

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
CURSO DE MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

JAQUELINE NOGUEIRA MUNIZ

MICROPROPAGAÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE *Physalis peruviana* E *Physalis alkekengi*

LAGES, SC

2013

JAQUELINE NOGUEIRA MUNIZ

**MICROPROPAGAÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE *Physalis peruviana* E *Physalis*
*alkekengi***

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadores: Prof. Dr. Leo Rufato
Pesquisadora: Dra. Joseane de Souza Hipólito
Co-orientador: Prof. Dra. Aike Anneliese Kretzschmar

LAGES – SC

2013

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Muniz, Jaqueline Nogueira

Micropropagação e aclimatização de *Physalis peruviana* e
Physalis

alkekengi. / Jaqueline Nogueira Muniz; orientador: Leo Rufato.

–

Lages, 2013.
61f.

Inclui referências.

Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1. Micropropagação. 2. *Physalis peruviana*. 3. *Physalis alkekengi*

I. Título.

CDD – 634

JAQUELINE NOGUEIRA MUNIZ

MICROPROPAGAÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE *Physalis peruviana* E *Physalis alkekengi*

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Banca Examinadora

Orientador:

Dr. Leo Rufato
CAV/UDESC

Co-orientador:

Dra. Aike Anneliese Kretschmar
CAV/UDESC

Membro:

Dra. Joseane de Souza Hipólito
CAV/UDESC

Membro:

Dra. Fedra Gidget Obeso Quijano Kruger
Instituto Federal de Santa Catarina – IFSC, Lages, SC.

Lages-SC, fevereiro de 2013

Aos meus queridos pais Deise e Carlos,
pelo amor e apoio incondicional dispensada
ao longo destes anos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus orientadores, Leo e Aike, pela confiança que depositaram sobre minha pessoa e sobre meu trabalho, que possibilitou que eu desse continuidade ao meu mestrado; também por todos os conselhos e aprendizados e sobretudo , pela amizade.

Aos meus pais, irmão e vó Nereyde agradeço todo o apoio, incentivo e amor incondicional durante estes anos. Vocês foram fundamentais em mais esta conquista.

Ao meu namorado, Luis Fernando, por continuar sempre ao meu lado dando o apoio necessário, atenção e amor nos momentos em que mais precisei.

Aos meus grandes amigos Alberto Ramos Luz, Bruno Dalazen Machado, José Luiz Marcon Filho e Joseane de Souza Hipólito pela amizade e companheirismo durante esta caminhada, por terem dividido comigo seus conhecimentos e grandes momentos que jamais esquecerei.

A todos os bons amigos do grupo da fruticultura, em especial aos bolsistas de graduação, que são e continuarão sendo nossos grandes parceiros em todos os experimentos. Obrigado pela amizade, parceria e por todos os momentos de aprendizados.

Aos novos integrantes do grupo da fruticultura, em especial ao amigo Ricardo Allebrandt pelo auxílio, paciência e amizade.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, aos funcionários e professores do Centro de Ciências Agroveterinárias que participaram de minha formação profissional e humana. Em especial aos professores que sobretudo se tornaram grandes amigos, pela confiança que depositaram sobre minha pessoa.

Sou grata a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização de mais um sonho em minha vida, a conclusão do mestrado.

A vocês minha admiração e gratidão.

RESUMO

MUNIZ, Jaqueline Nogueira. **Micropropagação e aclimatização de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi***. 2013. 61 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

O presente trabalho teve por objetivo estabelecer o desenvolvimento de um protocolo de propagação *in vitro* para as espécies *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Micropropagação, casa de vegetação e fitotron da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages-SC. O estabelecimento das plantas foi em meio MS com diferentes tempos de exposição dos explantes, segmentos nodais, ao álcool 70% (0 e 1 minuto) e hipoclorito de sódio 2,5% (10 e 15 minutos). Na fase de multiplicação foram realizados dois diferentes experimentos onde o primeiro consistia em adicionar ao meio MS concentrações diferentes de BAP (0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 e 1,8 mgL⁻¹) e dois tipos de vedação dos frascos (tampa plástica e alumínio). No segundo experimento testou-se o meio MS adicionado de 0,3 mg.L⁻¹ de 2ip e dois tipos de posição do explante segmento nodal no meio de cultura (vertical e horizontal). A aclimatização de plântulas foi realizada testando diferentes substratos; substrato comercial Tecnomax® (S), Tecnomax®+vermiculita (S+V), Tecnomax®+vermiculita+húmus (S+V+H), dois ambientes (fitotron e casa de vegetação) e o uso de cobertura plástica das bandejas em *Physalis alkekengi*. Para desinfestação de *Physalis peruviana* os tratamentos com a combinação de Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (10 min) e Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (15 min) foram os que possibilitaram a obtenção de uma maior quantidade de explantes livres de contaminação aliados a uma alta taxa de sobrevivência. Para a desinfestação de *Physalis alkekengi* o tratamento com NaClO 2,5% (15 min) foi eficiente para descontaminação dos explantes e sobrevivência dos mesmos após 28 dias de cultivo *in vitro*. Na multiplicação de *P. alkekengi* não houve diferença para os tratamentos testados em ambos os experimentos de multiplicação. Para *Physalis peruviana* o tipo de vedação não influenciou na multiplicação dos explantes. O maior número de folhas por explante foi obtido em meio MS com 1,2 mg.L⁻¹ de BAP e o maior comprimento de explantes foi obtido em meio MS acrescido de 0,3 mgL⁻¹ de BAP. O tratamento com 2ip não foi eficiente na multiplicação de *P. peruviana*. Para *Physalis peruviana* o uso de substrato Tecnomax® foi suficiente para obter bons resultados em todas as variáveis analisadas. O melhor substrato para aclimatização de *Physalis alkekengi* sem a cobertura das bandejas é o substrato comercial (Tecnomax®) e substrato comercial+vermiculita. As diferentes condições de cultivo não tiveram influência significativa ao nível de 5% de probabilidade de erro no desenvolvimento das mudas de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

Palavras-chave: Micropropagação. *Physalis peruviana*. *Physalis alkekengi*.

ABSTRACT

MUNIZ, Jaqueline Nogueira. **Micropropagation and acclimatization of *Physalis peruviana* and *Physalis alkekengi***. 2012. 61 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Áreas: Ciências Agrárias e Agronomia) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2012.

The objective of this study was to development of a protocol for in vitro propagation of the species *Physalis peruviana* and *Physalis alkekengi*. The experiments were conducted in Micropropagation laboratory, greenhouse and phytotron at the University of the State of Santa Catarina, Lages-SC. Plant establishment was on MS medium with different exposure times of explants, nodal segments, in alcohol 70% (0 and 1 minute) and sodium hypochlorite 2.5% (10 and 15 minutes). In the multiplication phase two different experiments where done, the first was to add to the MS different concentrations of BAP (0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 and 1.8 mg.L⁻¹) and two types of sealing bottles (plastic lid and aluminum). In the second experiment we tested the MS medium supplemented with 0.3 mg.L⁻¹ 2ip and two types of position of the nodal segment explant in culture medium (vertical and horizontal). The acclimatization of plantlets was performed testing different substrates; Tecnomax® commercial substrate (S), Tecnomax® + vermiculite (S + V), Tecnomax® vermiculite and humus (S + V + H), two environments (phytotron and greenhouse) and the plastic covering the trays in *Physalis alkekengi*. To *Physalis peruviana* disinfection treatments with the combination of Alcohol 70% (1min) + NaClO 2.5% (10 min) and Alcohol 70% (1min) + NaClO 2.5% (15 min) were the best combination to obtain a greater amount of explants free from contamination combined with a high survival rate. For disinfection of *Physalis alkekengi* treatment with NaClO 2.5% (15 min) was effective for decontamination of explants and the same survival after 28 days of *in vitro* culture. In the multiplication of *P. alkekengi* no difference for the treatments tested in both multiplication experiments. To *Physalis peruviana* type of seal did not influence the proliferation of explants. The highest number of leaves per explant was obtained on MS medium with 1.2 mg.L⁻¹ BAP and longest explant was obtained on MS medium supplemented with 0.3 mg.L⁻¹ BAP. 2ip treatment was not effective in the multiplication of *P. peruviana*. To *Physalis peruviana* the use of Tecnomax® substrate was sufficient to obtain good results in all variables evaluated. The best substrate for acclimatization of *Physalis alkekengi* coverage without the trays is the commercial substrate (Tecnomax®) and commercial substrate + vermiculite. The different culture conditions had no significant influence at 5% probability of error in seedling development of *Physalis peruviana* and *Physalis alkekengi*.

Key-words: Micropropagation. *Physalis peruviana*. *Physalis alkekengi*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Explantes de *Physalis peruviana*, provindos do tratamento com álcool 70% por 1 minuto, contaminados por fungos e bactérias aos 28 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012..... 28
- Figura 2 - Porcentagem de sobrevivência dos explantes de *P. peruviana* e *P. alkekengi*, após 28 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012..... 30
- Figura 3 - Explantes de *Physalis peruviana* (A) e *Physalis alkekengi* (B), estabelecidos aos 40 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012..... 31
- Figura 4 - Número de folhas por explante em plântulas de *Physalis peruviana*, cultivados em meio de cultura com diferentes tipos de vedação dos frascos. UDESC/CAV – Lages, 2013..... 39
- Figura 5 - Número médio de folhas por explante obtidos em plântulas de *Physalis peruviana*, em meio de cultura MS acrescido por diferentes concentrações de BAP. UDESC/CAV – Lages, 2013..... 40
- Figura 6 - Comprimento médio de brotações por explante de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS acrescido de diferentes concentrações de BAP. UDESC/CAV – Lages, 2013..... 41
- Figura 7 - Explantes de *Physalis alkekengi* submetidos ao em meio contendo MS + 1,2 mgL⁻¹ de BAP, com vedação em alumínio (esquerda) e vedação com tampa (direita). Lages, 2012..... 42
- Figura 8 - Comprimento médio de brotações (cm) por explante de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS e MS acrescido de 0,3 mgL⁻¹ de 2ip. UDESC/CAV – Lages, 2013..... 43
- Figura 9 - Número médio de folhas por explante obtidos de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS e MS acrescido de 0,3 mgL⁻¹ de 2ip. UDESC/CAV – Lages, 2013..... 43
- Figura 10 - Bandejas contendo plantas de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi* em fitotron, sob temperatura, iluminação e umidade controladas, Lages, 2012..... 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Tempo de exposição dos explantes aos agentes desinfestantes químicos utilizados no processo de assepsia na câmara de fluxo laminar de segmentos nodais de <i>P. peruviana</i> e <i>P. alkekengi</i>	26
Tabela 2 -	Porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação em explantes de <i>Physalis peruviana</i> , submetidos a diferentes tempos de imersão em álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5%, respectivamente. Lages, 2012.....	27
Tabela 3 -	Porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação em explantes de <i>Physalis alkekengi</i> , submetidos a diferentes tempos de imersão em álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5%, respectivamente.....	29
Tabela 4 -	Concentração da citocinina BAP no meio de cultura e tipo de vedação do frasco para multiplicação de explantes de <i>P. peruviana</i>	37
Tabela 5 -	Concentração da citocinina BAP no meio de cultura e tipo de vedação do frasco para multiplicação de explantes de <i>P. alkekengi</i>	37
Tabela 6 -	Composição do meio de cultura e posição de explantes de <i>P. peruviana</i> e <i>P. alkekengi</i> durante a inoculação no meio.....	38
Tabela 7 -	Número de brotos, número de folhas e comprimento de plântulas de <i>Physalis alkekengi</i> , cultivadas em meio de cultura com diferentes concentrações de 2iP e posição do explante. UDESC/CAV – Lages, 2013.....	44
Tabela 8 -	Porcentagem de sobrevivência de mudas de <i>P. peruviana</i> e <i>P. alkekengi</i> após 60 dias de aclimatização aclimatizadas sob diferentes condições de ambiente e cobertura (Lages, SC/2012).....	55
Tabela 9 -	Número de brotos, número de folhas, comprimento de raiz (comp. raíz) e comprimento da parte aérea (comp. planta) de <i>Physalis peruviana</i> , após 60 dias de aclimatização em três diferentes substratos sob diferentes condições de ambiente e cobertura (Lages, SC/2012).....	56
Tabela 10 -	Número de brotos, número de folhas, comprimento de raiz e comprimento da parte aérea de <i>Physalis alkekengi</i> , após 60 dias de aclimatização em três diferentes substratos sob diferentes condições de incubação. Lages, SC, 2012.....	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
1.1.1 <i>Physalis sp.</i>	13
1.1.2 <i>Physalis peruviana</i> L.....	13
1.1.3 <i>Physalis alkekengi</i> L.	14
1.1.4 Importância comercial.....	14
1.1.5 Importância medicinal.....	15
1.1.6 Micropropagação.....	16
1.1.7 Estágios da micropropagação.....	17
1.1.8 Hormônios vegetais.....	19
1.1.9 Citocininas.....	20
2 DESINFESTAÇÃO E ESTABELECIMENTO IN VITRO DE <i>Physalis peruviana</i> E <i>Physalis alkekengi</i>	22
2.1 RESUMO.....	22
2.2 ABSTRACT.....	22
2.3 INTRODUÇÃO.....	23
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
2.6 CONCLUSÕES.....	32
3 MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE <i>Physalis peruviana</i> E <i>Physalis alkekengi</i>....	33
3.1 RESUMO.....	33
3.2 ABSTRACT.....	33
3.3 INTRODUÇÃO.....	34

3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
3.6 CONCLUSÕES.....	44
4 SUBSTRATOS, ILUMINAÇÃO E COBERTURA NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE PHYSALIS.....	46
4.1 RESUMO.....	46
4.2 ABSTRACT.....	47
4.3 INTRODUÇÃO.....	48
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.6 CONCLUSÕES.....	53
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, devido a sua posição geográfica possui grande variedade climática e em consequência disto, podem ser cultivadas no país todas as fruteiras do clima A (quente e úmido), BS (semi-árido), C (temperado) e D (temperado-frio), conforme a classificação de Koeppen (GOMES, 2007).

A fruticultura contribui para a economia brasileira de quatro maneiras diferentes: como fonte de alimentação; geração de empregos - em média dois empregos diretos por hectare; gerador de divisas através da exportação de sucos de frutas; frutas frescas e secas e o alto valor da produção, superior a 10 milhões de reais anuais. Com uma produção de aproximadamente 40 milhões de toneladas anuais e uma área plantada em torno de 2,5 milhões de hectares, o Brasil ocupa a terceira posição no ranking mundial dos maiores produtores de frutas (EMBRAPA, 2008). O Brasil é um dos três maiores produtores de frutas tropicais do mundo. Sua produção superou 43 milhões de toneladas em 2008, o que representa 5% da produção mundial, ficando atrás apenas da China e da Índia (FAO, 2010).

No cenário da fruticultura de clima temperado, cerca de 50 % do total mundial de produção de frutas, em volume, é produzida por apenas 5 países, China, USA, Brasil, Itália e Espanha; sendo que a China detém 23% do total de produção (RETAMALES, 2011). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO/ONU), a produção mundial de frutas aumentou 26% entre a década passada e esta, levando em conta a média dos triênios de 1993/95 e 2003/2005. Este resultado foi alavancado pela mudança de hábitos da população que está consumindo alimentos mais saudáveis, ricos em vitaminas e sais minerais e também pelo aumento de renda da população (MAPA, 2009). Isto resultou na abertura de novos mercados consumidores e em uma maior rapidez nos meios de distribuição, permitindo a comercialização de um produto com melhor qualidade e preços atrativos (VITTI; BOTEON, 2008).

A fruticultura brasileira é reconhecida mundialmente por ser uma das mais diversificadas. As cadeias produtivas nacionais têm investido nos últimos anos na tecnificação de seus pomares e estruturas industriais, buscando a qualidade do produto final (REETZ et al., 2007).

Sabendo das vantagens que o país possui em relação às condições potenciais de área disponível e de diversidade de frutas, pesquisadores vêm

buscando novas cultivares através do melhoramento genético convencional e através da biotecnologia, sendo esta uma tecnologia onde é possível obter produção mais rápida, com plantas mais resistentes ao ataque de pragas e doenças e, em alguns casos, mais adequadas às exigências dos consumidores internos e externos (EMBRAPA, 2008). A muda de qualidade potencializa a resposta à tecnologia aplicada no pomar, auxiliando na redução de custos e na produção de frutas com alta qualidade (OLIVEIRA et al., 2004)

O cultivo de pequenas frutas no Brasil iniciou com a chegada dos alemães, que cultivavam principalmente morango e framboesa para consumo próprio (LEITZKE, 2007).

Nos últimos anos notou-se uma expressão significativa do interesse de produção de pequenas frutas no Brasil, decorrente disto, foi despertada a atenção de consumidores, processadores de frutas, agentes comercializadores e por consequência de produtores e comerciantes. Com exceção de algumas culturas, a inserção das pequenas frutas como atividade econômica no Brasil é ainda bastante principiante e inovadora (PAGOT; HOFFMANN, 2003). Este grupo de frutíferas apresenta em geral, cultivo com intensiva mão de obra, pequenas áreas, baixo índice de mecanização e colheita de forma escalonada, que as tornam típicas de cultivo para agricultura de base familiar. As regiões serranas, no entorno dos grandes centros de consumo, possuem vantagem na sua comercialização, principalmente para as regiões que recebem turistas, possibilitando assim a exploração do turismo rural e a comercialização de frutas frescas (PIO, 2008).

Segundo Rufato et al. (2008), a descoberta das propriedades nutracêuticas das pequenas frutas aumentou a procura do consumidor por estas frutas. Segundo Pio (2008), o cultivo de pequenas frutas oferece inúmeras oportunidades para a indústria caseira no preparo de geleias, doces, bolos, sucos e outros produtos e em escala industrial como polpas, frutos congelados, iogurte, sorvetes, etc.

Uma frutífera de grande valor nutricional e econômico que está sendo incorporada aos plantios de pequenas frutas é a *Physalis* (*Physalis peruviana*), a qual está sendo difundida gradativamente no mercado internacional.

A espécie caracteriza-se por produzir frutos açucarados e com um alto nível de ácido ascórbico ($36\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ polpa), ricos em também em vitamina A ($1730\text{UI}/100\text{g}^{-1}$ de polpa), ferro ($38\text{mg}/100 \text{g}^{-1}$ de polpa) e fósforo ($1,2\text{mg}/100 \text{g}^{-1}$ de polpa), além de serem atribuídas a esta espécie inúmeras propriedades medicinais

(LIMA et al., 2009). Também foi descrita sua atividade antioxidante, que é atribuída à atividade de enzimas e a compostos do metabolismo secundário como compostos fenólicos (ácido fenólico e flavonoides) e terpenóides (carotenos), além de vitaminas (C, E e A) (SEVERO et al., 2010).

No Brasil, esta solanácea é comercializada como fruta exótica, e tem um valor de comercialização de aproximadamente R\$35,00 Reais o quilograma (LIMA et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer protocolos de micropropagação para as espécies *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 *Physalis* sp.

O nome *Physalis* é oriundo do grego, onde “*physa*” significa bolha ou bexiga, referindo-se ao cálice que encerra seus frutos. O gênero *Physalis* pertence à família das Solanáceas e conta com mais de oitenta espécies, sendo algumas tóxicas. Este gênero ocupa lugar de destaque na família pela presença de metabólitos polioxigenados e vitaesteróides, e por incluir uma ampla variedade de plantas que são econômica e farmacologicamente importantes (TOMASSINI et al., 2000). O centro de origem da *Physalis* sp. é desconhecido, embora alguns pesquisadores acreditem que estas tenham sua procedência nos Andes (RUFATO et al. 2008).

1.1.2 *Physalis peruviana* L.

A *Physalis peruviana* L., conhecida também como uchuva ou goldenberry, apresenta a maioria das suas raízes fibrosas concentradas de 10 a 15 cm de profundidade. Seu sistema radicular é ramificado e se aprofunda de 50 a 80 cm. É uma planta arbustiva perene, com hábito de crescimento indeterminado que necessita de tutoramento, cresce a uma altura entre 1,5 a 2,0m. O ramo principal apresenta pilosidade e se bifurca naturalmente, depois de produzir de 8 a 12 nós, dando origem aos ramos produtivos de forma dicotômica (RUFATO et al., 2008).

Em cada um dos nós dos ramos produtivos desenvolvem-se duas folhas, uma gema vegetativa e uma gema floral. As folhas são pecioladas alternadas, raras

vezes aparecem opostas, solitárias e o limbo foliar geralmente ovado. As inflorescências geralmente são solitárias, com botões esféricos e ovóides, pubescentes. O cálice é formado por cinco sépalas e cobre completamente o fruto durante todo o seu desenvolvimento (RUFATO et al., 2008).

O fruto é uma baga globosa, contendo 100 a 300 sementes, seu desenvolvimento dura de 60 a 80 dias e, de acordo com as condições de crescimento, apresenta diâmetro entre 1,25 e 2,50cm e peso entre 4 e 10 g, sendo que estas características variam entre espécies (RUFATO et al., 2008).

1.1.3 *Physalis alkekengi* L.

Esta espécie é também conhecida como Alkekenge, Cabo groselha, Strawberry groundcherry e morango tomate; foi naturalizada na Grã – Bretanha. Possui como características físicas serem perenes, com altura entre 0,3m a 0,6m. Floresce em julho, sendo as flores hermafroditas e polinizadas por abelhas. A *P. alkekengi* prefere locais com luz, exige solos bem drenados e argilosos. Pode crescer em semi-sombra ou nenhuma sombra, requerendo para tanto um solo úmido (RUFATO et al., 2008).

Embora todas as partes da planta sejam consideradas venenosas, exceto o fruto quando maduro que podem ser consumidos crus ou cozidos, sendo rico em vitaminas. O fruto é uma baga com cerca de 17mm de diâmetro, com sabor agridoce. Cada fruto é coberto por uma cápsula para protegê-lo de parasitas e outros elementos, esta cápsula é tóxica e não deve ser consumida. Possui diversos usos medicinais, sendo os mais conhecidos para tratamento de doenças cutâneas e urinárias, e em distúrbios de rins e bexiga (RUFATO et al., 2008).

1.1.4 Importância comercial

Esta fruta começou a ter importância comercial na Colômbia, em 1985, e atualmente é comercializada na forma *in natura* e processada (RUFATO et al., 2008). Segundo a Corporación Colombiana Internacional (2000), a Colômbia é a maior produtora mundial, sendo que representa atualmente 45% do faturamento das exportações de fruta desse país, excluindo-se a banana.

Da planta de *Physalis* pode-se aproveitar desde a raiz até a fruta, inclusive o cálice que recobre a fruta, muito utilizado em arte floral. As raízes e folhas são comercializadas com fins medicinais e a fruta pode ser consumida fresca ou seca. Os produtos secundários da *Physalis* como geléias, bebidas lácteas, iogurtes, sorvetes, conservas e licores, são obtidos através do processamento do fruto.

O cultivo de *Physalis* constitui-se em uma excelente alternativa para o pequeno e médio produtor rural brasileiro, por ser uma planta rústica e de boa adaptação.

Através de técnicas como a micropropagação, o setor de mudas frutíferas tem obtido bons resultados na propagação massiva de plantas, possibilitando além do controle da produção de mudas, indivíduos de alta qualidade sanitária. Dessa forma, a micropropagação é uma excelente alternativa no setor de produção de mudas frutíferas, visto que a tendência para os próximos anos é de plantios adensados, com a utilização de um maior número de mudas por hectare (LEITZKE, 2007).

1.1.5 Importância medicinal

Entre as muitas doenças que afligem a população mundial, as que envolvem processos inflamatórios representam um grupo importante de doenças, tais como a artrite reumatóide, gota, asma ou distúrbios neurodegenerativos envolvendo reações inflamatórias, em alguns casos incapacitando o doente. Além disso, muitas outras doenças menores ocorrem diariamente envolvendo processos inflamatórios em resposta natural do corpo a um trauma físico e alergias. Conseqüentemente, existe uma grande necessidade de descobrir e desenvolver novos agentes anti-inflamatórios seguros e mais eficazes (Srinivasan et al., 2001; Choi; Hwang, 2003).

O uso de plantas medicinais ou seus componentes ativos é uma alternativa cada vez mais explorada e tem sido uma promessa para o tratamento de muitas doenças inflamatórias (SAUTEBIN, 2000; UKIL et al., 2007).

A *Physalis peruviana* é amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças tais como a malária, asma, hepatite, dermatite, diurético e reumatismo (Wu et al, 2004a). Sabe-se que indígenas da tribo Muthuvan e nativos Tamiliam, que residem em regiões de florestas Shola, ao Sul da Índia,

consomem via oral, a decocção concentrada de folhas de *Physalis peruviana* para cura de icterícia (KISHORE; SASIDHARAN, 2002).

Estudos demonstraram que o extrato etanólico de *Physalis peruviana* possui potentes atividades antioxidantes (Wu et al., 2005, Wu et al., 2006), que podem retardar o envelhecimento da pele, e efeitos anti-proliferativos sobre células de hepatoma (Hep G2), carcinoma de fígado humano; sendo reportado seu uso como anti-cancerígeno (Wu et al., 2004a, b).

Na Turquia a *P. alkekengi*, cresce no Sul, Norte e Anatólia Central (Baytop, 1978). Tem sido utilizada como diurético, antipirético e sedativo na medicina popular (Baytop, 1999).

A *Physalis alkekengi*, é usada na medicina chinesa como expectorante, diurético, antitussígeno, e agente de ocitocina. Seus frutos também são utilizados como uma droga, analgésico antibacteriana, e também tem sido reportados usos como contraceptivos na medicina popular (Vessal et al, 1991; Basey et al, 1992). Em trabalhos recentes descobriu-se que o extrato da planta bem como o isolado de fisalina-D possui uma atividade antibacteriana marcante contra, especialmente, bactérias gram-positivas (HELVACI et al, 2010).

Os cálices de *Physalis alkekengi* var. *franchetii* também têm sido amplamente utilizados na medicina tradicional chinesa. Plantas desta espécie são distribuídas abundantemente por toda a China, por serem conhecidamente uma rica fonte de esteróides que exibem uma variedade de atividades biológicas e desempenham um papel importante em vários processos da vida (HUANG, et al. 2011).

As fisalinas são os principais constituintes esteróides de *P. alkekengi* var. *franchetii*, e seus raros 13,14-seco-16,24-cycloergostane esqueletos foram anteriormente identificados por análises de raios-X cristalográficos (KAWAI et al., 1994). As fisalinas têm sido extensivamente estudada nos últimos 20 anos e são relatadas por terem leishmanicida (GUIMARÃES et al., 2009) imunomodulador (SOARES et al., 2003), anti-tumoral (MAGALHÃES et al., 2006) e atividades anti-inflamatória (VIEIRA et al., 2005).

1.1.6 Micropropagação

A micropropagação é definida como produção de clones ou cópias geneticamente idênticas a partir de partes de um vegetal. O termo foi utilizado pela

primeira vez em 1975 e passou a ser empregado para definir os processos de propagação vegetativa na cultura de tecidos vegetais.

A cultura de tecidos é uma técnica de cultivo de fragmentos vegetais ou de suas partes, denominados explantes, onde estes são assepticamente cultivados sob condições controladas de meio nutritivo, temperatura, umidade, luminosidade e irradiância. O estabelecimento de condições ótimas proporciona melhor crescimento das culturas e conseqüentemente vantagens econômicas (AMARAL;SILVA, 2003).

O cultivo de tecidos vegetais *in vitro* pode minimizar os efeitos de variação de fatores ambientais e permite um fácil acesso às fontes de metabólitos, independentemente de variações sazonais, localização geográfica e sem problemas de reprodutibilidade (BOTTA, et al., 2001). Uma vez estabelecido um protocolo de micropropagação para uma determinada espécie, o mesmo poderá ser reproduzido em qualquer lugar do mundo, desde que obedecido em sua totalidade.

Pinto e Lameira (2001, apud SOUZA, 2007), ressaltam que algumas vantagens do uso da micropropagação em relação aos sistemas convencionais são: incremento acelerado do número de plantas derivadas por genótipo para obtenção de metabólitos importantes; redução do tempo de multiplicação; maior controle sobre a sanidade do material propagado; intercâmbio de germoplasma; possibilidade de multiplicar rapidamente uma variedade da qual só existam poucos indivíduos. Todas estas vantagens fazem com que a micropropagação venha sendo cada vez mais usada para a produção de mudas comercialmente.

1.1.7 Estágios da micropropagação

A velocidade do desenvolvimento da tecnologia da cultura de tecidos foi acelerada pelos rápidos e excelentes resultados na produção massal de mudas.

Na década de setenta, quando a micropropagação ganhou grande impulso, Murashige (1974) apresentou o conceito de estágios de desenvolvimento no processo de propagação *in vitro*. Este esquema padrão divide-se em:

Estágio I- Seleção de explantes, desinfestação e cultura em meio nutritivo sob condições assépticas: Após os explantes serem separados da planta mãe, precisam ser submetidos a um tratamento de desinfestação que geralmente é feito com etanol e hipoclorito de sódio ou cálcio. Neste estágio é

induzido o crescimento do explante e estabelecido um meio nutritivo para a espécie escolhida.

Estágio II- Multiplicação do propágulo mediante sucessivas subculturas em meio próprio para a multiplicação: O principal objetivo da fase de multiplicação é produzir o maior número de propágulos possível, no menor espaço de tempo, com a menor taxa de multiplicação de explante para explante. Neste estágio a multiplicação pode ser direta ou indireta (através da fase de calo). A qualidade e a homogeneidade de explantes e das partes aéreas produzidas influenciará no sucesso do estágio de enraizamento (Estágio III).

Estágio III- Enraizamento: Este estágio tem como objetivo induzir a formação de raiz. O propágulo é cultivado em meio de cultura, na presença de auxinas visando à indução de primórdios radiculares. Esta fase é necessária, pois prepara as plantas para o transplante em solo, convertendo-as do estado heterotrófico para autotrófico.

Estágio IV- Aclimatização-Transferência para o ambiente natural (*in vivo*): As plântulas são removidas do estágio III e transplantadas com raiz para o substrato. São mantidas por alguns dias em umidade elevada e intensidade de luz reduzida e em seguida transferidas para baixa umidade e alta intensidade de luz.

Para obter-se êxito na micropropagação, vários fatores são determinantes, desde a escolha da planta matriz, seguindo-se até os estágios acima citados. Uma vez que cada espécie ou clone apresenta características únicas, determinadas por fatores genéticos, as necessidades para seu cultivo *in vitro* tendem a ser únicas. A capacidade de regeneração e o crescimento *in vitro* parecem estar associados não apenas ao genótipo, mas também à atividade fisiológica da planta matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos, sendo este outro importante fator a se analisar para o sucesso da micropropagação (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

1.1.8 Hormônios vegetais

Os reguladores de crescimento na cultura *in vitro* são adicionados para suprir as deficiências dos teores endógenos do próprio explante, estimulando respostas de interesse para diferenciação, crescimento, alongamento e multiplicação celular (GRATTAPAGLIA; MACHADO 1998).

Auxinas

A auxina é um dos principais agentes que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. No final do século XIX, as observações de Charles Darwin contribuíram decididamente para a descoberta das auxinas e após a publicação de suas idéias no livro *The Power of Movement in Plants*, em 1880, vários outros pesquisadores viriam a confirmar os resultados por ele obtidos.

O termo auxina origina-se do grego, significando crescer, e foi proposto por Fritz Went, o qual demonstrou em 1926, a presença de uma substância ativa na promoção do crescimento, isto é, um composto causador da curvatura dos coleótilos de gramíneas em direção à luz. Em 1946 foi isolado o ácido-indolil-3-acético (AIA), que desde então vem se mostrando a principal auxina das plantas superiores (MERCIER, 2004).

As auxinas desempenham importantes funções em quase todo o ciclo de vida da planta, como a divisão e expansão celular, desenvolvimento de tecidos vasculares e no processo de indução de raízes laterais, quando utilizadas em concentrações adequadas, nos tecidos ou células de cada espécie aptas a receberem estes estímulos (FRIML, 2003).

As aplicações exógenas das auxinas proporcionam maior porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN et al., 1997). As diferentes respostas das auxinas estão relacionadas com o órgão vegetal, sendo que o excesso pode provocar efeitos inibitórios ou deletérios para a planta (LJUNG et al., 2005). Outros processos fisiológicos controlados pelas auxinas são o fototropismo, a dominância apical, o gravitropismo, a diferenciação vascular e o desenvolvimento de flores e frutos. De modo geral, a auxina natural mais abundante é o AIA. A produção de AIA na planta está associada aos locais de rápidas divisões celulares, em especial nos meristemas apicais caulinares, bem

como em folhas jovens, frutos em desenvolvimento e sementes (MERCIER, 2004).

Uma das auxinas mais utilizadas na indução do enraizamento é o AIB (ácido indolbutírico) (BACHERLARD; 1963; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998, RADMANN et al., 2002), uma auxina sintética, que em associação com outras auxinas podem promover maior número de raízes do que isoladamente (HARTMANN; KESTER 1983).

As auxinas são os únicos reguladores de crescimento que aumentam consistentemente a formação de primórdios radiculares, pelo menos em tecidos que naturalmente apresentam certa predisposição ao enraizamento (HAISSIG 1972), contudo as respostas às auxinas não são universais (HARTMANN; KESTER 1983), ou seja, algumas espécies enraízam com dificuldade ou não enraízam, mesmo com a utilização deste tipo de regulador.

1.1.9 Citocininas

A primeira citocinina foi isolada por Carlos Miller em 1955, um colaborador de Folk Skoog, e denominada cinetina (MILLER, 1987 apud CAMLOH, 1993), pois promovia a citocinese, ou seja, a divisão celular. Em seguida, Skoog et al. (1965), propuseram o termo citocinina para compostos com atividade biológica igual a cinetina, ou seja, aqueles capazes de promover a citocinese em células vegetais (SKOOG et al., 1965). Uma definição equivalente foi proposta por HALL (1973 *apud* Kerbauy, 2004), como sendo substâncias que promovem o crescimento e a diferenciação em cultura de calo (aglomerado de células).

Embora a descoberta e a conceituação de citocinina tenham ocorrido a partir de uma substância artificial descoberta na década de 50, a primeira citocinina natural em plantas só foi isolada 20 anos mais tarde por David Letham, em um extrato de milho verde, denominando-a de zeatina (LETHAM, 1973). A zeatina é a citocinina natural mais abundante nas plantas. As citocininas são compostos que além de serem essenciais à citocinese, também promovem alterações na taxa metabólica, atividade enzimática, indução de formação de órgãos, quebra de dominância apical, mobilização de nutrientes orgânicos e inorgânicos, retardamento da senescência de tecidos e órgãos e formação de cloroplastos. Outro evento marcante controlado pelas citocininas é a

fotomorfogênese, o que sugere que o fotorreceptor envolvido nesse processo, o fitocromo, também seja um alvo primário dessa classe hormonal.

Além da divisão celular, as citocininas estão intimamente ligadas à diferenciação celular, sobretudo no processo de formação de gemas caulinares (PERES; KERBAUY, 2004). Estes autores ainda mencionam outros importantíssimos efeitos das citocininas, como a germinação de sementes, a formação de gemas caulinares, o desestiolamento, a quebra da dominância apical, a inibição da senescência, a interação planta - patógeno e ainda desempenham um papel indireto, não sendo o hormônio indutor, da indução floral.

As citocininas são sintetizadas no meristema apical da raiz e transportada para as outras partes do vegetal via xilema. De maneira semelhante às auxinas, as citocininas são comumente encontradas nas células na forma conjugada. A forma conjugada é também considerada fisiologicamente inativa, podendo ser encontrada associada com açúcares como glicose e ribose e raramente ligadas a nucleotídeos. A forma ribosídica é mais comumente encontrada no xilema e tem sido considerada como forma de transporte. Como outra forma de controle do nível endógeno de citocininas, a oxidação também ocorre com esta classe de hormônios, através da quebra da cadeia lateral pelas citocininas oxidase (PEREZ, 2004, apud STERN, 2007).

2 DESINFESTAÇÃO E ESTABELECIMENTO IN VITRO DE *Physalis peruviana* E *Physalis alkekengi*

2.1 RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar diferentes tempos de exposição dos explantes aos agentes desinfestantes, para as duas espécies de *Physalis*, visando o estabelecimento *in vitro*. Foram utilizados como fonte de explantes segmentos nodais de 1,5 cm, contendo uma gema e duas folhas, provindos de plantas-matrizes nas condições de fitotron para *P. peruviana* e estufa para *P. alkekengi*. Após 28 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se a porcentagem de contaminação bacteriana, contaminação fúngica, oxidação e sobrevivência, e com 40 dias de cultivo *in vitro* avaliou-se o estabelecimento. Para desinfestação de *Physalis peruviana* os tratamentos com a combinação de Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (10 min) e Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (15 min) foram os que possibilitaram a obtenção de uma maior quantidade de explantes livres de contaminação e oxidação aliados a uma alta taxa de sobrevivência. Para a desinfestação de *Physalis alkekengi* o tratamento com a NaClO 2,5% (15 min) foi o que possibilitou um maior número de explantes livres de contaminação, oxidação e a maior taxa de sobrevivência após 28 dias de cultivo *in vitro*.

Palavras - chave: Estabelecimento *in vitro*, cultura de tecidos vegetais, cultura do *Physalis*

2.2 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate different exposure times of explants in agents disinfectants, for both species of *Physalis*, with the objective to establish *in vitro*. Were used as source of explants nodal segments of 2.5 cm, with one bud and two leaves, stemmed from mother plants in the phytotron conditions to *P. peruviana* and greenhouse conditions for *P. alkekengi*. After 28 days of *in vitro* culture, we evaluated the percentage of bacterial contamination, fungal contamination, oxidation and survival, and after 40 days *in vitro* we evaluated the establishment. To *Physalis peruviana* disinfection treatments with the combination

of Alcohol 70% (1min) + NaClO 2.5% (10 min) and 70% Alcohol (1min) + NaClO 2.5% (15 min) were the ones that made possible to obtain a greater amount of explants free from contamination and oxidation along with a high survival rate. For the disinfection of *Physalis alkekengi* treatment with NaClO 2.5% (15 min) which was allowed a higher number of explants free from contamination, oxidation and higher survival rate after 28 days of in vitro culture.

Key-words: *In vitro* establishment, plant tissue culture, culture of *Physalis*

2.3 INTRODUÇÃO

A *Physalis* é um frutífera originária dos Andes e ocorre desde o México até o Peru. Pertence à família Solanaceae e ao gênero *Physalis* que conta com mais de oitenta espécies (FISCHER; ALMANZA, 2005).

Esta fruta começou a ter importância comercial na Colômbia em 1985, onde era comercializada *in natura* e processada. A *Physalis* é produzida comercialmente no Equador, África do Sul, Quênia, Zimbábue, Havaí, Índia, Malásia e na Colômbia (NOVOA et al., 2006). Seu cultivo tem se expandido em países tropicais e subtropicais. O Brasil, apesar de seu grande potencial, não apresenta produção significativa dessa fruta. Seu cultivo foi pioneiro em São Paulo, através da Estação Experimental Santa Luzia em 1999 (CHAVES, 2006), e atualmente vem sendo pesquisada também em cidades dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ANDRADE, 2008; FERREIRA, 2006).

A propagação de *Physalis* é feita comumente sexuadamente, através do uso de sementes, apesar de existir também a forma assexuada através do uso de estacas, ainda que seu enraizamento seja fraco (ALMANZA, 2000). Outra alternativa viável é a cultura de tecidos, por meio da micropropagação, com o intuito de obter plantas livres de vírus, geneticamente uniformes e em curto espaço de tempo (SANTOS; RASEIRA 1988). Com o avanço desta tecnologia, foram desenvolvidos diversos protocolos para as espécies frutíferas (ALMEIDA et al., 1997), assim o desenvolvimento de um protocolo específico para a cultura do *Physalis* torna-se necessário para a produção de mudas de qualidade em larga escala, possibilitando melhor acesso dos produtores.

No desenvolvimento de um protocolo de micropropagação, a primeira etapa a ser realizada é o estabelecimento *in vitro* da cultura. Em plantas herbáceas, como é o caso do *Physalis*, esta etapa costuma ser menos difícil do que em plantas lenhosas onde encontram-se maiores níveis de contaminações e oxidações.

A desinfestação, ou seja, a remoção dos contaminantes existentes na superfície do explante é um passo inevitável para o sucesso da cultura *in vitro* (CID ; TEIXEIRA, 2010). Na eliminação dos agentes contaminantes várias substâncias com ação germicida são utilizadas, sendo que as mais comuns são etanol e alvejantes comerciais à base de cloro (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), embora diferentes substâncias possam ser utilizadas para esta finalidade.

O teor de cloro ativo dos alvejantes utilizados varia de 2,0 à 2,5% e, geralmente, sua fonte é o hipoclorito de sódio (NaClO). Os hipocloritos são bastante empregados na limpeza superficial dos explantes por no geral serem oxidantes energéticos e facilmente removíveis pela água (CID ; TEIXEIRA, 2010). Em relação ao etanol, deve ser utilizado em concentração de 70%, pois concentrações superiores podem causar rápida desidratação dos tecidos (NIETSCHE, et al., 2006).

A concentração da solução desinfestante, a combinação dos princípios ativos e o tempo de exposição podem variar muito (MONTARROYOS, 2000), sendo necessária à adequação do protocolo de desinfestação de acordo com cada espécie, cultivar e do tecido a ser utilizado como fonte de explante.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes tempos de exposição dos explantes aos agentes desinfestantes, para as duas espécies de *Physalis*, visando o estabelecimento *in vitro*.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos na Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Lages, no período de 2011 a 2012.

A metodologia descrita a seguir é geral para todos os experimentos de estabelecimento, com informações específicas descritas, em separado, na metodologia individual a cada experimento.

As espécies estudadas foram *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

O material utilizado para o estabelecimento de *P. alkekengi* foi obtido de casa de vegetação e de *P. peruviana* de fitotron. Com o objetivo de reduzir a contaminação *in vitro*, todas as plantas matrizes receberam pré-tratamento com fungicida Benlate ($0,6\text{g.L}^{-1}$) e bactericida Frexus ($0,3\text{g.L}^{-1}$), em aplicação semanal.

No período de crescimento ativo das plantas, foram coletados ramos com 10-15 cm de comprimento da parte mais herbácea possível (ramos novos). Em laboratório, as folhas foram eliminadas, os ramos seccionados e lavados com água corrente durante 5 minutos, posteriormente com a ajuda de uma esponja, lavados com detergente neutro e novamente em água corrente. Após esta pré-desinfestação foram imersos em água destilada esterilizada e ali permaneceram até o momento da desinfestação.

Os explantes utilizados foram segmentos nodais com 1,5 cm de comprimento, que foram isolados em câmara de fluxo laminar e inoculados individualmente em tubos de ensaio, contendo 5 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE ; SKOOG, 1962), acrescido de 100 mg.L^{-1} de mioinositol, 30 g.L^{-1} de sacarose, 7 g.L^{-1} de ágar e o pH ajustado para 5,8 após a adição do ágar. Os meios foram autoclavados à temperatura de 121°C a $1,5\text{ atm}$, durante 20 minutos.

Após a inoculação os explantes foram levados para sala de incubação onde permaneceram sete dias no escuro a uma temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, visando diminuir a oxidação fenólica e posteriormente foram cultivados sob luz fluorescente de $20\text{ }\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Após 28 dias de cultivo *in vitro*, avaliou-se a porcentagem de contaminação bacteriana, contaminação fúngica, oxidação e sobrevivência, e com 40 dias de cultivo *in vitro* avaliou-se o estabelecimento. Para a avaliação da porcentagem de oxidação considerou-se os explantes que apresentavam coloração marrom ou preta, com ou sem exsudação no meio de cultura, sendo incluídos na avaliação, explantes mortos, não por oxidação, mas por outro fator. A sobrevivência foi considerada quando os explantes apresentavam coloração verde, e o estabelecimento com o aparecimento das primeiras folhas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos de dois tempos de imersão em etanol 70% (0 e 1 minuto) e três tempos de imersão em hipoclorito de sódio 2,5% (0; 5; 10 minutos), conforme Tabela 1; com cinco repetições por tratamento e dez explantes por unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de interação e ao teste de

média Tukey à 5% de significância. Os dados em porcentagem foram transformados para arco seno da raiz quadrada do valor expresso em porcentagem dividido por 100 ($\arcseno(\sqrt{x}/100)$).

Tabela 1 - Tempo de exposição dos explantes aos agentes desinfestantes químicos utilizados no processo de assepsia na câmara de fluxo laminar de segmentos nodais de *P. peruviana* e *P. alkekengi*

Tratamentos	Etanol 70%	NaClO 2,5%
T1	1 minuto	0
T2	0	15 minutos
T3	1 minuto	10 minutos
T4	1 minuto	15 minutos
T5	0	10 minutos

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos envolvendo diferentes tempos de exposição dos explantes ao hipoclorito de sódio 2,5% foram significativos a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.

A contaminação fúngica foi controlada nos tratamentos que possuíam a combinação de 1'álcool 70%+ NaClO 2,5% nos tempos de 15 e 10 minutos, diferindo significativamente do tratamento 1'álcool 70% sem a presença do hipoclorito de sódio (Tabela 2). Este resultado comprova a eficácia do hipoclorito de sódio 2,5% no combate à contaminação fúngica em explantes de *P. peruviana*. Não houve diferença significativa entre o uso ou não do álcool 70% para a taxa de contaminação fúngica em explantes de *P. peruviana*, entretanto os menores valores de contaminação foram encontrados quando o álcool 70% estava presente (Tabela 2).

Em relação à contaminação bacteriana, houve diferença significativa entre os tempos de exposição ao álcool 70% e os tempos de exposição ao hipoclorito de sódio 2,5%. A utilização de álcool 70% foi essencial para manter a baixa contaminação dos explantes por bactérias. A utilização de hipoclorito de sódio 2,5% por 15 minutos foi eficaz contra a contaminação bacteriana nos explantes de *P. peruviana* (Tabela 2).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados para obtenção de um baixo nível de oxidação dos explantes no meio de cultura (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação em explantes de *Physalis peruviana*, submetidos a diferentes tempos de imersão em álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5%, respectivamente. Lages, 2012.

Contaminação fúngica			
Álcool 70%			
NaClO 2,5%			
	0	10	15
1 minuto	83,3* Ba	12,45** Aa	4,15 Aa
0		24,95 Aa	20,77* Aa
Contaminação bacteriana			
Álcool 70%			
NaClO 2,5%			
	0	10	15
1 minuto	12,45 Aa	16,62 Ba	0,0 Aa
0		58,30* Bb	37,47 Bb
Oxidação			
Álcool 70%			
NaClO 2,5%			
	0	10	15
1 minuto	0,0 Aa	20,77 Aa	16,62 Aa
0		4,15 Aa	12,47 Aa
Média	29,1	25,0	10,8
C.V(%)	45,42	22,67	67,99

Letras maiúsculas iguais na coluna e letras minúsculas iguais na linha não diferem entre si.

* Valor significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey

** Valor significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey

O tratamento de desinfestação 1'álcool 70%+15' NaClO 2,5% foi o que proporcionou a menor taxa de contaminação bacteriana, fúngica e oxidação para explantes de *P. peruviana*, mostrando que para esta espécie é essencial a combinação destes dois agentes químicos para obter explantes livres ou com baixos índices de todos os tipos de contaminação.

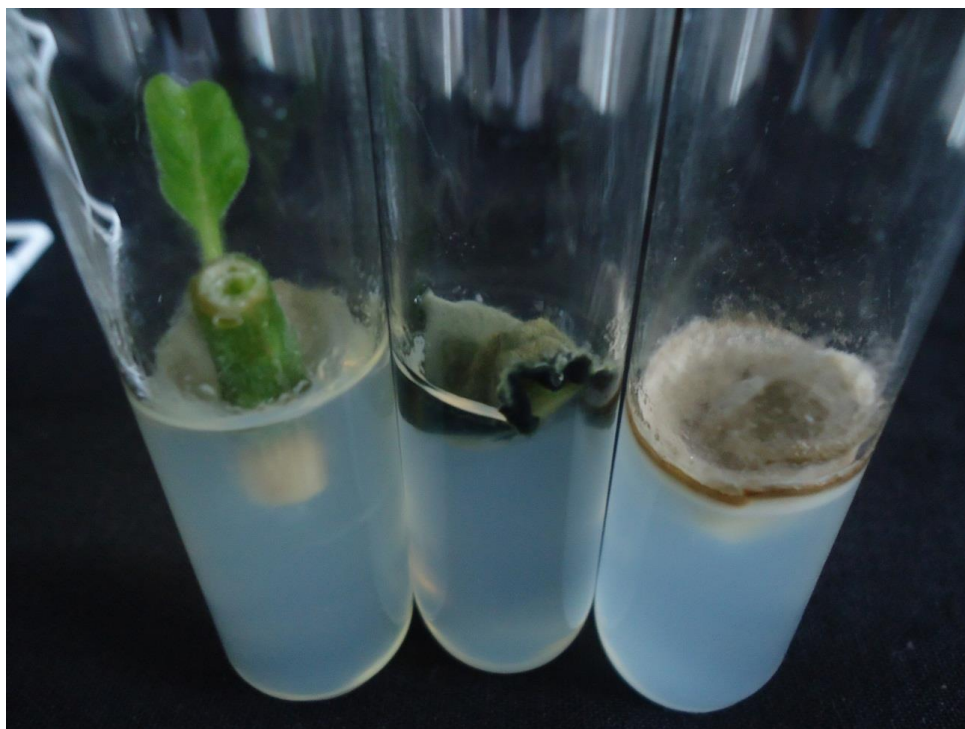


Figura 1 - Explantes de *Physalis peruviana*, provindos do tratamento com álcool 70% por 1 minuto, contaminados por fungos e bactérias aos 28 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012.

Na desinfestação de explantes de *Physalis alkekengi*, houve interação entre os agentes desinfestantes utilizados e o tempo de exposição dos explantes aos agentes desinfestantes.

Para a contaminação fúngica houve diferença significativa entre os agentes desinfestantes e o tempo de exposição ao mesmo. Os menores índices de contaminação fúngica foram obtidos quando os explantes ficaram 10 e 15 minutos em NaClO 2,5%, sem a presença de álcool 70% (Tabela 3).

A contaminação bacteriana em *P. alkekengi* foi alta, acima de 30% para todos os tratamentos em que foi utilizado o NaClO 2,5%. O único tratamento eficaz para o controle da contaminação foi a imersão em álcool 70% durante 1 minuto, sem a adição posterior dos explantes ao NaClO 2,5%. Não houve diferença significativa para os tempos de exposição ao álcool 70% (Tabela 3).

Não houve diferença significativa dos tratamentos em relação à porcentagem de oxidação dos explantes (Tabela 3).

Tabela 3 - Porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação em explantes de *Physalis alkekengi*, submetidos a diferentes tempos de imersão em álcool 70% e hipoclorito de sódio 2,5%, respectivamente.

Contaminação fúngica			
Álcool 70%	NaClO 2,5%		
	0	10	15
1 minuto	83,30 Bb	16,60 Ab	8,32 Ab
0		8,32 Aa	12,45 Aa
Contaminação bacteriana			
Álcool 70%	NaClO 2,5%		
	0	10	15
1 minuto	12,45 Aa	58,30 Ba	49,97 Ba
0		49,97 Ba	37,47 Ba
Oxidação			
Álcool 70%	NaClO 2,5%		
	0	10	15
1 minuto	0,0 Aa	24,97 Ba	12,45 ABa
0		12,45 Ba	4,15 ABa
Média	25,8*	41,6*	10,8*
C.V.(%)	36,24	36,24	87,20

Letras maiúsculas iguais na coluna e letras minúsculas iguais na linha não diferem entre si.

* Valor significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

** Valor significativo a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey

Assim como em *P. peruviana*, Garcia et al. (2008) em trabalho realizado com uvaia *Eugenia pyriformis*, variedade uvalha, concluíram que a desinfestação por 15 minutos em hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% de cloro ativo, é mais eficiente no controle da contaminação fúngica e bacteriana e não interfere no desenvolvimento das folhas, gemas e brotações, além de apresentar menos oxidação.

Souza et al. (2006) observaram que explantes caulinares de goiabeira serrana e pintangueira podem ser desinfestados usando a menor concentração de hipoclorito de sódio (1,5% a 2,5%) e no menor tempo de exposição ao produto (10 minutos). Ambas as espécies são lenhosas, e geralmente espécies lenhosas tendem a ter um maior índice de contaminação do que as espécies herbáceas, estudadas neste trabalho, por tanto é possível observar com estes dados que as concentrações de hipoclorito utilizadas e o tempo de exposição aos agentes químicos testados neste trabalho, estão de acordo com outros experimentos encontrados na literatura que mostram seu alto poder de descontaminação de explantes, inclusive de espécies lenhosas.

Apesar de simples, a escolha errada do método de desinfestação dos explantes pode prejudicar etapas essenciais para o estabelecimento e condução de cultivo *in vitro* de explantes vegetais, como a germinação de sementes e desenvolvimento de explantes (BARRUETO; ZIMMERMANN, 2006).

Moraes *et al.* (2007) testou diferentes concentrações e tempos de exposição de explantes de abacaxizeiro ao hipoclorito de sódio e concluiu que as concentrações de 2, 3 e 4% de NaClO reduzem substancialmente a contaminação de gemas axilares de abacaxizeiro, entretanto quando maior a concentração e o tempo de exposição ao hipoclorito de sódio, menor era a sobrevivência dos explantes.

A porcentagem de sobrevivência dos explantes de *P. peruviana* (79%) foi maior quando submetidos ao tratamento T4 (1 minuto em álcool 70% e 15 minutos em NaClO 2,5%), entretanto não houve diferença significativa em relação a sobrevivência com T3 (1 minuto em álcool 70% e 10 minutos em NaClO 2,5%), onde 50% dos explantes sobreviveram. Em *P. alkekengi* a maior porcentagem de sobrevivência (46%) dos explantes ocorreu no tratamento T2 (Hipoclorito de sódio 2,5% por 15 minutos) (Figura 2).

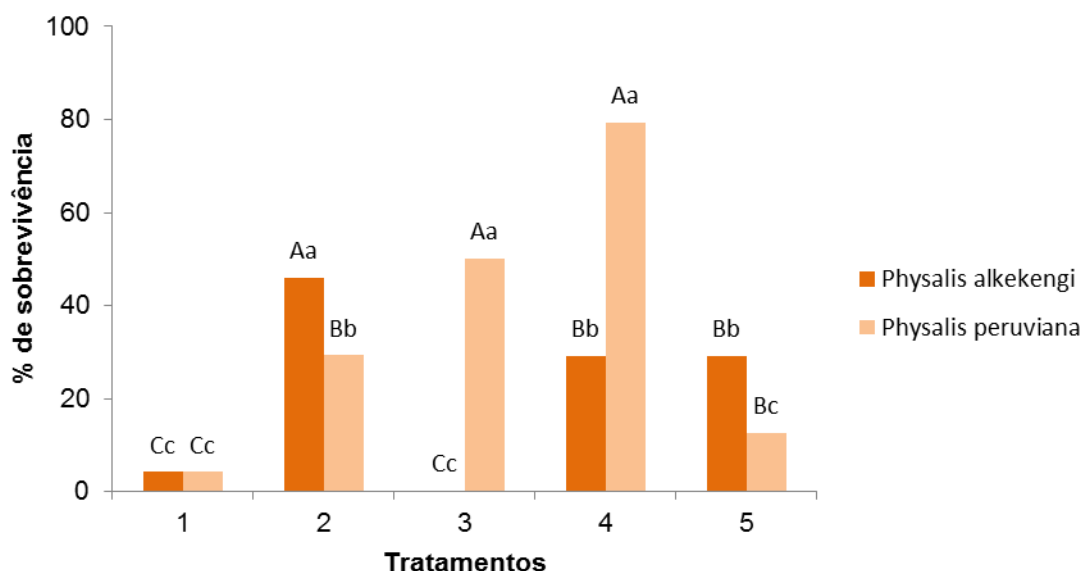


Figura 2 - Porcentagem de sobrevivência dos explantes de *P. peruviana* e *P. alkekengi*, após 28 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012.

Oliveira & Nino (2009) utilizaram o hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos na desinfestação *in vitro* de quatro cultivares de framboeseira e, observaram que na

fase de estabelecimento *in vitro*, as cultivares Autumn Bliss e Heritage apresentaram as maiores porcentagens de explantes vivos, respectivamente de 97% e 84%.

De acordo com Eirg & Schuch (2005) a concentração e o tempo de exposição aos desinfestantes dependem do material vegetal pois diferentes partes da planta apresentam respostas variadas quanto à sensibilidade dos tecidos. Uma desinfestação eficiente elimina os microrganismos e não causa danos ou morte aos tecidos.

Todos os explantes sobreviventes aos 28 dias (Figura 1) se estabeleceram aos 40 dias de cultivo *in vitro* (Figura 3).

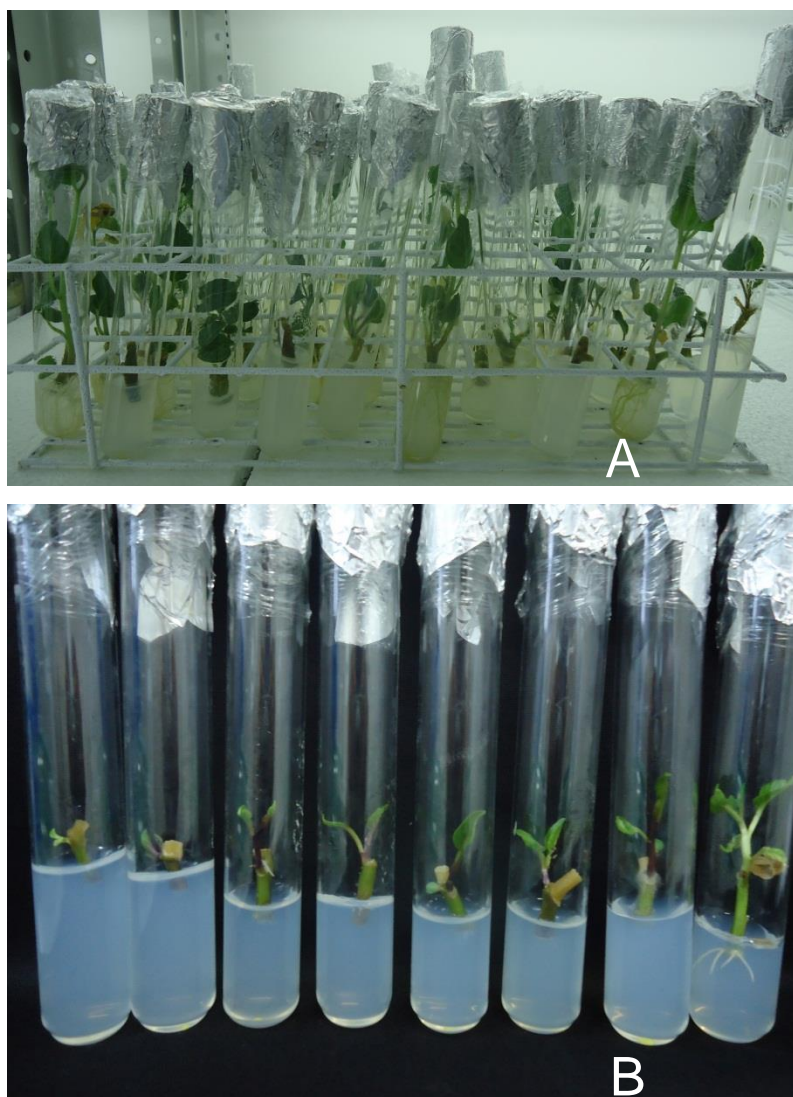


Figura 3 - Explantes de *Physalis peruviana* (A) e *Physalis alkekengi* (B), estabelecidos aos 40 dias de cultivo *in vitro*. Lages, 2012.

2.6 CONCLUSÕES

Para desinfestação de *Physalis peruviana* os tratamentos com a combinação de Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (10 min) e Álcool 70% (1min) + NaClO 2,5% (15 min) foram os que possibilitaram a obtenção de uma maior quantidade de explantes livres de contaminação e oxidação aliados a uma alta taxa de sobrevivência.

Para a desinfestação de *Physalis alkekengi* o tratamento com a NaClO 2,5% (15 min) foi o que possibilitou um maior número de explantes livres de contaminação, oxidação e a maior taxa de sobrevivência após 28 dias de cultivo *in vitro*.

3 MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Physalis peruviana* E *Physalis alkekengi*

3.1 RESUMO

Objetivou-se determinar a concentração ideal da citocinina BAP, avaliar a orientação do explante, vertical ou horizontal no meio de cultura e a melhor vedação dos frascos (tampa plástica ou alumínio) para a multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*. O meio de cultura utilizado foi o MS suplementado com mioinositol (100 mg.L^{-1}), sacarose (30 g.L^{-1}), ágar (7 g.L^{-1}) e pH 5,8. Segmentos nodais de 1,5 cm e uma gema sem folhas foram utilizados como explantes. Após a inoculação, os frascos com os explantes foram incubados a 16 horas de fotoperíodo, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com radiação de $25 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Após 45 dias, avaliaram-se número médio de brotações por explante, comprimento médio das brotações (cm) e o número de folhas. O tipo de vedação não influenciou significativamente na multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana*, entretanto foi possível observar o efeito principal de BAP sobre as plântulas. Na concentração de $1,2 \text{ mg.L}^{-1}$ aumentam o número de folhas e na concentração de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ proporcionam maior comprimento de explantes. O tipo de vedação e as diferentes concentrações de BAP utilizadas não influenciaram significativamente na multiplicação *in vitro* de *Physalis alkekengi*. O meio MS proporcionou maior número de folhas e maior comprimento de plantas em *Physalis peruviana*, entretanto não foi eficiente para multiplicação da espécie. A multiplicação *in vitro* de *Physalis alkekengi*, não foi influenciada pelos tratamentos utilizados no presente experimento necessitando maior estudo para promover a multiplicação *in vitro* desta espécie.

Palavras - chave: Micropropagação, cultura de tecidos, *Physalis peruviana*, *Physalis alkekengi*.

3.2 ABSTRACT

The objective of this study was to determine the optimal concentration of BAP, assess the orientation of the explant, vertical or horizontal, in the culture medium and the best sealing of the bottles (plastic lid or aluminum) for *in vitro* multiplication of *Physalis peruviana* and *Physalis alkekengi*. The culture medium used was

supplemented with mio-inositol (100 mg.L⁻¹), sucrose (30 g.L⁻¹), agar (7 g L⁻¹) at pH 5.8. Nodal segments 1.5 cm without leaves and one bud were used as explants. After inoculation, the flasks with the explantes were incubated at 16 hours of photoperiod at a temperature of 25 ± 2 ° C, with radiation 25 μ moles.m⁻².s⁻¹. After 45 days, were average number of shoots per explant, length of shoots (cm) and number of leaves. The type of fence did not affect significantly the *in vitro* multiplication of *Physalis peruviana*, However it was possible to observe the main effect of BAP on the seedlings. At the concentration 1.2 mg.L⁻¹ BAP, increase the number of sheets and at concentration of 0.3 mg.L⁻¹ provide increased length explants. The type of fence and different concentrations of BAP used did not significantly affect the *in vitro* multiplication of *Physalis alkekengi*. The MS medium provided greater number of leaves and length of plants in *Physalis peruviana*, however was not efficient for multiplication of the species. The *in vitro* multiplication of *Physalis alkekengi*, was not influenced by the treatments used in this experiment requiring further study to promote the *in vitro* multiplication of this species.

Key-words: Micropropagation, *tissue culture*, *Physalis peruviana*, *Physalis alkekengi*.

3.3 INTRODUÇÃO

Segundo Murashige (1974), a etapa de multiplicação corresponde ao alongamento do caule e a multiplicação do explante. Como o próprio nome sugere, é nesta etapa que se pode obter o maior número possível de plantas, através de subcultivos sucessivos dos explantes, em um curto espaço de tempo. Entretanto, de acordo com Gratapaglia & Machado (1998), nesta fase é importante obter uma taxa média satisfatória com o mínimo de variação de um explante para o outro, e também manter a qualidade e homogeneidade das partes aéreas, pois estas influenciarão na etapa de enraizamento.

Para dar início a esta fase, se faz necessária à transferência do explante para um meio de cultura adicionado de reguladores vegetais. Nesta fase, geralmente utiliza-se o mesmo meio de cultura básico da fase de estabelecimento, com algumas modificações, geralmente na composição de macronutrientes e adição de reguladores de crescimento (SANTOS-SEREJO et.al., 2006).

As citocininas tem a função de promover a divisão celular, e na cultura de tecidos em geral, são usadas para promover a indução de brotos adventícios a partir de calos ou para induzir multibrotação a partir de gemas axilares ou apicais (BARRUETO et al., 1994). São também responsáveis pela quebra da dominância apical, sendo seu uso portanto indispensável na multiplicação (MOK et al., 2000).

Das citocininas comercialmente disponíveis, o BAP (6-benzilaminopurina) é a que em geral apresenta melhores resultados na etapa de multiplicação. Para Souza et al. (2006), a razão da eficiência do BAP pode estar relacionada à capacidade dos tecidos vegetais em metabolizarem reguladores de crescimento naturais mais rapidamente que os sintéticos.

Hu & Wang (1983) estudaram a frequência de utilização de cada citocinina em meios de isolamento para cerca de 100 espécies, e verificaram que o BAP é utilizado em 68% dos meios, a cinetina 23% e o 2iP, zeatina e o SD8339 em 9%. As concentrações utilizadas variam de acordo com a espécie, cultivar e tipo de explante. Em explantes menores como meristemas e ápices caulinares pequenos utilizam-se meios na ordem de décimos de concentração de citocinina, já para segmentos nodais e apicais são utilizados maiores concentrações (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Sheeba et al. (2010), em experimentos com *Physalis mínima*, em explantes provindos de segmentos nodais, obteve boa resposta com 2mg.L^{-1} de BAP em meio MS, resultando em $19,0 \pm 8,59$ brotos desenvolvidos, já Farhana Afroz et al. (2009), também em experimentos realizados com *Physalis mínima*, obteve o maior número de brotações quando os segmentos nodais foram cultivados em meio MS suplementado com $1,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP. O mesmo resultado foi encontrado por Ramasubbu (2009), trabalhando com as espécies medicinais *Pedaliium murex* e *Physalis angulata*, onde obteve as maiores brotações com comprimentos variando de $12,71 \pm 1,32\text{mm}$ e $11,27 \pm 0,87\text{mm}$ respectivamente. Em *Solanum trilobatum*, outra importante planta medicinal da mesma família do *Physalis*, Arockiasamy et al. (2002), obteve melhores resultados de indução de brotação com a combinação de 5mg.L^{-1} de BAP + $0,5\text{mg.L}^{-1}$ AIA.

Além da adição de reguladores de crescimento, outros tratamentos podem ser empregados para estimular uma maior proliferação de brotações. De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), o tipo de tampa utilizado tem grande influência no desenvolvimento da cultura, pois ela é que vai determinar o nível de trocas

gasosas com o ambiente externo. De acordo com Souza et al. (1999), o tipo de vedação dos frascos, além de interferir na passagem de luz para o interior dos frascos, altera a interceptação de luz pelos explantes, sua capacidade de transpiração e, devido à retenção de água, a quantidade de massa fresca.

Estudos com diferentes espécies tem demonstrado que a posição de inoculação do explante no meio de cultura também exerce influência no número médio de brotações, devido principalmente à quebra da dominância apical quando este é inoculado horizontalmente (PEREIRA et al., 2006, ERIG; SCHUCH, 2002).

Este trabalho foi realizado a fim de determinar a concentração ideal da citocinina BAP, a posição do explante no meio de cultura e a melhor vedação dos frascos para multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Lages, no período de 2011 a 2012.

A partir do estabelecimento *in vitro*, procedeu-se aos trabalhos de multiplicação, os quais foram conduzidos em três experimentos, conforme segue:

a) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos multiplicação de *Physalis peruviana*

Segmentos nodais com 1,5 cm contendo uma gema e sem folhas, oriundos da fase de estabelecimento *in vitro*, foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE ; SKOOG, 1962), suplementado com mioinositol (100 mg.L^{-1}), sacarose (30 g.L^{-1}), ágar (7 g.L^{-1}) e pH 5,8. A este foram adicionados concentrações de 0,3; 0,6; 0,9; $1,2 \text{ mg.L}^{-1}$ da citocinina BAP, e a vedação dos frascos foi realizada utilizando-se tampas de alumínio e plástica, totalizando 8 tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentração da citocinina BAP no meio de cultura e tipo de vedação do frasco para multiplicação de explantes de *P. peruviana*

Tratamentos	[] BAP (mg.L ⁻¹)	Tipo de vedação
T1	0,3	Alumínio
T2	0,6	Alumínio
T3	0,9	Alumínio
T4	1,2	Alumínio
T5	0,3	Tampa
T6	0,6	Tampa
T7	0,9	Tampa
T8	1,2	Tampa

b) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos na multiplicação de *Physalis alkekengi*

Com a finalidade de aumentar a proliferação *in vitro* e devido a maior disponibilidades de explantes, segmentos nodais de 1,5 cm foram inoculados em meio de cultura MS acrescido das concentrações de 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8 mg.L⁻¹ da citocinina BAP e dois tipos de vedação de frascos (alumínio e tampa plástica), totalizando 14 tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentração da citocinina BAP no meio de cultura e tipo de vedação do frasco para multiplicação de explantes de *P. alkekengi*

Tratamentos	[] BAP (mg.L ⁻¹)	Tipo de vedação
T1	0,3	Alumínio
T2	0,6	Alumínio
T3	0,9	Alumínio
T4	1,2	Alumínio
T5	1,5	Alumínio
T6	1,8	Alumínio
T7	0,3	Tampa
T8	0,6	Tampa
T9	0,9	Tampa
T10	1,2	Tampa
T11	1,5	Tampa
T12	1,8	Tampa

c) Diferentes concentrações de 2iP e posição do explante no meio de cultura, na multiplicação de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*

Brotações com 1,5 cm, oriundas da fase estabelecimento *in vitro*, foram inoculadas em meio MS suplementado com 100 mg.L⁻¹ de mioinositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 7 g.L⁻¹ de ágar, com pH 5,8. Foi testado a citocinina 2iP nas

concentrações de 0,0 e 0,3 mg.L⁻¹ e dois tipos de posição do explante no meio de cultura (horizontal e vertical), totalizando quatro tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6 - Composição do meio de cultura e posição de explantes de *P. peruviana* e *P. alkekengi* durante a inoculação no meio

Tratamentos	Meio de cultura	Posição do explante
T1	MS	Vertical
T2	MS	Horizontal
T3	MS + 0,3 2ip	Vertical
T4	MS + 0,3 2ip	Horizontal

Em seguida da inoculação, para todos os experimentos, os explantes foram transferidos para sala de crescimento e cultivados sob luz fluorescente com densidade de fluxo luminoso de 20 $\mu\text{E.m}^{-2} .\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C.

Após 45 dias, avaliaram-se número médio de brotações por explante, comprimento médio das brotações (cm) e o número de folhas.

O delineamento experimental adotado para todos os experimentos foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por um frasco com cinco explantes. Os dados do primeiro (a) e segundo experimento (b) foram avaliados em esquema fatorial, com dois níveis de fator (tampas de alumínio e plástica) e quatro e seis níveis do fator concentração de BAP, respectivamente. O terceiro experimento (c) foi avaliado também no esquema fatorial, sendo a presença de 2iP e posição do explante no meio de cultura MS. Os dados foram avaliados por métodos clássicos de análise da variância e a comparação de médias pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$) para o tipo de vedação dos frascos e posição do explante, e regressão polinomial para o fator concentração, sendo todas as análises efetuadas com o programa SAS.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos multiplicação de *Physalis peruviana*

Através da análise de variância, não foi observada diferença significativa dos tratamentos para a variável número de brotos.

Para a variável número de folhas não houve interação entre os tratamentos utilizados, entretanto observou-se efeito principal de vedação e doses de BAP (Figura 4).

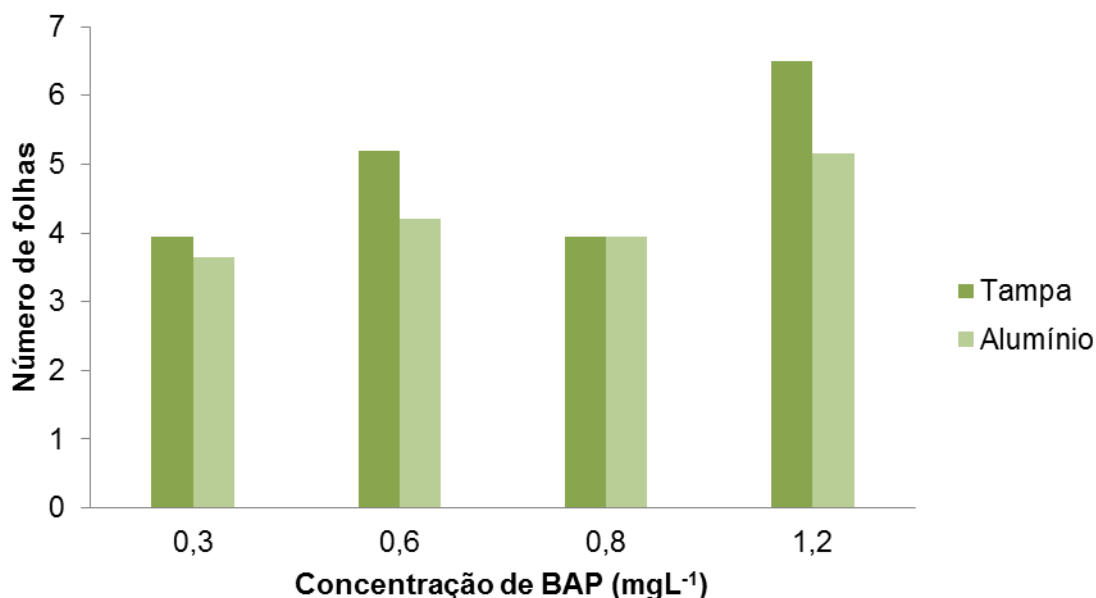


Figura 4 - Número de folhas por explante em plântulas de *Physalis peruviana*, cultivados em meio de cultura com diferentes tipos de vedação dos frascos. UDESC/CAV – Lages, 2013.

Independentemente da tampa utilizada para a vedação dos frascos, aumentando-se as doses de BAP aumentam o número de folhas dentro dos intervalos utilizados neste estudo. O maior número de folhas por explante foi obtido em meio MS com 1,2 mg.L⁻¹ de BAP (Figura 5). Para algumas espécies de plantas, a presença de folhas proporciona melhorias nas respostas organogênicas *in vitro*, por tratar-se de uma fonte de hormônios para o explantes (Mercier *et al.*, 2003), sendo assim, quando maior o número de folhas, maior a taxa de multiplicação das plântulas *in vitro*.

Leitzke (2007) observou um aumento no número de folhas em explantes de amoreira preta cv. Xavante com o aumento das concentrações de BAP até a concentração de 13µM. Resultados semelhantes foram também encontrados por Blank *et al.* (2008) com a espécie *Lippia sidoides* que apresentou maior número de folhas na concentração de 4 mg.L⁻¹ de BAP. Por outro lado, Asmar *et al.* (2012) observou na espécie *Lippia alba*, que o maior número de folhas (64) foi observado

na ausência de BAP, sendo que o aumento na concentração desta citocinina promoveu decréscimo na quantidade de folhas formadas. Também, Villa et al. (2005), trabalhando com amoreira-preta, observaram queda no número de folhas com aumento das concentrações de BAP. Isso pode ser atribuído ao fato de este regulador de crescimento estimular a formação de maior número de brotos, porém, de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

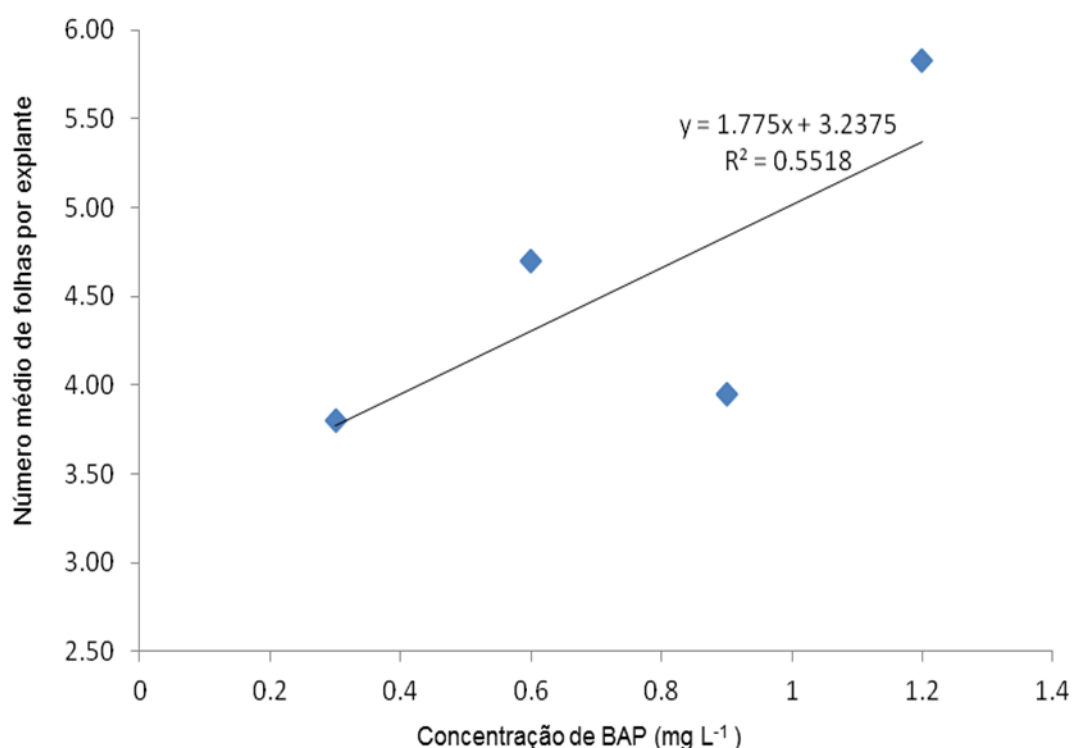


Figura 5 – Número médio de folhas por explante obtidos em plântulas de *Physalis peruviana*, em meio de cultura MS acrescido por diferentes concentrações de BAP. UDESC/CAV – Lages, 2013.

Para a variável comprimento médio de brotações observou-se que o coeficiente angular foi significativo ao nível de 5% de probabilidade, para diferentes doses de BAP, observando-se através dos resultados que o comprimento das plântulas diminui à medida que as doses de citocinina BAP aumentam (Figura 6). Para esta mesma variável não se observou significância para os diferentes tipos de vedação dos frascos e para a interação entre os tratamentos.

O maior comprimento de explantes (2,35) foi obtido com 0,3 mg.L⁻¹ de BAP no meio MS, no entanto, o aumento nas concentrações desta citocinina reduziu significativamente o comprimento das brotações. O efeito inibitório do BAP sobre a

altura de brotos já foi reportada na multiplicação *in vitro* de macela (DINIZ et al., 2003), de videira (LUCAS et al., 2006) e de *Lippia alba* (ASMAR et al., 2012). Esses resultados podem estar relacionados ao fato deste regulador de crescimento não ser responsável em promover o alongamento de brotações.

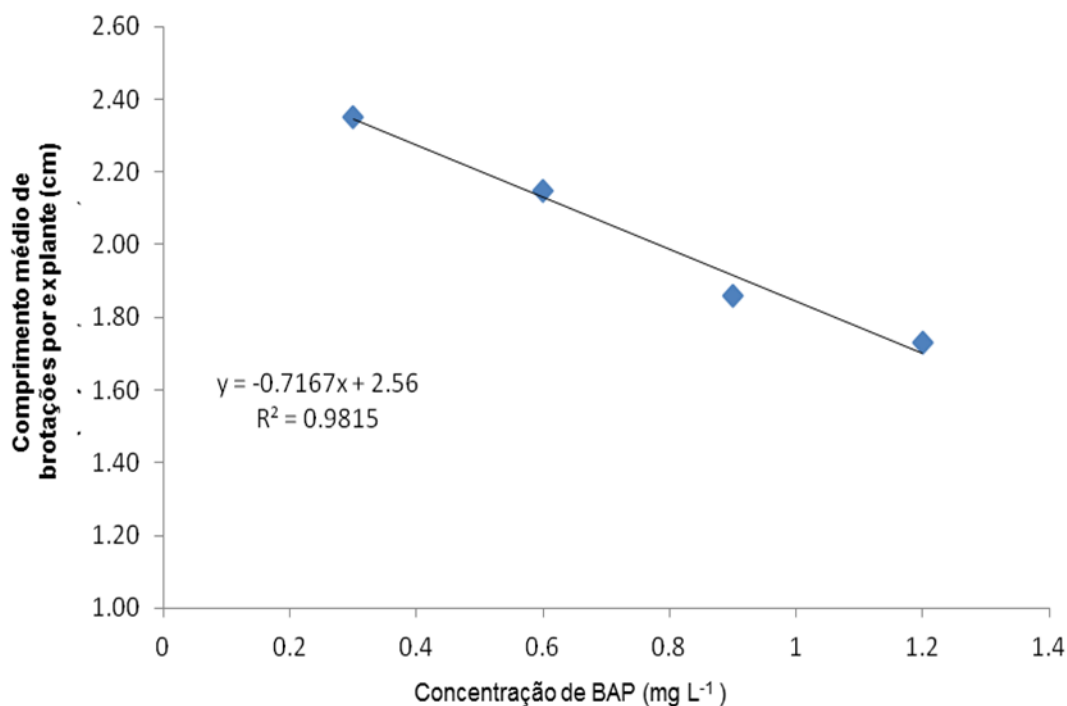


Figura 6- Comprimento médio de brotações por explante de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS acrescido de diferentes concentrações de BAP. UDESC/CAV – Lages, 2013.

b) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos na multiplicação de *Physalis alkekengi*

Através da análise de variância, não foi encontrada diferença significativa dos tratamentos para as variáveis número de brotos e número de folhas.

Para a variável comprimento de plantas, apesar de haver significância para o efeito principal de BAP, ao realizar a análise de variância para regressão linear verificou-se que o coeficiente angular não diferiu significativamente de zero.

Os tratamentos utilizados neste estudo não foram significativos para aumentar o número de brotos, número de folhas e comprimento de plantas da espécie *Physalis alkekengi* (Figura 7).



Figura 7 - Explantes de *Physalis alkekengi* submetidos ao em meio contendo MS + 1,2 mgL⁻¹ de BAP, com vedação em alumínio (esquerda) e vedação com tampa (direita). Lages, 2012.

c) Diferentes concentrações de 2iP e posição do explante no meio de cultura, na multiplicação de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*

A utilização do meio MS acrescido ou não de regulador de crescimento foi significativa para a variável comprimento de plantas, sendo o maior comprimento de plantas encontrado no meio MS sem reguladores de crescimento (Figura 8).

Não houve diferença significativa em relação à posição do explante no meio de cultura para *Physalis peruviana*, sendo que as maiores médias encontrados em relação ao número de folhas e comprimento de plantas foi na posição horizontal dos explantes 4,41 e 4,91, respectivamente (Figura 9).

Não houve diferença significativa para as variáveis número de brotos e número de folhas em relação aos diferentes tratamentos utilizados em *Physalis peruviana*.

Diferente do resultado encontrado neste estudo relacionando posição do explante e número de brotações obtidas, Erig e Schuch (2002) observaram que na multiplicação do portaenxerto de macieira Marubakaido o número de brotações aos quarenta dias de cultivo foi maior nos explantes posicionados na orientação horizontal (5,81), quando comparado ao obtido para orientação vertical (3,78).

Pereira et al. (2006) em estudos com a erva Unha de gato (*Uncaria guianensis*), observaram que a posição de inoculação do explante demonstrou exercer influência no número médio de brotações/explante, assim como o número de gemas iniciais e também que explantes inoculados na horizontal em meios com

GA3 responderam ao acréscimo de gemas iniciais, aumentando o número de brotações finais.

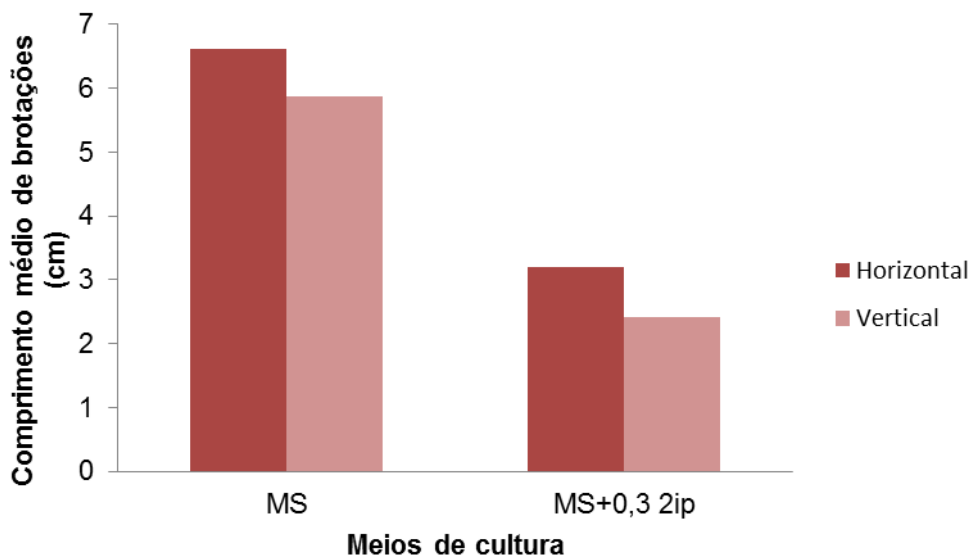


Figura 8. Comprimento médio de brotações (cm) por explante de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS e MS acrescido de $0,3 \text{ mgL}^{-1}$ de 2ip. UDESC/CAV – Lages, 2013.

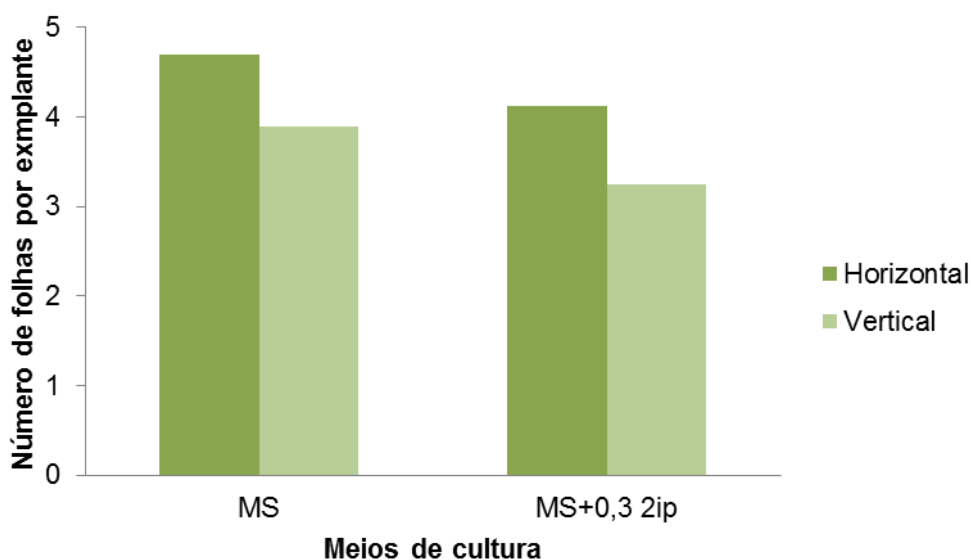


Figura 9. Número médio de folhas por explante obtidos de plântulas de *Physalis peruviana* cultivadas em meio de cultura MS e MS acrescido de $0,3 \text{ mgL}^{-1}$ de 2ip. UDESC/CAV – Lages, 2013.

Para *Physalis alkekengi*, não houve diferença significativa dos tratamentos para todas as variáveis analisadas neste estudo (Tabela 7). Entretanto as maiores

médias de número de brotos, número de folhas e comprimento de plantas foram encontrados em meio MS e com a utilização do explante na posição vertical.

Tabela 7 - Número de brotos, número de folhas e comprimento de plântulas de *Physalis alkekengi*, cultivadas em meio de cultura com diferentes concentrações de 2iP e posição do explante. UDESC/CAV – Lages, 2013.

Número de brotos			
Meio	Posição		Média
	Horizontal	Vertical	
MS	1.15	1.65	1,40 ^{ns}
MS+0,3 2ip	1.35	1.15	1,25 ^{ns}
Média	1,25 ^{ns}	1,40 ^{ns}	
C.V.%	24,24		
Número de folhas			
MS	6.05	7.60	6,82 ^{ns}
MS+0,3 2ip	5.63	6.35	5,99 ^{ns}
Média	5,84 ^{ns}	6,98 ^{ns}	
C.V.%	24,49		
Comprimento de plantas			
MS	6.73	6.73	6,73 ^{ns}
MS+0,3 2ip	5.20	5.63	5,41 ^{ns}
Média	5,96 ^{ns}	6,18 ^{ns}	
C.V.%	24,16		

ns: valores não significativos

3.6 CONCLUSÕES

a) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos multiplicação de *Physalis peruviana*

O tipo de vedação não influenciou significativamente na multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana*, entretanto foi possível observar o efeito principal de BAP sobre as plântulas. Na concentração de 1,2mg.L⁻¹ aumentam o número de folhas e na concentração de 0,3 mg.L⁻¹ proporcionam maior comprimento de explantes.

b) Diferentes concentrações de BAP e vedação dos frascos na multiplicação de *Physalis alkekengi*

O tipo de vedação e as diferentes concentrações de BAP utilizadas não influenciaram significativamente na multiplicação *in vitro* de *Physalis alkekengi*.

c) Diferentes concentrações de 2iP e posição do explante no meio de cultura, na multiplicação de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*

O meio MS proporcionou maior número de folhas e maior comprimento de plantas em *Physalis peruviana*, entretanto não foi eficiente para multiplicação da espécie.

A multiplicação *in vitro* de *Physalis alkekengi*, não foi influenciada pelos tratamentos utilizados no presente experimento necessitando maior estudo para promover a multiplicação *in vitro* desta espécie.

4 SUBSTRATOS, ILUMINAÇÃO E COBERTURA NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE PHYSALIS

4.1 RESUMO

A aclimatização é considerada uma das fases mais críticas da micropropagação e sua importância é tal que pode significar a limitação de todo o processo de multiplicação *in vitro*. Neste sentido este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes substratos e da iluminação durante a aclimatização de plantas de *Physalis peruviana* e o efeito de diferentes substratos, iluminação e uso cobertura plástica em plantas de *Physalis alkekengi* oriundas da cultura de tecidos. Foram utilizadas plântulas enraizadas após 60 dias de cultivo *in vitro* com sais MS reduzidos a 50% e sem a presença de auxinas. As plantas foram transferidas para bandejas alveoladas de plástico contendo substrato comercial Tecnomax® (S), Tecnomax®+vermiculita (S+V) e Tecnomax®+vermiculita+húmus (S+V+H). A aclimatização de *P. peruviana* foi realizada, mantendo-se metade das plantas em casa de vegetação com nebulização intermitente e metade em fitotron. Já as plantas de *P. alkekengi*, receberam os mesmos tratamentos citados, porém metade foi coberta com plástico transparente por 15 dias, e a outra metade mantida sem a cobertura plástica. As avaliações foram realizadas 60 dias após o plantio, considerando a porcentagem de sobrevivência, número de brotos, número de folhas, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz. Para *P. peruviana* o uso de substrato Tecnomax® foi suficiente para obter bons resultados em todas as variáveis analisadas. O melhor substrato para aclimatização de *Physalis alkekengi* sem a utilização de cobertura é o substrato comercial (Tecnomax®) e Tecnomax®+vermiculita. A utilização de cobertura plástica incrementou algumas variáveis analisadas em ambas espécies de *Physalis*, entretanto acarretou no estiolamento das plantas, sendo esta uma característica indesejável nesta etapa. As diferentes condições de iluminação não tiveram influência significativa no desenvolvimento das mudas de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

Palavras - chave: *Physalis alkekengi*, *Physalis peruviana*, *ex vitro*

4.2 ABSTRACT

Acclimatization is considered one of the most critical phases of micropropagation and its so importance that it can mean the limitation of the process of *in vitro* multiplication. In this sense, this work aims to evaluate the effect of different substrates and lighting during the acclimatization of *Physalis peruviana* plants and the effect of different substrates, lighting and use of plastic sheeting in *Physalis alkekengi* plants derived from tissue culture. Rooted plantlets were used after 60 days *in vitro* culture with MS salts reduced to 50% and the absence of auxin. The plants were transferred to plastic trays with cells containing commercial substrate Tecnomax ® (S), Tecnomax ® + vermiculite (S + V) and Tecnomax ®+vermiculite+humus (S + V + H). The acclimatization of *P. peruviana* was performed, keeping half of the plants in a greenhouse under intermittent mist and half in phytotron. The *P. alkekengi* plants received the same treatments cited, but half was covered with clear plastic for 15 days, and the other half retained without the plastic cover. Evaluations were made 60 days after planting, whereas the survival percentage, number of shoots, number of leaves, shoot length and root length. For *P. peruviana* using substrate Tecnomax ® was sufficient to obtain good results in all variables. The best substrate for acclimatization of *Physalis alkekengi* without the use of cover is the commercial substrate (Tecnomax ®) and Tecnomax ® + vermiculite. The use of plastic sheeting increased some variables in both *Physalis* species, however resulted in blanching plant, which is an undesirable characteristic in this step. Different lighting conditions have had a significant influence on the development of seedlings of *Physalis peruviana* and *Physalis alkekengi*.

Key-words: *Physalis alkekengi*, *Physalis peruviana*, *ex vitro*

4.3 INTRODUÇÃO

A *Physalis peruviana* é uma frutífera da família Solanaceae que está sendo incorporada ao plantio de pequenas frutas com sucesso devido ao grande valor nutricional e econômico que possui (RUFATO et al., 2008). A *Physalis alkekengi*, foi naturalizada na Grã Bretanha e embora todas as partes da planta sejam consideradas venenosas exceto o fruto quando maduro, têm como partes comestíveis as folhas que podem ser consumidas cozidas, sendo ricas em vitaminas (RUFATO et al., 2008). Diferentemente da *P. peruviana*, tanto o fruto quanto a cápsula que o recobrem são de cores avermelhadas, por isto esta espécie é geralmente utilizada como planta ornamental para decoração.

Os frutos de physalis contem altos teores de vitamina A, B e C, sendo que a polpa do fruto pode apresentar teores de 1460mg a 100g de β -caroteno (vit. A), de 0,1 a 0,18 mg 100g de tiamina (vit. B1), de 0,03 a 0,17 mg 100g de riboflavina (vit. B2), de 0,8 a 1,7 mg 100g de niacina (vit. B3) e de 46 a 20 mg 100g de vit. C (PUENTE et al., 2011; RAMADAN, 2011). A vitamina C é importante para a manutenção dos tecidos, produção de neurotransmissores, hormônios, resposta dos sistemas imunológicos, possui atividade antioxidante reduzindo os efeitos adversos causados por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que podem causar danos a macromoléculas como lipídeos, DNA e proteínas, relacionadas com doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (PUENTE et al., 2011). Em frutos de physalis também é possível encontrar micronutrientes, como Fe e Zn, e macronutrientes, como o P e pequenas quantidades de Ca, compostos que são, sabidamente, essenciais ou necessários para o funcionamento normal do nosso corpo (RAMADAN, 2011). O Zn além de prevenir danos oxidativos à célula pode contribuir, em pequenas doses, como antioxidante (SEVERO, 2012).

As principais maneiras de obtenção de mudas destas espécies são por sementes, estacas e micropropagação. Utilizando a micropropagação é possível obter mudas de alta qualidade genético-sanitária, devido à clonagem de material selecionado que permite obter várias plantas a partir de um único explante sem depender da estação do ano; reduzir o tempo e a área necessária para a propagação da espécie.

A aclimatização é considerada a etapa final da micropropagação que consiste em retirar as plantas do ambiente *in vitro* e transferi-las para uma condição

autotrófica, em um ambiente *ex vitro*. A seleção do substrato é de fundamental importância no crescimento e desenvolvimento das plantas micropropagadas sendo imprescindível a escolha de um substrato adequado, o qual atenda às necessidades das mudas e que permita o menor número possível de perdas e melhor adaptação das plantas ao mecanismo autotrófico (SILVA et al., 2012). Um substrato com elevado espaço de aeração associado à elevada capacidade de retenção de água é desejado para a aclimatização de plantas micropropagadas (SCHUCK et al., 2012).

A iluminação também é um fator que merece atenção e estudo na aclimatização das plantas micropropagadas, pois segundo Erig e Schuch (2005), o desenvolvimento de sistemas de micropropagação fotoautotrófica; com o uso de luz natural, surgem como possibilidades potenciais para aumentar a eficiência da micropropagação e auxiliar na redução dos custos, viabilizando-a comercialmente.

Vários estudos já foram realizados com a aclimatização de espécies frutíferas, entretanto para a cultura do *Physalis* as informações ainda são escassas. Neste sentido, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes substratos e da iluminação durante a aclimatização de plantas de *Physalis peruviana* e o efeito de diferentes substratos, iluminação e uso cobertura plástica em plantas de *Physalis alkekengi* oriundas da cultura de tecidos.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos meses de janeiro a março de 2012, em casa de vegetação com nebulização intermitente e fitotron, do Departamento de Agronomia do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC).

Foram utilizadas plantas de *P. peruviana* e *P. alkekengi* enraizadas em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com redução da quantidade de sais em 50% e sem a adição de auxinas, micropropagadas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do setor de fruticultura. Após 60 dias de subcultivo *in vitro*, as plantas foram retiradas dos frascos, lavando-se as raízes em água corrente para remover os resíduos do meio de cultura e colocadas em béquer contendo 200 mL de água destilada esterilizada, sendo mantidas em sala de crescimento por 48 horas, envoltas por um saco plástico para evitar a desidratação. Posteriormente, as plantas foram transferidas para bandejas alveoladas de plástico contendo substrato

comercial Tecnomax® (S), Tecnomax®+vermiculita (S+V), Tecnomax®+vermiculita+húmus (S+V+H), nas proporções 2:1; 2:1:1 (v/v), respectivamente.

A aclimatização de *P. peruviana* foi realizada, mantendo-se metade das plantas em casa de vegetação com nebulização intermitente e iluminação natural e metade em fitotron com temperatura de 25-30°C, umidade relativa de aproximadamente 70%, fotoperíodo de 16 horas de luz. Já as plantas de *P. alkekengi*, além dos tratamentos descritos acima, metade foram cobertas com plástico transparente por 15 dias, a fim de avaliar a redução do estresse inicial que as mudas enfrentam ao passar para a condição *ex vitro*, e a outra metade mantida sem a cobertura plástica (Figura 10).

Aos 60 dias após o transplante e início da aclimatização foram feitas avaliações considerando-se os seguintes parâmetros: porcentagem de sobrevivência, número de brotos, número de folhas, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados utilizando-se dez plantas por repetição e 4 repetições por tratamento, e os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Figura 10 - Bandejas contendo plantas de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi* em fitotron, sob temperatura, iluminação e umidade controladas, Lages, 2012.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de sobrevivência das plântulas de *Physalis peruviana* em fitotron para todos os tipos de substrato foi superior comparada com a sobrevivência em casa de vegetação (Tabela 8).

Avaliando o crescimento das plântulas de *Physalis peruviana* durante o período de aclimatização, observou-se diferença quando comparou o uso de diferentes substratos, verificou-se que as plântulas aclimatizadas em substrato comercial (S) e no substrato S+V apresentaram maior número de brotação, sendo o substrato S+V+H o que apresentou menor número de brotação. Porém para o mesmo parâmetro não foi observada diferença estatística entre os diferentes locais de aclimatização testados (Tabela 9). O número de folhas teve incremento maior quando as plântulas foram aclimatizadas no fitotron e o substrato S+V foi o que apresentou os maiores valores para esse parâmetro (Tabela 9). Costa et al. (2012), observou que plântulas de tomate cultivadas em substrato comercial com vermiculita tiveram um crescimento superior aos demais tratamentos, devido a este material conceder uma melhor retenção de água e boa aeração devido a sua porosidade.

O comprimento das raízes de *P. peruviana* foi influenciado pelo uso dos diferentes substratos e pelo local de manutenção das plantas. O substrato S+V, nas plantas aclimatizadas em casa de vegetação, induziu maior comprimento médio das raízes (32,50 cm). Entretanto, nas mudas aclimatizadas no fitotron os substratos S e S+V não diferiram entre si, mostrando valores médios de comprimento de raízes de 21,03 e 19,81 cm, respectivamente. O comportamento observado para comprimento de plantas foi semelhante ao observado para comprimento de raízes verificando-se que o substrato S+V foi o que possibilitou um maior alongamento das plantas na casa de vegetação (19,12 cm) e no fitotron o substrato S+V (17,40 cm) foi superior aos demais não diferindo do substrato Tecnomax® (15,33 cm) (Tabela 9).

O cultivo das plântulas de *Physalis peruviana* com diferentes tratamentos de iluminação (casa de vegetação e fitotron) teve influência positiva no desenvolvimento dos brotos, folhas e comprimentos aéreo e radicular. As plântulas cultivadas em fitotron com S+V obtiveram resultados superiores em todas as variáveis analisadas em comparação com os demais tratamentos.

A sobrevivência das plântulas de *P. alkekengi* variou conforme os tratamentos aplicados (Tabela 8), quando cultivadas em fitotron com cobertura plástica das bandejas as plântulas mantidas em S tiveram 81,25% de sobrevivência, em S+V 100% de sobrevivência e em S+V+H 18,75% de sobrevivência, já quando cultivadas sem cobertura plástica obtiveram 100%, 93,75% e 37,5% de sobrevivência nos substratos S, S+V e S+V+H, respectivamente. Quando as plântulas foram cultivadas em casa de vegetação com cobertura obtiveram valores em S de 100%, S+V 12,5%, S+V+H 100% e quando cultivadas sem cobertura plástica as plântulas passaram a ter sobrevivência em S de 100%, S+V 100% e S+V+H 12,5%. O húmus em estresse hídrico possui boa retenção de água, o que pode ter ocasionado a baixa sobrevivência das plantas quando cultivadas em casa de vegetação sem cobertura plástica no substrato S+V+H.

Para *Physalis alkekengi* o maior número de brotos na casa de vegetação foi verificado quando se utilizou S (1,81) e S+V+H (1,93) ambos com cobertura plástica das bandejas, e no fitotron quando se utilizou o substrato S+V foi possível obter uma média de 2,31 brotos por planta, também quando as bandejas foram mantidas com cobertura plástica. Para a variável número de folhas, os maiores resultados foram encontrados quando utilizou-se S+V+H na casa de vegetação (18,18) e S+V no fitotron (12,93) ambos com cobertura plástica das bandejas (Tabela 10). Tanto para número de brotações quanto para número de folhas não foi observado diferença significativa entre os locais de manutenção das plantas para o cultivo sem cobertura plástica. Já quando as plântulas foram mantidas com o uso de cobertura plástica os melhores resultados de brotação e número de folhas foram encontrados com o uso dos substratos S e S+V+H em casa de vegetação.

O maior comprimento das raízes foi verificado no substrato S quando as plântulas foram aclimatizadas em casa de vegetação sem cobertura plástica (16,53 cm). Quando as mudas foram aclimatizadas em fitotron não houve diferença significativa entre a utilização dos substratos S e S+V, em ambos os tratamentos de iluminação, que promoveram o maior crescimento quando as plântulas foram cultivadas em S+V sem cobertura plástica (Tabela 10).

O maior comprimento das plantas quando aclimatizadas em fitotron foi encontrado quando se utilizou o substrato S+V (21,99 cm) e em casa de vegetação no substrato S+V+H (27,56 cm) ambos com a utilização de cobertura plástica das plântulas. O maior comprimento aéreo encontrado sem a utilização de cobertura

plástica foi 17,49cm quando as plântulas foram cultivadas em fitotron e no substrato S+V (Tabela 10).

Plantas aclimatizadas com a presença de cobertura plástica apresentaram estiolamento da parte aérea, sugerindo que o plástico, mesmo sendo transparente, causou um sombreamento das mudas. O estiolamento não é uma característica desejável na etapa de aclimatização, pois causa um alongamento dos entrenós e produção de tecidos de coloração amarela ou branca devido a ausência de clorofila. Ambas características causam o enfraquecimento da muda, dificultando sua sobrevivência em condições de campo.

Hartmann et al. (1990) mencionam que os principais efeitos dos substratos se manifestam sobre as raízes, podendo acarretar algumas influências sobre o crescimento da parte aérea. Em *P. peruviana* ficou evidenciado que a mistura dos substratos S+V+H foi o que apresentou menor eficiência nos resultados em todas as variáveis analisadas, entretanto em *P. alkekengi* este substrato no tratamento com cobertura plástica em casa de vegetação incrementou o número de folhas e o comprimento das plantas. O resultado em *P. alkekengi* foi semelhante ao encontrado por Moreira et al. (2006) em plantas de abacaxizeiro, onde a adição de matéria orgânica favoreceu o crescimento da parte aérea e das raízes; e o de Santos et al. (2004), demonstrando que a utilização do húmus de minhoca proporcionou maior altura e diâmetro do pseudocaule do que os obtidos com Vitasolo®.

Quando comparado os tratamentos de cobertura plástica em plantas de *P. alkekengi*, observa-se que a cobertura promoveu o maior número de brotos (2,31) no substrato S+V em plantas aclimatizadas no fitotron e o substrato S+V+H promoveu o maior número de folhas (18,18) e o maior comprimento de plantas (27,56 cm), nas plântulas aclimatizadas em casa de vegetação. Entretanto a não utilização da cobertura plástica promoveu o maior comprimento de raízes quando as plantas foram aclimatadas em casa de vegetação somente com a utilização do substrato comercial.

4.6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que para *Physalis peruviana* o uso de substrato comercial Tecnomax® foi eficiente para obter bons resultados em todas

as variáveis analisadas durante a aclimatização, entretanto com a utilização de vermiculita na proporção de 2:1 ocorre um incremento no número de folhas, comprimento de raiz e comprimento da parte aérea na condição de casa de vegetação.

O melhor substrato para aclimatização de *Physalis alkekengi* sem o uso de cobertura das bandejas é o substrato comercial (Tecnomax®) e substrato comercial+vermiculita. A utilização de cobertura plástica incrementou algumas variáveis analisadas em ambas espécies de *Physalis*, entretanto acarretou no estiolamento das plantas, sendo esta uma característica indesejável nesta etapa. Em *Physalis alkekengi*, além do estiolamento da parte aérea, a cobertura plástica também diminuiu o crescimento radicular e a taxa de sobrevivência das mudas.

As diferentes condições de iluminação não tiveram influência significativa no desenvolvimento das mudas de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi*.

Tabela 8 - Porcentagem de sobrevivência de mudas de *P. peruviana* e *P. alkekengi* após 60 dias de aclimatização aclimatizadas sob diferentes condições de ambiente e cobertura (Lages, SC/2012).

<i>Physalis peruviana</i>				
Substrato	Fit.	CV		
S	100%	68,75%		
S+V	100%	93,75%		
S+V+H	50%	50%		
<i>Physalis alkekengi</i>				
Substrato	Sem cobertura		Com cobertura	
	Fit.	CV	Fit.	CV
S	100%	100%	81,25%	100%
S+V	93,75%	100%	100%	12,50%
S+V+H	37,50%	12,50%	18,75%	100%

* Subst. (Substrato) CV (Casa de vegetação), Fit (Fitotron).

*S=Substrato (Tecnomax®), S+V=Substrato + Vermiculita e S+V+H= Substrato+Vermiculita+Húmus

Tabela 9 - Número de brotos, número de folhas, comprimento de raiz (comp. raíz) e comprimento da parte aérea (comp. planta) de *Physalis peruviana*, após 60 dias de aclimatização em três diferentes substratos sob diferentes condições de ambiente e cobertura (Lages, SC/2012).

Substrato	Nº broto		Nº folhas		Comp. Raiz (cm)		Comp. planta (cm)	
	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit
S	0,9 Aa	1,0 Aa	4,4 Bb	8,0 Ab	26,2 Ab	21,0 Aa	10,2 Bb	15,3 Aa
S+V	1,0Aa	1,0 Aa	7,1 Ba	10,5 Aa	32,5 Aa	19,8 Ba	19,1 Aa	17,4 Aa
S+V+H	0,5 Ab	0,5 Ab	2,1 Ac	2,3 Ac	11,5 Ac	7,1 Ab	5,8 Ac	4,8 Ab
Média	0.8	0.8	4,6	6,8	23,4	15,9	11,7	12,5
C.V.(%)	19,3		22,2		21,4		17,2	

* Subst. (Substrato) CV (Casa de vegetação), Fit (Fitotron).

*S=Substrato (Tecnomax®), S+V=Substrato + Vermiculita e S+V+H= Substrato+Vermiculita+Húmus

Média seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 10 - Número de brotos, número de folhas, comprimento de raiz e comprimento da parte aérea de *Physalis alkekengi*, após 60 dias de aclimatização em três diferentes substratos sob diferentes condições de incubação. Lages, SC, 2012.

SEM COBERTURA								
Substrato	Nº broto		Nº Folhas		Comp. raiz (cm)		Comp. planta (cm)	
	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit
S	1,68Aa	1,75Aa	9,54Aa	9,50ABa	16,53Ab	11,31Ab	9,59Ab	15,96Aa
S+V	1,62Aa	1,87Aa	10,87Aa	11,62Aa	15,56Aa	13,43Aa	11,18Ab	17,49Aa
S+V+H	0,18Ba	0,75Ba	0,93Ba	4,93Ba	1,50Bb	6,12Ba	1,15Bb	7,21Ba
Média	1,16	1,45	7,11	8,68	11,19	10,28	7,30	13,55
C.V.(%)	31,9		46,3		23,1		19,4	
COM COBERTURA								
Substrato	Nº broto		Nº folhas		Comp. raiz (cm)		Comp. planta (cm)	
	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit	CV	Fit
S	1,81Aa	1,31Ba	11,68Ba	5,68Bb	9,93Ba	8,52Aa	22,21Ba	16,34Bb
S+V	0,12Bb	2,31Aa	0,81Cb	12,93Aa	1,43Cb	8,56Aa	1,09Cb	21,99Aa
S+V+H	1,93Aa	0,18Cb	18,18Aa	5,50Bb	14,37Aa	1,71Bb	27,56Aa	2,62Cb
Média	1,28	1,26	10,22	8,03	8,57	6,26	16,95	13,65
C.V.(%)	31,9		46,3		23,1		19,4	

*S=Substrato (Tecnomax®), S+V=Substrato + Vermiculita e S+V+H= Substrato+Vermiculita+Húmus * CV (casa de vegetação), Fit (Fitotron)

*Dados seguidos de mesma letra maiúscula na coluna e letra minúscula na linha, não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMANZA, P.J. **Propagación**. In: FLOREZ, V.J.; FISCHER, G.; SORA, A. Producción, poscosecha y exportación de la Uchuva *Physalis peruviana* L. Bogotá: Universidade Nacional de Colombia, 2000. p.27-40.

ALMEIDA, W.A.B. de; MATOS, A.P. de; SOUZA, A. da S. Effects of benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* proliferation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). **Acta Horticulturae**, n. 425, p. 245-242, 1997.

AMARAL, C.L.F.; SILVA, A.B. Melhoramento biotecnológico de plantas medicinais: produção de alcaloides e óleos essenciais. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.30, p.55-59, janeiro/julho, 2003.

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

AROCKIASAMY, D.I., B.MUTHUKUMAR, E. NATARAJAN and S. JOHN BRITTO, 2002. Plant regeneration from node and inter node explantes of *Solanum trilobatum* L. **Plant Tissue Culture**, 12(2):93-97.

ASMAR, S.A., Resende, R.F., Araruna, E.C., Morais, T.P., ; Luz, J.M.Q. Concentrações de BAP sobre a proliferação *in vitro* de brotos de *Lippia alba* [(Mill.)N.E.Brown]. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. spe, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext;pid=S1516-05722012000500004;lng=en;nrm=iso>. access on 28 Dez. 2012.

BACHERLARD, E.P.; SOWE, B.B. Growth *in vitro* of roots of *Acer rubrum* L. and *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. **Physiologia Plantarum**, 1963. 16: 20-30.

BARRUETO CID, L.P. Citocininas. In: BARRUETO CID, L.P. **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. P.55-81.

BARRUETO CID, L.P.; ILLG, R.D.; PIEDRABUENA, A.E. Regeneration of garlic plants (*Allium sativum* L., cv “Chonan”) via cell culture in liquid medium. **In vitro-plant**, New York, v.30,, 1994. p.150-155

BARRUETO, C.; ZIMMERMANN, M.J.A. Contaminação in vitro de plantas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 122p., 2006.

BASEY K, MCGAW BA, WOOLLEY JG. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. **Phytochemistry** 31: 4173–4176, 1992.

BAYTOP, A. *Physalis* L. In: Davis PH, ed., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 6. Edinburgh, **The Edinburgh University Press**, 1978, pp. 444.

BAYTOP, T. *Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present)*. Istanbul, **Nobel Medical Publishers**, 1999, pp. 216.

BLANK, A.F. et al. *In vitro* establishment of pepper-rosmarin nodal segments. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.255-8, 2008.

BOTTA, B.; SILVESTRINI, A.; VITALI, A.; MONACHE, G.D. **Cultura de células vegetais: doze anos de experiência**. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. *Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, 2001.

CAMLOH, M. Spore germination and early gametophyte development of *Platycerium bifurcatum*. **American Fern Journal**: n.83(3): 79-85, 1993.

CHAVES, A.C. **Propagação e avaliação fenológica de *Physalis* sp na região de Pelotas**, RS. 2006. 65 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CHOI EM, HWANG J. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. **Journal Ethnopharmacol.** 89:171-5. 2003.

CID, L.P.B.; TEIXEIRA, J.B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L.P.B. *Cultivo in vitro de plantas*. Brasília, **EMBRAPA Informação Tecnológica**, p.15-49, 2010.

CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES Y DEPARTAMENTO DE PLANEACIÓN NACIONAL. Análisis internacional del sector hortofrutícola para Colombia. Bogotá: **Editorial El Diseño**, 2000.

COSTA, E.L.; PAULO, A.M.; BENETT, C.G.S.; SALAMENE, L.C.P. Production of tomato seedlings using different substrates and trays in three protected environments. **Engenharia Agrícola.**, Jaboticabal, v. 32, n. 5, p.822-830, Oct. 2012 .

DINIZ, J.D.N. et al. Ácido giberélico (GA₃) e 6-benzilaminopurina (BAP) no crescimento *in vitro* de macela [*Egletes viscosa* (L.) Less.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.4, p.934-8, 2003.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.293-295, 2002.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Estabelecimento *in vitro* de mirtilo a partir de segmentos nodais. **Scientia Agraria (UFPR)**, Curitiba, PR, v. 6, n.1-2, p. 91-96, 2005.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Preliminary Data Now Available for Selected Countries and Products.** 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>>.

FARHANA AFROZ, A.K.M., SAYEED HASSAN, LAILA SHAMROZE BARI, REBEKA SULTANA, NADIRA BEGUM, MISKAT ARA AKTER JAHAN, RAHIMA KHATUN. *In vitro* shoot proliferation and plant regeneration of *Physalis minima* – a perennial medicinal herb. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research.** 4494), 453-456, 2009.

FERREIRA, M. **Zero Hora**, Porto Alegre, 31mar.2006. Campo e Lavoura, p.3. Fruta nativa para fugir da seca.

FISCHER, G.; ALMANZA, P.J. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. **Nuevas tecnologías em el cultivo de la uchuva *Physalis peruviana* L.** 2005. Disponível em: <http://www.colombianisenelexterior.com/investigacionesunad2asp>. Acesso em: 19 de janeiro de 2012.

FRIML, J. **Auxin transport.** **Current Opinion in Plant Biology**, 2003. 6: 7-12.

GARCIA, M., FIGUEIREDO, G.S., DAMIANI, C.R., SCHUCH, M.W. **Estabelecimento *in vitro* de uvaia:** tempo de desinfestação, desinfestante e meio

de cultura. In: XII Congresso de Iniciação Científica e X Encontro de pós-graduação, 2008.

GOMES, P. **Fruticultura brasileira**. Nobel: São Paulo. 13 ed., 2007, 446 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. **Micropropagação**. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S. Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas. Brasília:ABCTP/EMBRAPA CNPH, p.183-260, 1998.

GUIMARÃES ET, LIMA MS, SANTOS LA, RIBEIRO IM, TOMASSINI TB, SOARES MB, et al. Activity of physalins purified from *Physalis angulata* in vitro and in vivo models of cutaneous leishmaniasis. **Journal Antimicrobiological Chemother** 64: 84–87, 2009.

HAISSIG, B.E. Meristematic **activity during adventitious root primordium development: influences of endogenous auxin and applied gibberellic acid**. *Plant Physiology*, 1972. 49: 886–892.

HALL .R H. **Cytokinins as a probe of developmental processes**. In: Fisiologia Vegetal, Kerbauy, G.B. Citocininas, PERES, L. E. P; KERBAUY, G. B., 2004 cap 9, pg 250-278.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation: principles and practices**, 4ed.,Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, 1983, 727 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T. **Plant propagation: principles and practices**. - 5. ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. 642p.

HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIES, J.R.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: Principles and Practices**, 6 ed., Prentice-Hall Inc., New Jersey, 1997, 770 p.

HELVACI, S., KOKDIL, G., KAWAI, M., DURAN, N., DURAN, G., GUVENC, A. Antimicrobial activity of the extracts and physalin D from *Physalis alkekengi* and evaluation of antioxidant potential of physalin D. **Pharmaceutical Biology**, 48(2): 142–150, 2010.

HUANG Y, CUI J, CHEN S, GAN C, ZHOU A. Synthesis and antiproliferative activity of some steroidal lactams. *Steroids* 76(12):1346–50, 2011.

KAWAI M, MAKINO B, TAGA T, MIWA Y, YAMAMOTO T, FURUTA T, et al. Crystal structures of 5a, 6a-epoxy and 2, 3-dihydro derivatives of physalin B, a 13, 14- seco-16, 24-cyclosteroid, and their ¹H NMR spectra analysis. **Society Japanese**. 67:222–6, 1994.

KISHORE, K.K., SASIDHARAN, N. A case study from the shola forests of Kerala, India. In: Govil, J.N., Singh, V.K. (Eds.), Recent Progress in Medicinal Plants. **Science Tech Publishing lic**, Texas, USA, pp. 201–214. 2002.

LANE, W.D. Regeneration of pear plants from shoot meristem-tips. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.16, p.337-342, 1979.

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

LESHEN, B.; WERKER, E.; SHALEV, D.P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, p.271-276, 1988.

LETHAM, D.S. **Cytokinins from Zea mays**. In: Fisiologia Vegetal, Kerbauy, G.B. Citocininas, PERES, L. E. P; KERBAUY, G. B., 2004 cap 9, pg 250-278.

LIMA, C.S.M. et al. Custos de implantação e condução de pomar de *Physalis* na região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Revista Ceres**, Viçosa, v.56, n.5, p.551-561, 2009. Disponível em: < www.ceres.ufv.br/CERES/revistas/V56N005P18608.pdf ->. Acesso em: 14 jan. 2013.

LIMA, C. S. M.; SEVERO, J.; MANICA-BERTO, R.; SILVA, J. A ; RUFATO, L.; RUFATO, A. D. 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, 2010.

LJUNG, K., Hull, A.K., CELEZA, J., YAMADA, M., ESTELLE, M., NORMANLY, J.; SANDBERG, G. **Sites and regulation of auxin biosynthesis in Arabidopsis roots**. The Plant Cell, 2005. 17: 1090-1104.

LUCAS, M.A.K. et al. Micropropagação de violeta-africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.): efeito da benzilaminopurina na multiplicação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.5, p.1380-5, 2007.

MAGALHÃES HI, VERAS ML, TORRES MR, ALVES AP, PESSOA OD, SILVEIRA ER, et al. In vitro and in vivo antitumour activity of physalins B and D from *Physalis angulata*. **Journal Pharm Pharmacology**. 58:235–41, 2006.

MERCIER, H. **Auxinas**. In: KERBAUY, G. B. *Fisiologia Vegetal*. Ed. Guanabara, 2004. p.217-278.

MERCIER, H.; SOUZA, B.M.; KRAUS, J.E.; HAMASAKI, R.M.; SOTTA, B. Endogenous auxin and cytokinin contents associated with shoot formation in leaves of pineapple cultured *in vitro*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.2, n.15, p.107-112, 2003.

MOK, M.C.; MARTIN, R.C.; MOK, D.W.S. Cytokinins: biosynthesis, metabolism and perception. **In Vitro Cellular ; Developmental Biology Plant**, Columbia, v.36, n.2, p.102-107, 2000.

MONTARROYOS, A.V.V. Contaminação *in vitro*. **ABCTP Notícias**, Brasília, n.36/37, p.5-10, 2000.

MORAES, A.M.; ALMEIDA, F.A.C.; CAZÉ FILHO, J. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, 1:39-44, 2007.

MOREIRA, M.A.; CARVALHO, J.G.; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C.B.; SILVA, A.B. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Cienc. agrotec.**, Lavras, v.30, n.5, p.875-879, set/out, 2006.

MOREIRA-DIAS, J.M.; MOLINA, R.V.; GUARDIOLA, J.L. GARCÍA-LUIS, A. Daylength and photon flux density influence the growth regulator effects on morphogenesis in epicotyl segments of Troyer citrange. **Scientia Horticulturae**, v.87, p.275-290, 2001.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v.15, p.473-497, 1962.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.25, p.1335-166, 1974.

NIETSCHKE, S.; MARQUES, S.V.; PEREIRA, M.T.; SALLES, B.; XAVIER, A.A.; FRANÇA, A.C.; DE LIMA, C.; SILVA, L.S. Estabelecimento *in vitro* de explantes de

três cultivares de bananeira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.989-991, mai-jun 2006.

NOVOA, R.M., BOJACÁ, J., GALVIS, Y.; G.FISCHER. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen em el comportamiento poscosecha de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) almacenada. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v.24, n.1, p.77-86, 2006.

OLIVEIRA, R.P. DE, NINO, A.F.P. Potencial de multiplicação in vitro de cultivares de framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, V.31, N.1, P.280-284, 2009.

OLIVEIRA, R.P.; NINO, A.F.P.; NICKEL, O. Limpeza de patógenos e propagação in vitro de cultivares de pereira. Pelotas: **EMBRAPA**, 2004.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA (FAO/ONU). Disponível em: <<http://www.fas.fao.org/>>. Acesso em 28 de março de 2013.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. **Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS (1.: 2003 : Vacaria, RS) Anais...** p.7-23. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003.

PEREIRA, R.C.A. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento in vitro de *Uncaria guianensis* (AUBLET) Gmelin Rubiaceae (UNHA-DE-GATO). **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 30, n. 4, Aug. 2006 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext;pid=S1413-70542006000400007;lng=en;nrm=iso>. Acesso em: 21 Out. 2012.

PEREIRA, R.C.A.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; CASTRO, E.M.; SILVA, F.G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento *in vitro* de *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin Rubiaceae (unha de gato). **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.637-642, jul/ago., 2006.
PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E.; OCHOA-ALEJO, N. In vitro plant regeneration of Mexican lime and mandarin by direct organogenesis. **HortScience**, v.32, p.931-934, 1997.

PERES, L. E. P. ; KERBAUY, G. B. . **Citocininas**. In: Gilberto B. Kerbauy. (Org.). *Fisiologia Vegetal*. 1a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, v. 01, p. 250-278.

PIO, R. O potencial de novas fruteiras. In: ENCONTRO DE FRUTICULTURA DOS

CAMPOS GERAIS, 2008, Ponta Grossa, PR. **Anais...** Ponta Grossa: UEPG, 2008. p.11-21.

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**, Ontario, v. 44, n. 7, p.1733-1740, 2011.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira 'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, p.624-628, 2002.

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

RAMASUBBU, R. Micropropagation and estimation of biochemical constituents in *Pedaliium murex* L. and *Physalis angulate* L. **Scientific Transactions in Environment and Technovation**, 2009, 294):226-230.

RETAMALES, Jorge B.. World temperate fruit production: characteristics and challenges. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. spe1, Oct. 2011 . Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452011000500015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 28 de março de 2013.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000500015>.

REETZ, E.R. et al. Anuário brasileiro de fruticultura 2007. **ERNA**. Santa Cruz do Sul:[s.n.], 2007

RUFATO, L.; RUFATO, A.R.; SCHELEMPER, C.; LIMA, C.S.M.; KRETZSCHMAR, A. A.A. **Aspectos técnicos da cultura da physalis**. Lages: CAV/UEDESC; Pelotas: UFPEL, 2008. 100p.

SANTOS, M.R.A.; TIMBÓ, A.L.O.; CARVALHO, A.C.P.P.; MORAIS, J.P.S. Avaliação de substratos e adubos orgânicos na aclimatização de plântulas de *Heliconia psittacorum*. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.39, n.10, p.1049-1051, out.2004.

SANTOS, A.M. dos; RASEIRA, M. do C.B. **Lançamento de cultivares de amoreira-preta**. Pelotas : EMBRAPA – CNPFT, 1988. n.p. (EMBRAPA: Informativo 23).

SANTOS-SEREJO, J.A.; JUNGHANS, T.G.; SOARES, T.L.; SILVA, K.M. **Meios nutritivos para micropropagação de plantas**. In: Introdução à micropropagação de plantas. Cruz das Almas, BA. p.78-98, 2006.

SASSO, S.A.Z. **Propagação vegetativa de jabuticabeira**. 64f. 2009 Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, 2009.

SAUTEBIN L. Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy. **Fitoterapia**. 71(Suppl. 1):S48-57. 2000.

SCHUCK, M.R.; LIPSKI, B.; SILVA, A. L. L. da; SILVA, A. L. L. da; CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A. Aclimatização de plantas micropropagadas de videira cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) em diferentes substratos. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, Gurupi-TO, v. 3, n.4, p.206-212, 2012.

SEVERO, J.; LIMA, C. S. M.; COELHO, M. T.; RUFATO, A. DE R.; ROMBALDI, C. V.; SILVA, J. A. Atividade antioxidante e fitoquímicos em frutos de physalis (*Physalis peruviana*, L.) durante o amadurecimento e o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 16, p.112-121, 2010.

SHEEBA, E., PARVATHY, S., PALANIVEL, S. Direct regeneration from leaves and nodes explantes of *Physalis mínima* L. **European Journal of Applied Sciences** 2(2):58-61, 2010.

SILVA, A.B.; PASQUAL, M.; ARAUJO, A.G.; BRAGA, F.T.; CASTRO, E.M.; ALBERT, L.H.B. Morfofisiologia e anatomia foliar de mudas micropropagadas e aclimatizadas de abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne em diferentes substratos. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 5, p. 580-586, Oct. 2012.

SKOOG, F.; STRONG, F.M.; MILLER, F.M. **Cytokinins**. In: Fisiologia Vegetal, Kerbauy, G.B. Citocininas, PERES, L. E. P; KERBAUY, G. B., 2004 cap 9, pg 250-278.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symposia of the Society for Experimental Biology, Cambridge, v.11, p.118-131, 1957. In: CID, L.P.B. Cultivo *in vitro* de plantas. Brasília, **EMBRAPA Informação Tecnológica**, 2010.

SOARES MB, BELLINTANI MC, RIBEIRO IM, TOMASSINI TCB, SANTOS RRD. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-

steroids purified from *Physalis angulata* L.. **European Journal Pharmacology**. 459:107–12, 2003.

SOUZA, F.V.D.; SILVA, S. de O. e; SOUZA, A. da S.; SHEPHERD, K. Taxas de multiplicação *in vitro* da bananeira triploide 'Caipira' em cinco níveis de benzilaminopurina (BAP). **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v.7, n.7, p.117-125, 1995.

SOUZA, C.M. de; PINTO, J.E.B.P.; RODRIGUES, M.B.; MORAIS, A.R. de; ARRIGONI-BLANK, M. de F. Influência dos fatores físicos na regeneração de brotos em repolho. **Ciência e Agrotécnologia**, Lavras, v.23, n.4, p.830-835, 1999.

SOUZA, J. A. ; SCHUCH, M.W.; SILVA, L.C.da; FERRI, J; SOARES, G.C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Científica Rural**, v. 11, p. 39-44, 2006.

SRINIVASAN K, MURUGANANDAN S, LAL J, CHANDRA S, TANDAN SK, PRAKASH VR. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Pongamia pinnata* leaves in rats. **Journal Ethnopharmacol**.78:151-7. 2001.

STERN, A.N. **Micropropagação de *Passiflora alata* Curtis a partir de organogênese indireta**, 2007. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade do Vale do Itajaí – Itajaí, 2007.

TOMASSINI T.C.B.; BARBI N.S.; RIBEIRO I.M.; XAVIER, D.C.D., 2000. Gênero *Physalis* - Uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova** 23:47-57.

VESSAL M, MEHRANI HA, OMRANI GH. Effects of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* fruit on estrus cycle, reproduction and uterine creatine kinase BB-isozyme in rats. **J Ethnopharmacol** 34: 69–78, 1991.

VIEIRA AT, PINHO V, LEPSCH LB, SCAVONE C, RIBEIRO IM, TOMASSINI T, et al. Mechanisms of the anti-inflammatory effects of the natural secosteroids physalins in a model of intestinal ischaemia and reperfusion injury. **British Journal Pharmacology**. 146:244–51, 2005.

VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'ÉBANO' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotécnologia**, v.29, n.3, p.582-9, 2005.

VITTI, A. BOTEON, M. Análise da competitividade da fruticultura brasileira frente a mundial. **Artigo do 47º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural – SOBER**. Rio Branco/AC, 2008.

UKIL A, MAITY S, KARMAKAR S, DATTA N, VEDASIROMONI JR, DAS PK. Curcumin, the major component of food flavour turmeric, reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. **Br Journal Pharmacology** 139:209-18. 2003.

WU, S.J., NG, L.T., CHEN, C.H., LIN, D.L., WANG, S.S., LIN, C.C. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *Physalis peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. **Life Sciences** 74, 2061–2073. 2004a.

WU, S.J., NG, L.T., LIN, D.L., WANG, S.S., LIN, C.C. *Physalis peruviana* extract induces apoptosis in human Hep G2 cells through CD95/CD95L system and the mitochondrial signaling transduction pathway. **Cancer Letters** 215, 199–208. 2004b.

WU, S.J., NG, L.T., HUANG, Y.M., LIN, D.L., WANG, S.S., HUANG, S.N., LIN, C.C. Antioxidant of *Physalis peruviana*. *Biol. Pharm. Bull.* 28, 963–966. 2005.

WU, S.J.; TSAI, J.Y., CHANG, S.P.; LIN, D.L.; WANG, S.S.; HUANG, S.N.; NG, L.T. Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*. **Journal of Ethnopharmacology**, V.108, Issue 3, 6 December 2006, p. 407–413.