, July 2011.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. Associação entre caracteres. In: VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1992. p. 335 – 434

VICCINI, L.; SARAIVA, L. S.; CRUZ, C. D. Resposta de sementes de milho à radiação gama em função do teor de água. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.1, p.1-7, 1999.

WANG, L.; ZHANG, B.; LI, J.; YANG, X.; REN, Z. Ethyl methanesulfonate (EMS)-mediated mutagenesis of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 08, p. 716, 2014.

WATSON, J.D.; BAKER, T.A.; BELL, S.P.; GANN, A., LENIVE, M.; LOSICK, R. **Molecular Biology of the gene 5th Edition**. San Francisco, Pearson CSHL Press. 732p. 2004.

WILF, P.; CARVALHO, M. R.; GANDOLFO, M. A.; CÚNEO, N. R. Eocene lantern fruits from Gondwanan Patagonia and the early origins of Solanaceae. **Science**, v. 355, n. 6320, p. 71-75, 2017.

WI, S. G.; CHUNG, B. Y.; KIM, J. S.; KIM, J. H.; BAEK, M. H.; LEE, J. W.; KIM, Y. S. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. **Micron**, v.38, n.6, p.553-564, 2007.

WRIGHT, S. Correlation and causation. **Journal Agricultural Research**, Washington, v.20, p.557-585, 1921.

XUE, C. B.; WANG, C.; FAN, L. X.; HAO, N.; ZOU, D. D.; ZHANG, Q.; WU, T. Ethylmethanesulfonate mutagenesis of cucumber for large-scale mutant screens. **Pakistan Journal of Botany**, v. 48, n. 6, p. 2261-2266, 2016.